

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE – EL HADJ LAKHDER – BATNA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



MEMOIRE PRESENTÉ

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

En biologie

Option : biologie cellulaire et physiologie animale

par

Mme **ZIDANI ABLA**

THEME

**Diagnostic biologique, histologique et physiopathologie de l'hépatite C
chez des malades de la région de BATNA.**

Soutenu le : 09/03/2011

Devant le jury :

Présidente.	Pr Hambaba Leila	Université de Batna.
Rapporteur.	Dr Yahia Mouloud, Maître de conférence	Université de Batna.
Examineurs.	Pr Laroui Salah	Université de Batna.
	Dr Zaama Djamilia, Maître de conférence	Université de Constantine.

Année universitaire : 2010/2011

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force, la volonté, et la patience durant toutes mes années d'étude.

Mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à monsieur YAHIA Mouloud Maître de conférence à l'Université de Batna qui m'a fait l'honneur d'avoir guider et diriger cette étude. Je le remercie pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

J'adresse mes remerciements à M^{me} HAMBABA L Professeur à l'Université de Batna d'avoir acceptée de présider le jury.

Je tiens à exprimer ma très grande considération à M^{me} ZAAMA D Maître de conférence à l'Université de Constantine d'avoir acceptée de faire partie du jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Monsieur LAROUI S Professeur à la faculté de médecine, Université de Batna d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Un grand merci à toutes les personnes qui travaillent au laboratoire de microbiologie du CHU de Batna, laboratoire central d'hématologie du CHU de Batna, laboratoires du sanatorium de Batna et laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique du CHU de Batna.

Je tiens à remercier infiniment mon mari pour son soutien, ses encouragements sa patience face à une "épouse étudiante"

Merci à mes parents et à ma famille.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Première partie : Étude bibliographique

Chapitre I : Foie et fonctions hépatocellulaires

I.1. Anatomie.....	1
I.2. Structure.....	1
I.2.1. Vascularisation hépatique.....	1
I.2.2. Parenchyme hépatique.....	2
I.3. Histologie.....	3
I.3.1. Cellules composant le foie.....	4
I.3.1.1. Cellules parenchymateuses : les hépatocytes.....	4
I.3.1.2. Les cellules non parenchymateuses.....	4
I.3.2. Lobule hépatique.....	6
I.4. Physiologie et fonctions hépatocellulaires.....	7
I.4.1. Fonction métabolique.....	7
I.4.1.1. Métabolisme hépatique des glucides.....	7
I.4.1.2. Synthèse hépatique des protéines.....	8
I.4.1.3. Métabolisme des lipides.....	8
I.4.1.4. Métabolisme des hormones.....	8
I.4.2. Fonction biliaire.....	8
I.4.2.1. Anatomie du système biliaire.....	8
I.4.2.2. Synthèse et sécrétion de la bile.....	9
I.4.3. Détoxification.....	10
I.4.4. Fonction d'épuration et d'élimination.....	10

Chapitre II : Virus de l'hépatite C (VHC)

II.1. Généralités sur les virus.....	11
II.2. Virus de l'hépatite C (VHC).....	11

II.2.1. Caractéristiques du virus.....	12
II.2.1.1. Classification taxinomique.....	12
II.2.1.2. Particule virale.....	12
II.2.1.3. Tropisme.....	12
II.2.1.4. Génome viral.....	13
II.2.1.5. Protéines virales.....	14
II.2.2. Cycle de réplication du VHC.....	15
II.2.3. Génotypes.....	18
II.2.4. Variabilité génétique du virus de l'hépatite C.....	19
II.2.5. Modes de transmission.....	20
 Chapitre III : Physiopathologie de l'infection virale C 	
III.1. Rôle du virus C dans la physiopathologie de l'atteinte hépatique.....	21
III.1.1. Dynamique virale.....	21
III.1.2. Génotypes VHC.....	22
III.1.3. Rôle des protéines virales dans la pathogenèse.....	22
III.1.3.1. Protéine de capsid.....	22
III.1.3.2. Glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2.....	23
III.1.3.3. Protéine NS2.....	26
III.1.3.4. Complexe NS3-NS4 : protéase virale majeure.....	27
III.1.3.5. Protéines du complexe de réplication NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B.....	27
III.2. Rôle de la réponse immune.....	27
III.2.1. Réponse non spécifique à l'infection.....	28
III.2.2. Réponses humorales.....	28
III.2.3. Réponses cellulaires.....	29
III.2.3.1. Réponse cellulaire T CD4-positif.....	29
III.2.3.2. Réponse cellulaire T cytotoxique (CD8-positif).....	30
III.2.4. Défenses de l'hôte : la voie interféron.....	31
III.3. Rôle de la génétique de l'hôte.....	33
III.4. Rôle des cofacteurs.....	34

Chapitre IV : Diagnostic de l'hépatite C

IV.1. Tests virologiques disponibles.....	35
IV.1.1. Marqueurs indirects.....	35
IV.1.1.1. Tests sérologiques de détection des anticorps anti-VHC.....	35
IV.1.1.2. Tests sérologiques de détermination du génotype.....	35
IV.1.2. Marqueurs directs.....	35
IV.1.2.1. Tests de détection qualitative de l'ARN du VHC.....	35
IV.1.2.2. Tests de mesure de la charge virale.....	36
IV.1.2.3. Tests moléculaires de détermination du génotype.....	36
IV.1.2.4. Tests de détection et de quantification de l'antigène de capsid du VHC.....	36
IV.2. Bilan hépatique.....	37
IV.3. Diagnostic histologique.....	37
IV.3.1. Rôle de la ponction biopsie hépatique au cours de l'infection virale C.....	38
IV.3.2. Classification de l'hépatite chronique	38
IV.4. Diagnostic de l'infection.....	39
IV.4.1. Diagnostic de l'hépatite aiguë.....	39
IV.4.2. Diagnostic de l'hépatite chronique.....	39
IV.5. Pronostic de la maladie.....	40

Deuxième partie : Étude pratique

Chapitre V : Matériel et méthodes

V.1. Sérologie VHC (Monolisa® HCV Ag – Ab ULTRA).....	41
V.2. Bilan hépatique.....	46
V.2.1. Dosage des paramètres hématologiques.....	46
V.2.1.1. Hémogramme.....	46
V.2.1.2. Dosage de prothrombine.....	47
V.2.1.3. Dosage du facteur V.....	48

V.2.2. Dosage des paramètres biochimiques.....	48
V.2.2.1. Dosage de la bilirubine.....	49
V.2.2.2. Dosage des transaminases.....	49
V.2.2.3. Phosphatase alcaline.....	51
V.2.2.4. Gamma glutamyltransférase (GGT).....	52
V.3. Examen histologique.....	52
V.4. Analyses statistiques.....	57

Chapitre VI : Résultats et discussion

VI.1. Variation du taux des transaminases (TGO, TGP) chez les malades de l'hépatite C.....	58
VI.2. Variation du taux des phosphatases alcalines chez les malades de l'hépatite C.....	61
VI.3. Variation du taux de GGT chez les malades de l'hépatite C.....	62
VI.4. Variation du taux de la bilirubine chez les malades de l'hépatite C.....	64
VI.5. Variation du taux de plaquettes chez les malades de l'hépatite C.....	67
VI.6. Variation du taux de prothrombine et du facteur V chez les malades de l'hépatite C.....	69
VI.7. Résultats histologiques de la ponction biopsie hépatique.....	71

Conclusion générale

Références bibliographiques

Résumé

Liste des abréviations

Abs : absorbance.
ACTH : hormone adrénocorticotrophine.
ADCC : antibody-dependent cellular cytotoxicity cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps
ADN : acide désoxyribonucléique.
ALAT: alanine amino transférase.
ARN : acide ribonucléique.
ASAT: aspartate amino transférase.
B-DNA : ADN braché.
CARD: caspase recruitment domain.
CEF : cellules étoilées du foie.
CD : classe de différenciation.
CSF: colony stimulating factor.
CTL: cellule T cytotoxique.
DMSO : diméthylsulfoxyde.
DO : densité optique.
EDTA : éthylène-diamine-tétra-acétate.
eIF2 α : eucaryotic initiation factor 2 α .
ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.
E1et E2 : protéines d'enveloppe.
FNS : numération formule sanguine.
GAPDH : glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase.
GGT : Gamma glutamyltransférase.
GM: granulocyte-macrophage.
HCl : chlorure d'hydrogène.
HLA: human leucocyte antigen.
HVR : région hypervariable.
IL: interleukine.
IRES : internal ribosomal entry site, (site interne d'entrée du ribosome).
IRF: interferon regulatory factor.
ISG : gènes induits par l'IFN.
Jak: Janus kinase.
LDH : Lactico-déshydrogénase.
LDL : low density lipoproteins, (lipoprotéines de faible densité).
LEL : large extracellular loop.
MDH : Malico-déshydrogénase.
MEC : matrice extracellulaire.
ml: millilitre.
mn : minute.
NAD : nicotinamide adénine dinucléotide.
NC : non codant.
NK: natural killer.
NS : protéines non structurales.
NTP: nucléoside triphosphate.
ORF : phase de lecture ouverte.
PAL: phosphatases alcalines.
PAMP: (pathogen-associated molecular pattern).

PBH : ponction biopsie hépatique.
PCR : polymerase chain reaction.
PePHD : domaine homologue au domaine de phosphorylation du facteur PKR–eIF2 α .
PKR: protéine Kinase R.
PLT : plaquettes.
Protéine C : protéine core.
P7 : protéine7.
RIG: retinoic acid inducible gene.
RT-PCR: reverse transcriptase PCR.
S: protéines structurales.
STAT: signal transducer and activator of transcription.
TCR : T-cell receptor.
TGO : Glutamo- Oxaloacétate Transférase.
TGP: Glutamo Pyruvique Transférase.
Th: T helper.
TLR: toll-like receptor.
TMA: transcription-mediated amplification.
TMB: tétraméthyl benzidine.
TNF: tumor necrosis factor.
TNFR: tumor necrosis factor receptor.
TP: taux de prothrombine.
TPO : thrombopoïétine
TRIF: Toll-interleukin-1 receptor-domain-containing adaptator inducing INF- β .
Tyk: tyrosine kinase.
VHC : virus de l'hépatite C.
VIH : virus de l'immunodéficience humaine.
VLDL : very low density lipoprotein, (lipoprotéines de très faible densité).

Liste des tableaux

Partie théorique :

Numéro	Titre	Page
01	Rôle de la ponction biopsie hépatique au cours de l'infection virale C	38

Partie pratique :

Numéro	Titre	Page
02	Réactifs utilisés dans le test Monolisa® HCV Ag – Ab ULTRA	43
03	Variation du taux des transaminases (TGO, TGP) chez les malades de l'hépatite C à transaminases normales	58
04	Variation du taux des transaminases (TGO, TGP) chez les malades de l'hépatite C à transaminases élevées	60
05	Variation du taux des phosphatases alcalines chez les malades de l'hépatite C	61
06	Variation du taux de GGT chez les malades de l'hépatite C	62
07	Variation du taux de la bilirubine chez les malades de l'hépatite C	64
08	Variation du taux de plaquettes chez les malades de l'hépatite C	67
09	Variation du taux de prothrombine et du facteur V chez les malades de l'hépatite C	69
10	Résultats de la ponction biopsie hépatique	71
11	Classification histologique des lésions d'hépatite chronique C (Système Métavir)	73

Liste des figures

Partie théorique :

Numéro	Titre	Page
01	Vascularisation du foie	2
02	Histologie du foie	3
03	Ultrastructure du parenchyme hépatique	6
04	Schéma des principales fonctions physiologiques du foie	7
05	Organisation génomique du VHC et protéines virales	13
06	Topologie des protéines du VHC dans la membrane du réticulum endoplasmique	15
07	Cycle de réplication putatif de HCV	17
08	Arbre phylogénique	18
09	Schéma général de l'équilibre dynamique au cours de l'infection par le VHC	22
10	Les glycoprotéines (gp) d'enveloppe E1 et E2 du VHC	24
11	Représentation schématique du CD81	25
12	Trois modèles possibles pour l'adsorption du virus de l'hépatite C (VHC)	26
13	Schéma général de la réponse immune au cours de l'infection virale C	31
14	Réponse de l'hôte à l'infection par le VHC	33

Partie pratique :

Numéro	Titre	Page
15	Centrifugeuse	42
16	Incubateur sec de microplaques	42
17a	Microplaque à 96 puits	42
17b	Microplaque à 96 puits	42
18	Laveur automatique	42
19	Lecteur de plaques	42
20	Automate médonique CA 620	46
21	STA (système de coagulation automatique) compacte	46
22	Automate METROLAB 2300 PLUS	48
23	Ponction biopsie hépatique	54
24	Cassettes en plastique	54
25	Inclusion en paraffine	55
26	Moules de paraffine	55
27	Coupe au microtome	56
28	Étalement et collage des coupes sur la lame	56
29	Variation du taux de TGO (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases normales ($p = 0,5934$)	58
30	Variation du taux de TGP (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases normales ($p = 0,5412$)	59
31	Variation du taux de TGO (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases élevées ($p = 0,0002$)	60
32	Variation du taux de TGP (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases élevées ($p < 0,0001$)	61

33	Variation du taux des phosphatases alcalines (UI/L) chez les malades de l'hépatite C (p = 0.0040)	62
34	Variation du taux de GGT (UI/L) chez les malades de l'hépatite C (p = 0.0190)	63
35	Variation du taux de la bilirubine totale (mg/L) chez les malades de l'hépatite C (p = 0.0127)	64
36	Variation du taux de la bilirubine directe (mg/L) chez les malades de l'hépatite C (p = 0.0484)	65
37	Représentation schématique des premières étapes du métabolisme de la bilirubine	66
38	Représentation schématique des étapes hépatocytaires du métabolisme de la bilirubine	67
39	Représentation schématique de la génération du flux biliaire (cholérèse) par la sélection active des acides biliaires au pôle canaliculaire de l'hépatocyte	67
40	Variation du taux de plaquettes ($10^3/\text{mm}^3$) chez les malades de l'hépatite C (p = 0.0020)	68
41	Variation du taux de prothrombine (%) chez les malades de l'hépatite C (p < 0.0001)	70
42	Variation du taux du facteur V (%) chez les malades de l'hépatite C (p < 0.0001)	70
43	Résultats de la ponction biopsie hépatique selon le score Métavir	72
44	Fibrose hépatique évaluée sur la coloration de picrosirius mettant en évidence la fibrose collagène en rouge	74
45	Nécrose périportale (NP) observée sur le trichrome de Masson	75
46	Nécrose et inflammation lobulaire (NL) observées sur l'hématoxyline éosine et safran (HES)	75
47	Score de fibrose METAVIR	76
48	La séquence des altérations morphologiques caractéristiques de la nécrose	79
49	Aspect ultrastructural d'un hépatocyte en voie de nécrose	79
50	Schéma illustrant un sinusoiide hépatique en situation physiologique (A), une fibrogenèse débutante avec dépôts de constituants de la matrice extracellulaire dans l'espace de Disse (B), et une fibrose importante associée à des altérations cellulaires (hépatocytes et cellules de Ito)	81
51	Modifications de l'espace de Disse au cours de la fibrogenèse hépatique	82

INTRODUCTION

Parmi les organes qui ont une grande importance dans le fonctionnement du corps humain, on trouve le foie qui joue un rôle central et multiple dans nombreux processus physiologiques. Le foie a de nombreuses fonctions vitales endocrines et exocrine. Certaines se retrouvent dans d'autres organes mais prennent ici une importance particulière du fait du volume de la glande, d'autres lui sont spécifiques. Toutes mettent en jeu des systèmes enzymatiques nombreux et complexes et consomment de l'énergie fournie par la dégradation des glucides et des acides gras.

Le mot hépatite signifie inflammation (enflure) du foie; cette affection peut avoir de nombreuses causes. Une de ces causes, le virus de l'hépatite C, communément appelé VHC, est un virus qui s'attaque au foie et peut entraîner de l'inflammation et la formation de tissu cicatriciel. La phase initiale de l'hépatite C est appelée hépatite C aiguë. Si le virus persiste dans l'organisme plus de six mois, la maladie entre alors dans une phase appelée hépatite C chronique.

Le virus de l'hépatite C a été découvert en 1989 grâce à une collaboration entre les équipes de Houghton et Bradley. Il est responsable de la plupart des hépatites non A – non B à transmission parentérale ou dont le mode de transmission est inconnu (sporadiques). Le virus de l'hépatite C est un petit virus enveloppé, d'environ 60 nm de diamètre, dont le génome est un ARN monocaténaire linéaire de polarité positive contenu dans une capsidie protéique icosaédrique. Il présente une grande variabilité génétique : six génotypes différents ont été identifiés. Cette variabilité génétique est en partie responsable de la persistance virale et donc de la chronicité de la maladie, et d'un échappement immunologique, thérapeutique et vaccinal du virus

L'hépatite C est une maladie relativement fréquente. On estime que 3 % de la population mondiale a une infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC). L'infection à VHC est caractérisée par un risque élevé de passage à la chronicité et la multiplication virale persiste tout au long de l'évolution de la maladie. L'hépatite chronique C est une cause majeure de cirrhose et de cancer primitif du foie (carcinome hépatocellulaire).

Le diagnostic de l'hépatite C commence par des tests sérologiques, des tests sanguins permettant de détecter les anticorps anti-VHC. Le suivi de l'hépatite chronique nécessite la réalisation de bilans hépatiques successifs qui permettent d'apprécier le retentissement du virus sur le fonctionnement du foie et, en cas d'anomalie, d'une ponction biopsie hépatique (PBH). Cette dernière permet d'évaluer l'importance des lésions.

Notre étude qui porte sur une population habitant la région de BATNA, comprend deux parties :
La première partie : une étude bibliographique qui comporte quatre chapitres qui commencent par la description du foie et ses fonctions hépatocellulaires, des informations générales sur le virus de l'hépatite C, la physiopathologie de l'infection virale C jusqu'au diagnostic de la maladie.
La deuxième partie : une étude pratique qui comprend deux chapitres. Le premier présente les matériaux et les modalités de dosages des paramètres étudiés. Le second chapitre expose les résultats de cette étude avec une discussion générale.

L'objectif de ce travail portant 1000 sujets suspects d'une population habitant la région de Batna est :

- ✓ de connaître le diagnostic biologique et histologique de la maladie.
- ✓ de mettre en évidence la prévalence de la maladie de l'hépatite C chez la population de la région de Batna.
- ✓ de préciser les caractéristiques biologiques et histologiques de la maladie.

Première partie

Etude bibliographique

Premier chapitre

Foie et fonctions hépatocellulaires

I. 1. Anatomie

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme et le seul capable d'une régénération en masse, il possède toutes les caractéristiques d'une glande exocrine d'une part, en étant responsable de la sécrétion de la bile, et d'une glande endocrine d'autre part grâce à sa situation sur le courant sanguin et à la disposition particulière de sa vascularisation (Denis., 1991 ; Hadjiky et al., 2000).

Le foie est rouge brun. Il a une consistance assez ferme et cependant il est friable, fragile et se laisse déprimer par les organes voisins. Leur poids est supérieur à 2kg, dont 800 à 900g de sang. Il mesure en moyenne 28 centimètres dans le sens transversal, 16 dans le sens antéropostérieur et 8 d'épaisseur (Rouviere, 1978).

Le foie est divisé en deux gros lobes, un grand lobe hépatique droit et un plus petit lobe hépatique gauche. La plus grande partie du foie siège en dessous de la coupole diaphragmatique à la forme de laquelle il s'adapte. Le lobe hépatique gauche dépasse largement la ligne médiane et s'étend dans l'hypochondre gauche. Si l'on observe la surface du foie, on peut différencier la face diaphragmatique convexe de la face viscérale concave. Sur la face antérieure, on reconnaît, attaché solidement à la face inférieure du diaphragme, le ligament falciforme (en forme de faux) qui forme la limite entre le gros lobe hépatique droit et le petit lobe hépatique gauche. Si l'on observe le foie sur sa surface viscérale, on distingue encore deux d'autres lobes plus petits : le lobe carré et le lobe de spigel (ou lobe caudé). Entre ces deux petits lobes se trouve le sillon transverse ou hile du foie. Au niveau du hile, la veine porte et l'artère hépatique représentant les deux branches droite et gauche du canal hépatique, en provenance des deux lobes, le quittent. Le foie est recouvert sur sa face externe par une capsule de tissu conjonctif dense et est également quasi complètement entouré de péritoine (Schaffler et Schidi, 1999).

I.2. Structure

Le foie a une structure essentiellement cellulaire, le parenchyme hépatique, organisée autour d'un réseau vasculaire complexe et entrecoupée par les canaux biliaires (Hadjiky et al., 2000).

I.2.1. Vascularisation hépatique

Le foie possède une double vascularisation afférente et efférente (Hadjiky et al., 2000).

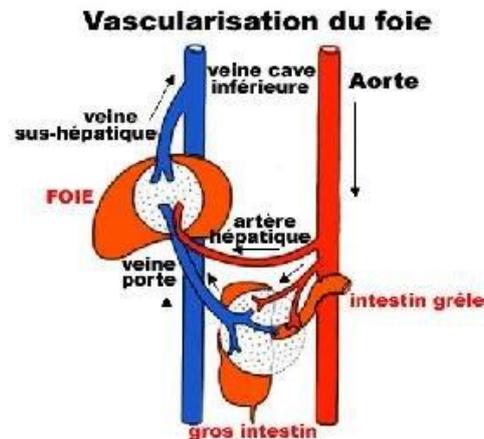


Figure 01. Vascularisation du foie (d'après Frasher et al., 1990).

➤ **Vascularisation afférente**

La vascularisation afférente est double : artère hépatique et veine porte.

- **L'artère hépatique commune** approvisionne le foie en sang oxygéné provenant des branches du tronc cœliaque issu de l'aorte. En pénétrant le foie, elle se divise en branches progressivement plus petites.
- **La veine porte hépatique** transporte le sang peu oxygéné du tractus digestif est riche en acides aminés, en lipides et en glucides absorbés par l'intestin (**Steven et al., 1993**).

Dans le foie, les deux circulations afférentes (artère hépatique et veine porte) libèrent leur sang dans un système commun de petits conduits vasculaires, les capillaires sinusoides (vaisseaux de 10 à 30 μ m de diamètre) qui sont en contact intime avec les hépatocytes (**Steven et al., 1993**).

➤ **Vascularisation efférente**

Le sang qui a traversé le parenchyme hépatique pénètre dans les veinules hépatiques (veinules centrolobulaires) qui se fusionnent en veines intercalaires puis en branches de la veine sus-hépatique. Les veines sus-hépatiques sont dépourvues de valvules et se jettent séparément dans la veine cave inférieure lorsqu'elle traverse le foie en direction de l'oreillette droite (**Steven et al., 1993**).

I.2.2. Parenchyme hépatique

Le parenchyme hépatique a une structure basée sur la disposition des hépatocytes en travées le long des capillaires sinusoides, ou travées de Remak (**Hadjiky et al., 2000**).

I.3. Histologie

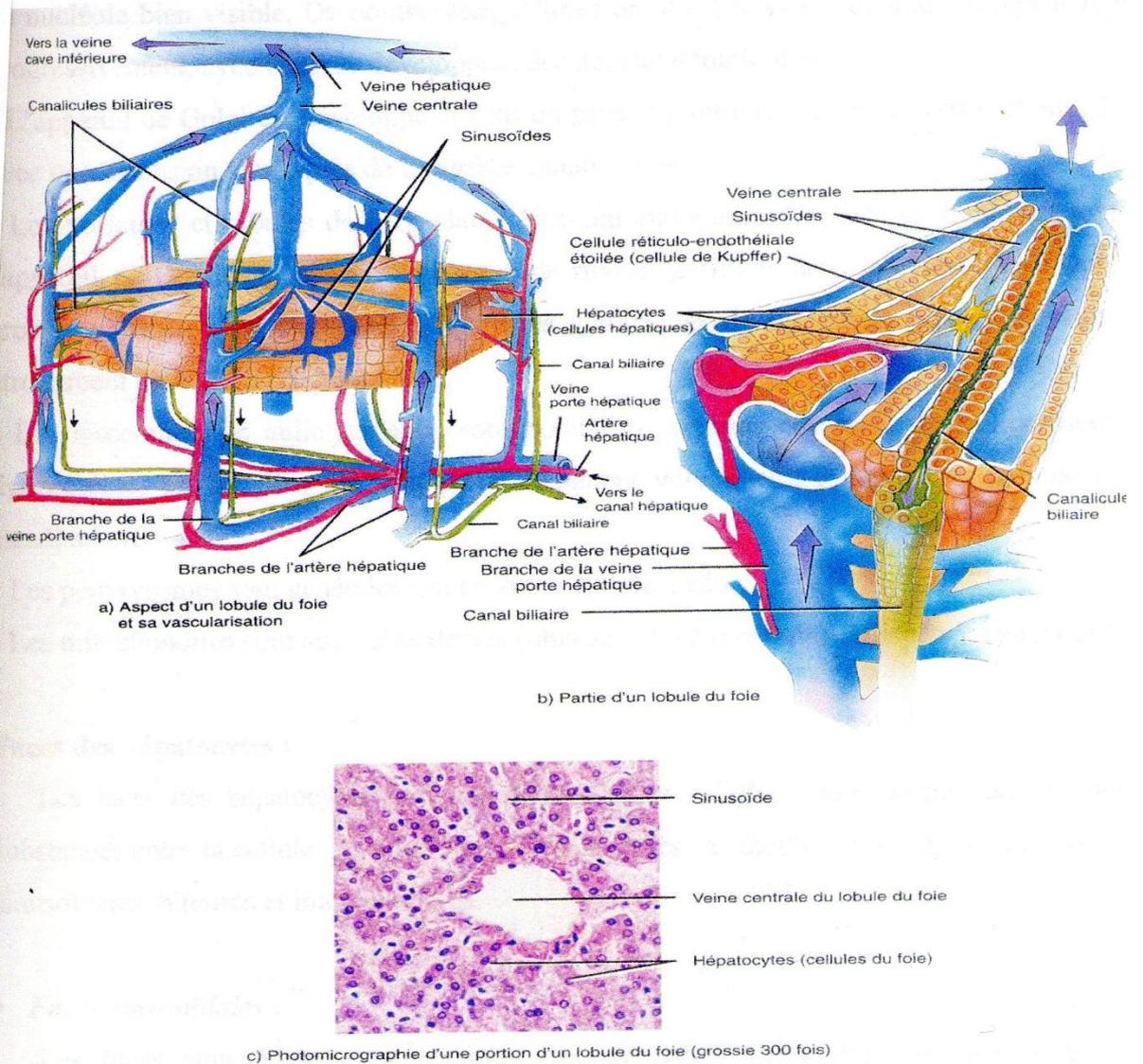


Figure 02. Histologie du foie (d'après Totori et al., 1999).

I.3.1. Cellules composant le foie

I.3.1.1. Cellules parenchymateuses : les hépatocytes

Les cellules parenchymateuses, ou hépatocytes, sont les plus nombreuses du foie. Il s'agit de cellules épithéliales polygonales de grande taille, organisées en travées anastomosées irrégulières et unicellulaires rayonnant autour d'une veine centrale. Également, elles sont associées les unes aux autres par des jonctions lacunaires et séparées par les capillaires sinusoides (Meeks et al., 1991).

Par ailleurs, les hépatocytes possèdent un noyau central, rond et volumineux, et certains sont binucléés, voire polynucléés (Meeks et al., 1991). Également, leur cytoplasme est de type éosinophile granuleux puisque très riche en mitochondries et organites intracellulaires (ex.: appareil de Golgi et les réticulum endoplasmiques lisse et rugueux). Cette abondance en organites cytoplasmiques reflète une importante activité métabolique : les hépatocytes représentent le centre fonctionnel du foie (Meeks et al., 1991; Berry et Edwards, 2000).

Les hépatocytes se caractérisent par des faces car elles interviennent dans le transport de substances entre la cellule, les vaisseaux sanguins et les canalicules biliaires. On distingue :

➤ **Faces sinusoidales**

Elles sont séparées des capillaires sinusoides par l'espace de Disse et représentent environ 70% de la surface de l'hépatocyte. Le transfert de substances entre les sinusoides et l'hépatocyte se fait par les faces sinusoidales.

➤ **Faces biliaires**

Sont celles à travers lesquelles la bile passe des hépatocytes aux canalicules. Elles représentent environ 15% de la surface cellulaire.

➤ **Faces intercellulaires**

Sont celles qui se trouvent entre deux hépatocytes. Elles représentent 15% de la surface des hépatocytes (Steven et al., 1993).

I.3.1.2. Les cellules non parenchymateuses

Bien que le foie s'avère composé majoritairement de cellules parenchymateuses, la paroi des capillaires sinusoides comprend 4 autres types cellulaires : les cellules endothéliales, les cellules de Küpffer, les cellules de Ito et les cellules de Pit (Meeks et al., 1991; Kmiec, 2001) (fig. 03). Ensemble, ces cellules non parenchymateuses représentent environ 40 % de la totalité des cellules du foie mais n'occupent que 6.3 % du volume hépatique total (Meeks et al., 1991; Kmiec, 2001; Thomson et Shaffer, 2005).

➤ **Les cellules endothéliales des capillaires sinusoides**

Les cellules endothéliales des capillaires sinusoides (**fig. 03**) diffèrent de celles des autres endothéliums vasculaires de l'organisme car elles ne possèdent pas de membrane basale et sont fenêtrées; cette porosité permet aux hépatocytes d'accéder facilement aux nutriments et macromolécules plasmatiques (**Meeks et al., 1991**). De plus, ces cellules jouent un rôle dans le métabolisme des lipoprotéines et s'avèrent impliquées dans l'endocytose de molécules et de particules (**Meeks et al., 1991; Thomson et Shaffer, 2005**).

➤ **Les cellules de Küpffer**

Situées à la surface luminale des cellules endothéliales, les cellules de Küpffer (**fig. 03**) sont des macrophages tissulaires qui, principalement, phagocytent les particules étrangères et les hématies usées ou anormales et éliminent certaines bactéries, les endotoxines et d'autres substances nocives (**Meeks et al., 1991; Thomson et Shaffer, 2005**).

➤ **Les cellules de Ito**

De forme étoilée, les cellules de Ito (**fig. 03**) sont périsinusoïdales puisque localisées dans l'espace de Disse, qui sépare les sinusoides des hépatocytes. Riches en graisses, elles jouent un rôle dans le métabolisme et l'emmagasinage de la vitamine A et la synthèse de molécules de la matrice extracellulaire (ex. : collagène) (**Thomson et Shaffer, 2005**).

➤ **Les cellules de Pit**

Situées dans la lumière des capillaires, les cellules de Pit sont les moins nombreuses de la paroi sinusoidale. Il s'agit de lymphocytes volumineux et granuleux agissant comme des cellules tueuses naturelles à activités antivirales et antitumorales (**Meeks et al., 1991; Thomson et Shaffer, 2005**).

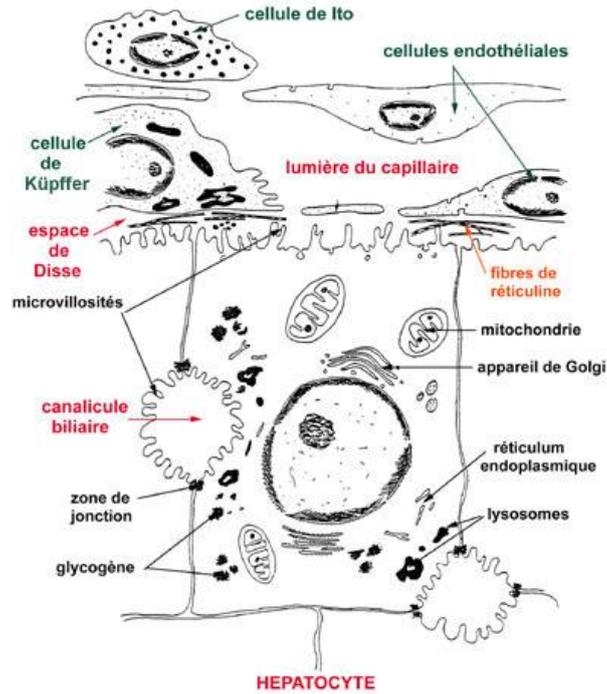


Figure 03. Ultrastructure du parenchyme hépatique (d’après Vacheret, 1999). La paroi des capillaires sinusoides contient 4 types de cellules non parenchymateuses, soit les cellules endothéliales, celles de Kupffer, de Pit (non représentées sur ce schéma) et de Ito.

I.3.2. Lobules hépatiques

Le foie est constitué d’un énorme nombre de lobules hépatiques. Sur des préparations en coupe, ces lobules hépatiques apparaissent ordonnés en prismes polygonaux (Schaffler et Schidi, 1999).

Chaque lobule hépatique centré par une veinule terminale sus-hépatique ou veine centrolobulaire. Chaque angle est constitué par un espace porte, de forme triangulaire, qui renferme une branche de la veine porte, une branche de l’artère hépatique, un ou deux canaux biliaires, des capillaires lymphatiques et des fibres nerveuses.

Chaque coté du lobule est formé par les branches tout à fait terminales de l’artère hépatique et de la veine porte. Ainsi se constitue une sorte de « cadre vasculaire » à l’intérieur duquel les capillaires sinusoides vont se disposer de façon radiaire et se diriger tous vers la veine centrolobulaire.

Cette architecture vasculaire explique l’organisation des hépatocytes en travées de Remak, séparées les unes des autres par les capillaires radiés. Ces travées ne sont généralement constituées que par une seule épaisseur d’hépatocytes et sont largement anastomosées entre elles pour former un réseau tridimensionnel « en éponge » (Hadjiky et al., 2000).

I.4. Physiologie et fonctions hépatocellulaires

Le foie exerce des fonctions multiples endocrines et exocrines. Il assure plusieurs fonctions métaboliques et régulatrices en plus d’être une partie vitale du système digestif (Fouet., 1978).

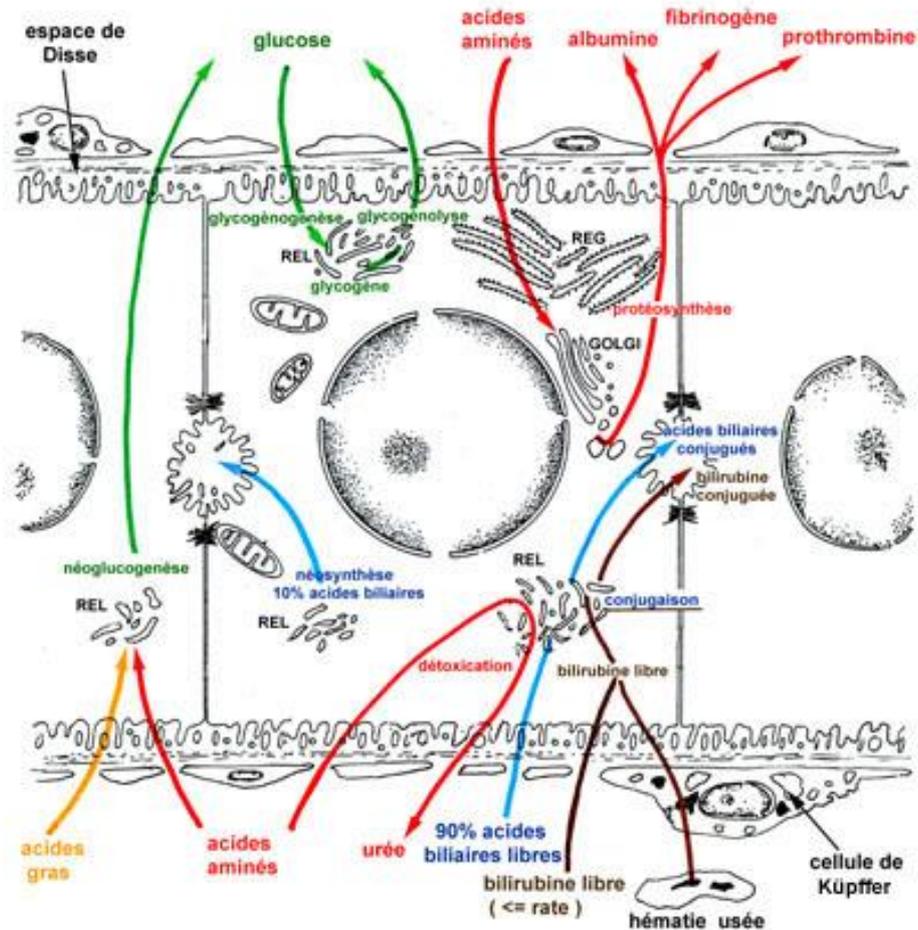


Figure 04. Schéma des principales fonctions physiologiques du foie (d’après Vacheret, 1999).

I.4.1. Fonction métabolique

I.4.1.1. Métabolisme hépatique des glucides

Les hépatocytes jouent un rôle important dans le métabolisme des glucides en assurant le maintien d'une glycémie normale. Pour cela, lorsque la concentration sanguine en glucose atteint un niveau trop élevé, celui-ci est converti en glycogène (glycogénèse) et emmagasiné dans les hépatocytes; quand, au contraire, cette concentration devient trop faible, les cellules hépatocytaires dégradent en glucose les réserves intrahépatiques de glycogène (glycogénolyse). Également, les hépatocytes peuvent synthétiser le glycogène à partir des lipides ou des protides (néoglycogénèse), et convertir en glucose différentes substances non glucidiques telles que des acides aminés (gluconéogenèse) (Thomson et Shaffer, 2005).

I.4.1.2. Synthèse hépatique des protéines

À partir des acides aminés puisés dans les capillaires, les hépatocytes synthétisent de façon continue la plupart des protéines du plasma sanguin, y compris l'albumine et la majorité des globulines autres que les gammaglobulines. L'albumine est une protéine sérique synthétisée exclusivement par les hépatocytes, et il s'agit de la plus abondante du système sanguin. Quant aux globulines, elles comprennent des facteurs de coagulation dépendants (prothrombine ou facteur II, facteurs VII, IX et X) ou indépendants (facteur V) de la vitamine K. Le foie s'avère de plus le siège du catabolisme des acides aminés en urée. Durant ce processus, appelé cycle de l'urée, l'ammoniaque, produit du métabolisme de l'azote et possible neurotoxine, est utilisé et par conséquent détoxiqué (Thomson et Shaffer, 2005).

I.4.1.3. Métabolisme des lipides

Les hépatocytes se montrent très actifs dans le métabolisme des lipides. Ils captent ainsi les acides gras et les estérifient en triglycérides qu'ils emmagasinent, et synthétisent du cholestérol, des phospholipides et des lipoprotéines plasmatiques (Thomson et Shaffer, 2005). Ces dernières s'avèrent composées des lipides ainsi que d'apolipoprotéines (Corvilain, 1997; Thomson et Shaffer, 2005). Les hépatocytes servent, de plus, de lieu d'emmagasinage des vitamines et d'oligo-éléments (ex. : fer, cuivre), et sont impliqués dans le métabolisme de certaines hormones (Marieb, 1999).

I.4.1.4. Métabolisme des hormones

Le foie est responsable de l'inactivation ou de la modification de plusieurs hormones endogènes ; en conséquence une maladie chronique du foie peut s'accompagner de signes de déséquilibre hormonal (Antony et al., 2000).

Le foie inactive plus particulièrement les hormones suivantes : oestrogènes, testostérone, progestérone, corticostéroïdes, thyroxine, insuline, ACTH et vasopressine (Kolb, 1975).

I.4.2. Fonction biliaire

I.4.2.1. Anatomie du système biliaire

Les voies biliaires extra hépatiques sont la vésicule biliaire et différents canaux.

- **Vésicule biliaire** : la vésicule biliaire, située dans sa fossette de la face viscérale du foie, est recouverte de péritoine sur ses cotés et sa face inférieure. Elle a une forme et une taille très variables, son volume moyen est de 30ml. La vésicule biliaire n'a pas de sous-muqueuse. La couche musculaire moyenne de la paroi est formée de fibres musculaires lisses. La contraction de

ces fibres par stimulation hormonale expulse le contenu de la vésicule biliaire dans le canal cystique (**Gardner et al., 1993**).

- **Canal cystique** : le canal cystique est oblique en arrière, en bas et à gauche ; il rejoint le canal hépatique commun pour former le canal cholédoque. Le canal cystique peut être très long et descendre alors vers le duodénum avant de rejoindre le canal hépatique commun. Le canal cystique peut aussi être très court (**Gardner et al., 1993**).
- **Canal cholédoque** : le cholédoque mesure 6 à 7 cm de longueur et s'ouvre dans le duodénum au niveau de l'ampoule de Vater, après avoir traversé le pancréas et s'être fusionné au canal pancréatique (**Silbernagl et Despopoulos, 1992**).

I.4.2.2. Synthèse et sécrétion de la bile

Les cellules hépatiques secrètent quotidiennement de 800 à 1000 ml de bile, liquide jaunâtre et légèrement alcalin composé essentiellement d'eau, d'ions, d'acides et de sels biliaires, de cholestérol et de la bilirubine (pigment provenant surtout de la dégradation des hématies) (**Jacquemin, 1998**).

La bile peut s'écouler directement dans le duodénum, ou être détournée vers la vésicule biliaire. Juste avant de pénétrer dans le duodénum, le canal biliaire se joint habituellement au canal pancréatique de sorte que le suc pancréatique arrivent ensemble dans l'intestin (**Silbernagl et Despopoulos, 1992**).

La bile a deux fonctions :

- **Production des sels biliaires**

La bile est sécrétée de façon continue puis emmagasinée et concentrée dans la vésicule biliaire en période de jeûne. En réponse à un stimulus hormonal (libération de la cholécystokinine du petit intestin), elle se trouve évacuée de la vésicule biliaire puis acheminée vers le duodénum. Là, les acides et les sels biliaires participent à l'émulsification des lipides alimentaires et des vitamines liposolubles, facilitant ainsi leur digestion par les lipases pancréatiques et leur absorption (**Meeks et al., 1991; Jacquemin, 1998**).

- **Fonction excrétoire**

La bile agit comme une voie excrétoire, en particulier pour les substances insolubles dans l'eau qui ne peuvent être excrétées par le foie (**Steven et al., 1993**).

L'excrétion de la bilirubine, illustre bien la fonction excrétoire de l'hépatocyte. La bilirubine dérivée de l'hème des globules rouges usés, est absorbée par le foie à partir du sang et est sécrétée dans la bile. La plus grande partie de la bilirubine est métabolisée dans les intestins par des bactéries, puis éliminée dans les fèces (**Bennett et Plum, 1997**).

I. 4.3. Détoxification

Les médicaments et les substances endogènes hydrosolubles sont habituellement excrétés sans modification dans les urines. Cependant, les substances liposolubles tendent à s'accumuler dans l'organisme et à affecter les processus cellulaires, à moins qu'elles ne soient transformées en composés moins actifs ou en métabolites plus hydrosolubles qui sont excrétés plus aisément. Le débit sanguin hépatique, la liaison protéique et la capacité intrinsèque d'éliminer un médicament sont tous des facteurs déterminants de la clairance hépatique des médicaments. Le foie joue un rôle important dans le métabolisme de nombreux médicaments exogènes et d'hormones endogènes par l'action de plusieurs systèmes enzymatiques impliqués dans la transformation biochimique (**Antony et al., 2000**).

I. 4.4. Fonction d'épuration et d'élimination

Le foie est notre principal organe d'épuration. Pour cela le foie dispose de nombreux enzymes qui permettent la dégradation et l'épuration selon deux voies principales :

- **Élimination rénale** : les produits de dégradation du métabolisme facilement hydrosolubles seront rejetés par les hépatocytes dans les capillaires sinusoides. De là, ils parviennent par la circulation générale au niveau des reins et quittent l'organisme dans les urines.
- **Élimination biliaire** : les produits de dégradation peu hydrosolubles, et donc peu solubles dans le sang, seront rejetés dans les canalicules biliaires par la face des hépatocytes opposée aux capillaires sinusoides. Grâce à l'action émulsifiante des acides biliaires, ils peuvent être mis en solution dans la bile et parvenir dans l'intestin avec cette dernière. Ils seront alors éliminés dans les selles (**Silbernagl et Despopoulos, 1992**).

Deuxième chapitre

Virus de l'hépatite C (VHC)

II. Généralités sur les virus

Les virus sont des agents infectieux qui ont une structure très simple. Ils sont constitués de particules que l'on appelle « virions » comprenant :

- une petite molécule d'acide nucléique : l'acide nucléique des virus est soit de l'ADN soit de l'ARN (dans le cas des virus à ARN une ou plusieurs molécules peuvent correspondre au génome) on distingue donc :
 - les virus à ADN, comme le virus de l'hépatite B ;
 - les virus à ARN, comme le virus de l'hépatite C, de la grippe ou du sida ;
- une coque protéique ou capsid : cette coque protéique se trouve à l'extérieur, pour entourer, protéger, l'acide nucléique au centre, contre les attaques enzymatiques ; chez certains petits virus, il ne s'agit pas réellement d'une capsid ; des protéines sont cependant au contact de l'acide nucléique (ARN) viral, formant ce que l'on appelle la nucléocapsid (également appelé nucléoïde central) ;
- parfois une enveloppe ; en effet, pour certains virus, la (nucléo) capsid est elle-même protégée par une autre enveloppe protéique (**Etienne et Clauser, 2004**).

Un virus, simple acide nucléique protégé par un revêtement protéique, est en quelque sorte un petit fragment de chromosome. À cet acide nucléique est parfois associé un enzyme viral (comme la rétrotranscriptase chez les rétrovirus). Mais les virus ne possèdent aucun équipement, en particulier ils n'ont pas de ribosomes, pour pouvoir faire des synthèses protéiques. Pour se reproduire, les virus doivent obligatoirement être des parasites, afin d'utiliser les systèmes de synthèse de la cellule hôte qui les reçoit (**Choo et al., 1989**).

On distingue les virus qui parasitent les bactéries (appelés «bactériophages» ou «phages») et les virus qui parasitent des organismes multicellulaires (plantes, animaux, homme). Les virus sont spécifiques d'une espèce, mais la spécificité est plus ou moins étroite selon le virus. Ainsi un virus peut avoir une affinité pour un hôte animal voire même seulement pour certaines cellules de cet hôte. Des récepteurs cellulaires et des protéines virales sont impliqués dans cette reconnaissance (**Choo et al., 1989**).

II.2. Virus de l'hépatite C (VHC)

De nombreux virus peuvent entraîner des anomalies de la fonction ou de la morphologie du foie au cours d'infections systémiques, mais seul un petit nombre est réellement hépatotrope. Cela signifie que ces virus entraînent une infection du foie, avec comme traduction clinique une hépatite. Le terme d'« hépatite virale » se réfère donc à la maladie entraînée par ce sous-groupe de virus. Stricto sensu, ce terme devrait englober, sur le plan taxonomique, les infections entraînées par des virus exotiques comme le virus de la fièvre jaune. Cependant, il est habituellement réservé à un nombre restreint de virus dont la

découverte et la caractérisation ont constitué ces dernières années une des avancées les plus spectaculaires de la recherche clinique moderne (**Jean-Pierre et al., 2002**).

La découverte successive du virus de l'hépatite B puis du virus de l'hépatite A, au cours des années 1960-70 a permis d'identifier un groupe d'hépatites transmissibles à l'homme et au chimpanzé dont les caractéristiques épidémiologiques et cliniques pouvaient les rapprocher des hépatites virales A et B. Le terme provisoire d'hépatites « non A- non B » avait été proposé et la recherche de l'agent causal faisait l'objet de nombreux travaux. Plus récemment, des études épidémiologiques ou de transmission à l'animal ont permis d'individualiser deux formes d'hépatites non A- non B distinctes : l'une à transmission féco-orale dite « A-like », et l'autre à transmission parentérale, dite « B-like ». Toutefois, les techniques virologiques classiques n'ont pas abouti à l'isolement des agents responsables. Ce n'est qu'en 1989 que l'utilisation des techniques modernes de biologie moléculaire a permis, quasi simultanément, l'identification des virus responsables de la majorité des hépatites non A – non B à transmission féco-orale (virus de l'hépatite E) et des hépatites non A-non B à transmission parentérale (virus de l'hépatite C) (**Pawlostky et Lunel, 1996**).

II.2.1. Caractéristiques du virus

II.2.1.1. Classification taxinomique

Le VHC a été classé comme le seul membre d'un nouveau genre nommé Hepacivirus au sein de la famille des flaviviridae. Cette famille regroupe les flavivirus, tels les virus de la fièvre jaune et les virus des hépatites G. il s'agit de virus enveloppés et ayant un génome à ARN de polarité positive (**Paul et Dominique, 2003**).

II.2.1.2. Particule virale

Le VHC est un petit virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre, très difficilement visualisé en microscopie électronique. L'ARN viral est contenu dans une capsidie protéique (C) à symétrie icosaédrique, elle-même située dans une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les protéines virales spécifiques E1 et E2 (**Penin, 2003**).

II.2.1.3. Tropicité

Le tropisme du VHC ne se limite pas seulement au tissu hépatique. Des séquences d'ARN du VHC ont été détectées par PCR et hybridation in situ dans les cellules mononuclées du sang périphérique. Le VHC serait capable d'infecter à la fois les lymphocytes B et T, de même que des cellules de la lignée monocyttaire. Récemment, il a été suggéré que le système nerveux central (le tissu cérébral), de même que

les muqueuses orales soient le siège de la réplication du VHC, notamment par la mise en évidence de brins d'ARN génomique négatifs dans ces tissus. Ces observations suggèrent qu'à côté du site principal hépatique, il existe des « réservoirs secondaires » du VHC responsables des manifestations extra hépatiques et à l'origine des mécanismes de genèse des « variant » et de la persistance virale, et de la réinfection des foies greffés après transplantation (Bouffard et Hayshi, 1992 ; Paul et Dominique, 2003).

II.2.1.4. Génome viral

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

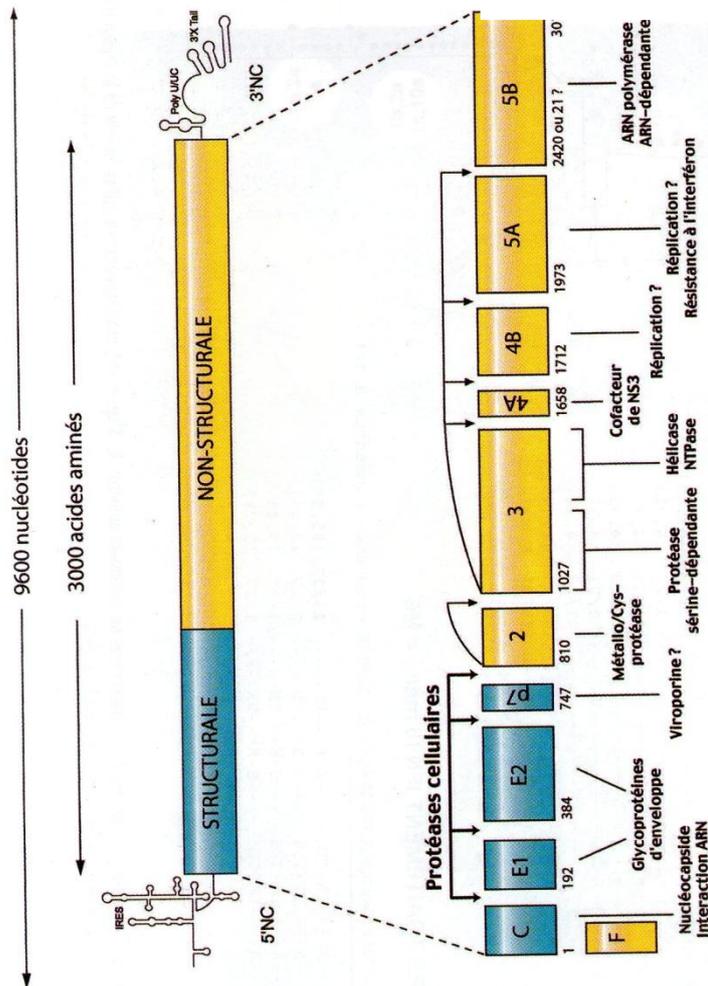


Figure 05. Organisation génomique du VHC et protéines virales (d'après Roingard et al., 2004).

➤ **Région 5' non codante (5'NC)**

L'extrémité 5' du génome viral n'est pas traduite et donc dénommée « région non codante ». Elle forme des structures secondaires importantes et contient un site interne d'entrée du ribosome (ou IRES : internal ribosomal entry site), impliqué dans la traduction de la poly protéine (**Tsukiyama-Kohara et Lizuka, 1992**).

➤ **Région 3' non codante (3'NC)**

La longueur de la région 3' non traduite n'a été jusqu'à présent caractérisée que pour un petit nombre de molécules ; elle est cependant variable de même que sa séquence nucléotidique. Un certain nombre d'arguments suggèrent qu'elle pourrait jouer un rôle important dans la réplication de l'ARN (**Tsukiyama-Kohara et Lizuka, 1992**).

➤ **Région codant les protéines virales**

Le génome du VHC possède une seule phase de lecture ouverte (ORF) de 9030 à 9099 nucléotides qui codent pour une grande polyprotéine de 3010 à 3033 acides aminés. Cette polyprotéine est clivée pendant et après sa traduction par des protéases virales et des protéases cellulaires de l'hôte pour donner en N terminal les protéines structurales de capsid (c), d'enveloppe E1 et E2 et une protéine appelée P7 (codées par le tiers proximal 5' de l'ORF), et les protéines fonctionnelles non structurales (NS2, NS3, NS4, NS5) en C terminal (codées par les deux tiers restants de l'ORF) (**Paul et Dominique, 2003**).

II.2.1.5. Protéines virales

Au moins dix protéines virales matures sont issues de la maturation de la polyprotéine. Celles-ci sont organisées dans l'ordre suivant au sein de cette polyprotéine :

NH₂-C-E1-E2-P7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOH (**Paul et Dominique, 2003**).

Les protéines du VHC sont classées en deux grands groupes, les protéines structurales (S) et les protéines non structurales (NS), selon qu'elles entrent dans la composition du virion ou qu'elles interviennent dans le cycle viral. En dépit de cette variété de fonction, toutes les protéines sont intimement liées au réticulum endoplasmique (RE) où elles sont localisées. Certaines sont ancrées à la membrane du RE, d'autres seulement apposées à sa surface selon une topologie présentée dans la **figure 06 (Matsuura et Miyamura, 1993)**.

De nombreux travaux analysent actuellement les mécanismes impliqués dans la coupure de cette polyprotéine. La région NS3 code dans sa partie N terminal pour une sérine protéase qui coupe la polyprotéine aux jonctions NS3/NS4 et NS4/ NS5. Une autre sérine protéase a été récemment décrite qui est codée par les régions NS2/NS3. Enfin la région NS4A intervient également dans la maturation (**Failla et al., 1994**). Ce sont par contre des signal-peptidases de l'hôte qui sont impliquées dans la maturation des

protéines de capsid et des deux protéines d'enveloppe E1 et E2. La région C terminale de la protéine NS3 possède également une activité hélicase, impliquée dans la réplication de l'ARN viral. Enfin la protéine codée par la région NS5 agit très vraisemblablement comme une polymérase virale RNA dépendante (Failla et al., 1994).

Une nouvelle protéine a été récemment décrite, la protéine F, résultant d'une traduction alternative par chevauchement de la phase de lecture de la capsid. Sa fonction n'est pas élucidée à ce jour (Paul et Dominique, 2003).

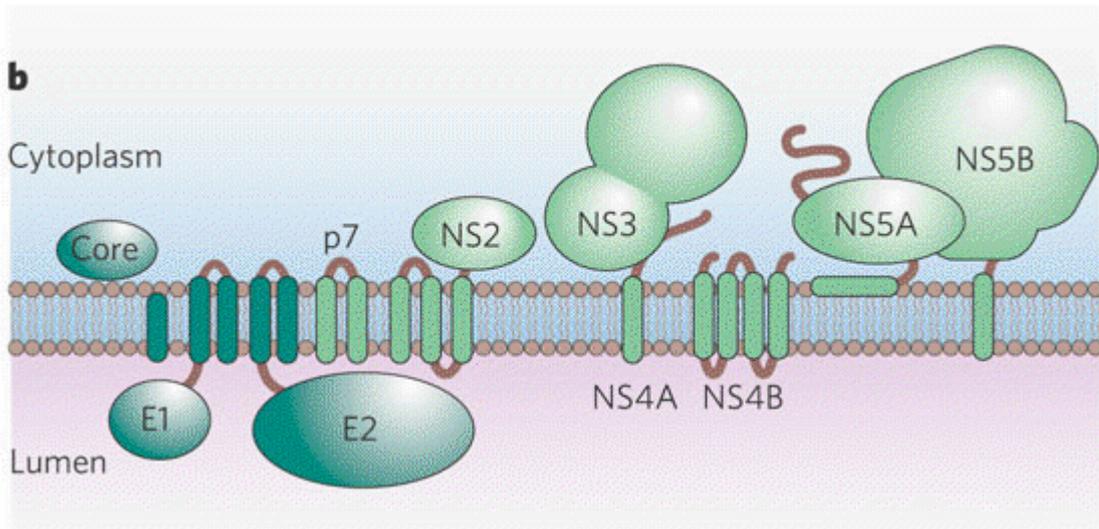


Figure 06. Topologie des protéines du VHC dans la membrane du réticulum endoplasmique (d'après Matsuura et Miyamura, 1993).

II.2.2. Cycle de réplication du VHC

Les mécanismes de réplication du VHC sont encore imparfaitement connus, du fait de l'absence d'un système de culture virale hautement efficace ou d'un bon Modèle animal. La compréhension actuelle des mécanismes moléculaires de la réplication du VHC repose sur des analogies avec les virus de la même famille, sur l'amélioration des modèles cellulaires et sur la caractérisation de protéines recombinantes du VHC (Paul et Dominique, 2003).

L'identification du ou des récepteurs du VHC est essentielle à la compréhension de sa pathogénèse. Actuellement deux récepteurs putatifs pour le VHC ont été identifiés (Mammette, 2002) :

- la protéine CD81. C'est une protéine qui est impliquée dans un grand nombre de fonctions cellulaires telles que l'adhésion cellulaire, l'activation, la prolifération et la différenciation des cellules B, T et autres types cellulaires. La protéine recombinante E₂, est capable de bloquer la liaison d'anticorps dirigés contre CD81 et inversement, des anticorps anti-CD81 inhibent la liaison cellulaire de E₂, confirmant l'interaction spécifique de la glycoprotéine E₂ avec la CD81 humaine. L'interaction de E₂ avec CD81 ferait intervenir la deuxième région hypervariable de E₂ (HVR2) (Berwyn et Clarke, 1993),

- le récepteur des LDL_S pourrait être un récepteur pour le VHC. Celui-ci pourrait permettre une internalisation du virus par l'intermédiaire de VLDL_S ou de LDL_S présentes à la surface de la particule virale et potentiellement conduire à l'initiation d'un cycle infectieux du VHC (**Mammette, 2002**).

Le rôle de la protéine E1 reste à élucider. Toutes les études indiquent que les deux protéines –E1 et E2– sont indispensables pour la fixation et l'entrée dans la cellule cible (**Penin, 2003**).

Une fois dans le cytoplasme, l'ARN génomique de polarité positive est directement traduit en une grande polyprotéine. La traduction est initiée grâce à l'IRES de la région 5' NC, où se fixent les sous-unités 40S des ribosomes. Cette activité IRES est modulée par plusieurs facteurs, notamment la région X conservée de la région 3' NC du génome viral par un mécanisme encore inconnu (**Giannini et Bréchet, 2003**).

L'étape de traduction a lieu dans le réticulum endoplasmique rugueux. La poly-protéine est ensuite apprêtée et clivée en protéines matures nécessaires à la poursuite du cycle virale (**Berwyn et Clarke, 1993**).

La réplication de l'ARN viral est sous la dépendance du complexe de réplication constitué par les protéines non structurales, notamment de région NS3-5B, complexe étroitement associé aux membranes intracellulaires, et très probablement à des protéines cellulaires. Celle-ci a lieu dans le cytoplasme de la cellule hôte (**Paul et Dominique, 2003**).

La plupart des étapes de la réplication sont encore peu connues. La protéine NS5B, ou ARN polymérase virale ARN-dépendante, joue certainement un rôle clé dans ce processus. Elle permet la synthèse des brins négatifs intermédiaires de réplication, et des brins positifs néoformés. La protéine NS3 permet le déroulement des structures secondaires complexes par son activité hélicase, et facilite ainsi l'amorçage et l'élongation de la matrice ARN. La phosphorylation de NS5A est une fonction très conservée chez tous les flavivirus, ce qui suggère que les variations du niveau de phosphorylation, doivent jouer un rôle important dans le cycle de vie de ces virus (**Giannini et Bréchet, 2003**).

A côté de ces protéines virales, des protéines cellulaires sont probablement impliquées dans ce processus de réplication. Le PTB (polypyrimidine tract binding protein) qui se fixe à la région 3' NC est un des candidats. La GAPDH (glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) est capable de se fixer sur la région poly U/UC située sur la portion médiane de la région 3' NC (**Paul et Dominique, 2003**).

L'étape de l'assemblage des virions et leur libération, implique les protéines de capsid qui s'oligomériseraient et s'associeraient aux brins d'ARN positifs néo-synthétisés, réprimant ainsi la réplication et la traduction. Les nucléocapsides acquièrent leur enveloppe en bourgeonnant depuis le réticulum endoplasmique où les protéines E1 et E2 sont retenues (Shimoike et al., 1999).

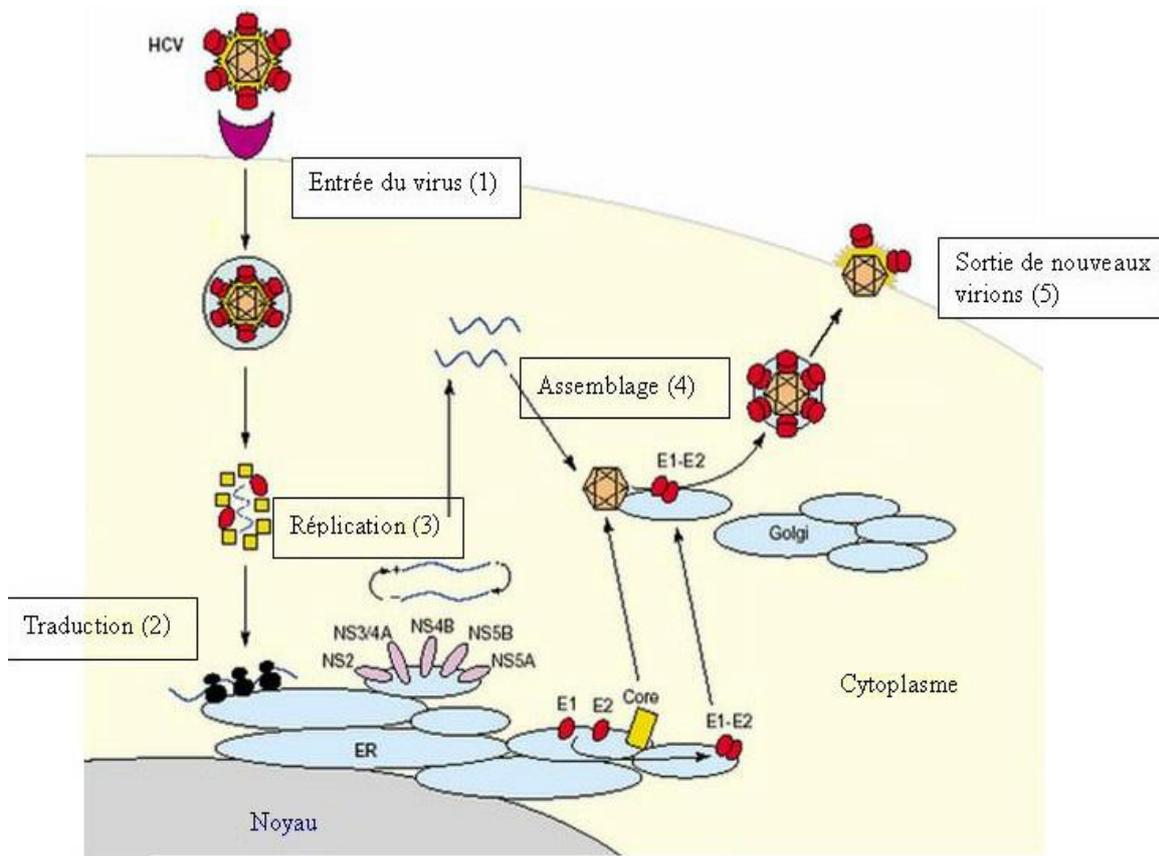


Figure 07. Cycle de réplication putatif de HCV. Le cycle de réplication de HCV comprend différentes étapes : **1.** entrée dans la cellule, **2.** expression du génome viral en une polyprotéine, **3.** réplication virale, **4.** assemblage de nouveaux virions infectieux et **5.** bourgeonnement à la membrane plasmique (**d'après Racanelli et Rehmann, 2003**)

II.2.3. Génotypes

Une nomenclature standardisée et une classification en six principaux groupes de génotypes avec de nombreux sous-types a été établie. Cette classification est basée sur le séquençage et la construction d'arbres phylogéniques. L'homologie de séquences est d'au moins 90 % entre les isolats d'un même sous-type ; elle est de 80 % entre différents sous-types et de 70 % entre différents génotypes. La nomenclature des types correspond aux six branches majoritaires de l'arbre phylogénique numérotées de 1 à 6 (**fig. 08**). Les sous types sont désignés par des lettres a, b, c, etc. correspondant aux sous-embranchements, et ceci dans l'ordre chronologique de leur description. Un comité international de taxonomie des séquences du VHC a pour rôle de classer les nouvelles séquences décrites afin d'éviter des classifications divergentes (**Simmonds et al., 1994**).

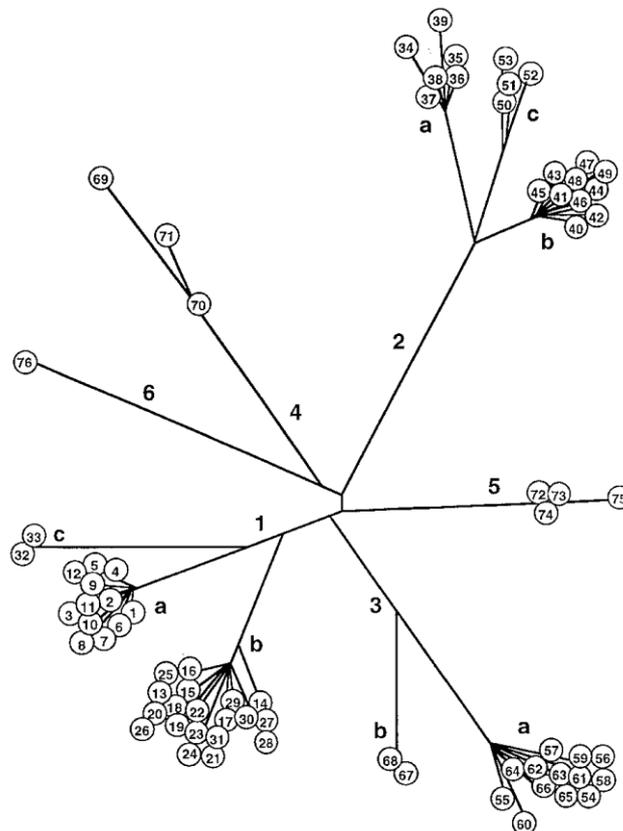


Figure 08. Arbre phylogénique (d'après Simmonds et al., 1994).

II.2.4. Variabilité génétique du virus de l'hépatite C

Le VHC est doué d'une variabilité génétique extrêmement importante. Celle-ci est en partie responsable de la persistance virale et donc de la chronicité de la maladie, et d'un échappement immunologique, thérapeutique et vaccinal du virus (**Martell et al., 1992**).

La variabilité génomique du VHC se caractérise à l'échelle du patient individuel par une hétérogénéité des populations virales dérivant d'une même souche originelle, hétérogénéité dont le degré varie au cours du temps, aboutissant au concept de quasi-espèces. Deux niveaux peuvent être individualisés : la complexité génétique d'une part, définie par le nombre de variants moléculaires existant au sein d'une population dite quasi espèce et la diversité génétique d'autre part, définie par la distance phylogénique entre variants moléculaires, et ce en prenant comme référence un isolat donné. Cette variabilité est le résultat de mutations génomiques ponctuelles ayant eu lieu lors de la réplication virale et de l'absence d'un système de corrections d'erreurs « *proof-reading* » (activité 3'-5' exonucléasique) de l'ARN polymérase virale (**Wain-Hobson, 1992**).

De nombreux paramètres influencent cette variabilité :

- l'importance de la production de virus, environ 2.10^7 virions par jour, entraînant un renouvellement important du VHC et des cellules infectées (**Zeuzem et al., 1996**);
- le taux de mutation du génome, $1,44. 10^{-3}$ nucléotides par site et par an pour le génome entier et $2,1.10^{-3}$ pour les régions hypervariables E2/NS1 (**Okamoto et al., 1992**) ;
- l'importance de la population virale, entre 10^9 et 10^{12} génomes (**Okamoto et al., 1992**);
- le « *fitness* », c'est-à-dire le pouvoir mutagène propre à chaque souche virale (**Zeuzem et al., 1996**).

De plus ces mutations sont accentuées par la pression plus ou moins importante du système immunitaire de l'hôte, et par l'action de l'interféron lui-même sur les régions hypervariables, le tout aboutissant à la sélection d'un virus plus « adapté » à l'hôte (**Bukh et al., 1995**).

II.2.5. Modes de transmission

La transmission du VHC se fait par voie parentérale. Le mode majeur de transmission est le contact direct avec le sang. Ce mode de transmission comprend les transfusions sanguines non contrôlées, les transplantations d'organes, l'usage de drogue intraveineuse avec partage de seringues, les transmissions nosocomiales (matériel médical) et certaines pratiques sociales et culturelles (tatouage, piercing, circoncision). Le risque de transmission par voie sexuelle est très faible, elle est toute fois possible, en particulier à l'occasion de rapports pendant les règles, en cas d'infections génitales ou de lésions des organes sexuels. Certaines pratiques sexuelles traumatiques et sanglantes peuvent être responsables de la transmission du VHC. La transmission materno-fœtale ou verticale a été observée. Une transmission intrafamiliale, de mécanisme inconnu, est soupçonnée car les anticorps anti-VHC sont significativement plus élevés dans les familles de patients atteints d'hépatite C (**Kiyoswara et al., 1994**).

Une co-infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) favoriserait la transmission du VHC. D'autres maladies sexuellement transmissibles joueraient aussi un rôle de cofacteurs pour la transmission du VHC. Un autre facteur qui augmente le risque de transmission du VHC est la charge virale. Les personnes qui présentent des anticorps anti- VHC, mais chez les quelles aucun ARN viral n'est détectable, ne semblent pas transmettre le VHC. Une charge virale élevée chez des partenaires sexuels ou des femmes enceintes augmente les chances de transmission de virus (**Thomas, 2000**).

Troisième chapitre

Physiopathologie de l'infection virale C

Notre connaissance de la biologie du VHC, en particulier de son organisation moléculaire, de son expression dans les cellules infectées et des modes de la réponse immunitaire de l'hôte a considérablement progressé ces dernières années. La pathogénie de l'hépatite, reste cependant encore incertaine en ce qui concerne les facteurs déterminant la persistance virale, les mécanismes à l'origine des lésions hépatocellulaires et des manifestations extra-hépatiques (**Jean-Pierre et al., 2002**).

Le VHC est caractérisé par un taux élevé de passage à la chronicité ; ceci explique l'importance de son rôle comme agent étiologique dans les maladies chroniques du foie à travers le monde. Des arguments suggèrent que le passage à la chronicité dépend : a) de l'infection non cytopathique des cellules hépatiques et non hépatiques ; b) de l'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte (**Sherlock, 1994**).

La persistance virale apparaît comme l'élément clé de l'installation du processus de destruction tissulaire lié à l'hépatite chronique. Les mécanismes de cette persistance virale sont de deux ordres : ceux liés au virus lui-même et ceux liés à l'hôte et à la réponse immune (**Paul et Dominique, 2003**).

III.1. Rôle du virus C dans la physiopathologie de l'atteinte hépatique

III.1.1. Dynamique virale

La persistance du VHC ne dépend pas d'une étape d'intégration de son génome dans le génome cellulaire. Le tropisme du VHC correspond à un organe cible préférentiel : le foie mais le virus peut également infecter les cellules mononuclées périphériques, les glandes salivaires, le système nerveux central et la peau (**Neuman et al., 1998**).

L'élimination du VHC dépend de la clairance « naturelle » ou intrinsèque des virus déjà produits, ce qui permet de calculer la demie vie de l'ordre de 2,7 à 16,8 heures pour le VHC (**Lam et al., 1997**).

Les cellules du foie s'infectent avec un certain taux. Le pool des cellules infectées conduit à la production de 10^{11} à 10^{12} particules virales par jour. Le taux d'apoptose des cellules infectées est plus important que celui des cellules non infectées et dépend des cellules lymphocytaires cytotoxiques. La production d'interféron γ par les cellules immunes contribue à limiter la production virale, aboutissant à l'équilibre, à un niveau de charge virale dans le plasma pouvant atteindre 10^8 copie d'ARN/ml (**fig. 09**) (**Paul et Dominique, 2003**).

III.1.2. Génotypes VHC

La relation entre le génotype et la sévérité de la maladie n'est pas clairement établie. Plusieurs études semblent indiquer que la cirrhose est plus fréquente si le patient est infecté par un virus de génotype 1b, bien que d'autres facteurs épidémiologiques comme l'âge du patient, pourraient expliquer ces observations (Zein et al., 1996).

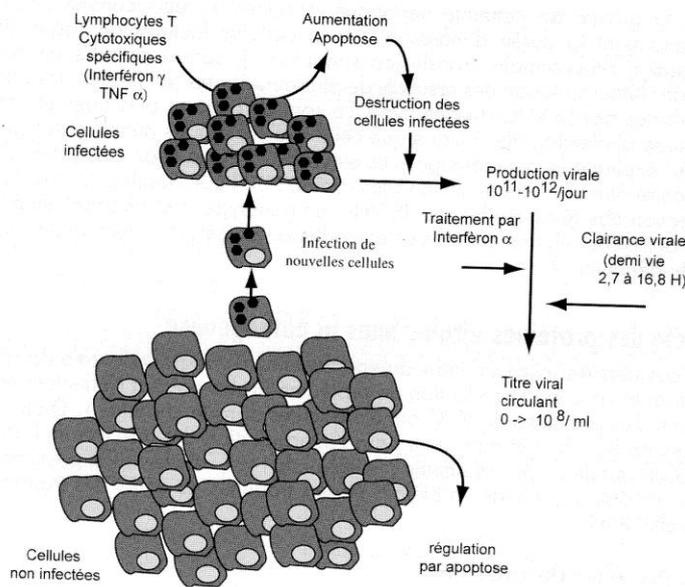


Figure 09. Schéma général de l'équilibre dynamique au cours de l'infection par le VHC (d'après Paul et Dominique, 2003).

III.1.3. Rôle des protéines virales dans la pathogénèse

Pour persister chez un individu, la réplication du virus et la production de protéines virales doivent s'effectuer en continu (Paul et Dominique, 2003).

III.1.3.1. Protéine de capsid

Schématiquement, cette protéine (résidus 1-191 de la polyprotéine) possède dans ses deux tiers NH₂-terminal une forte proportion d'acides aminés chargés (lysine ou arginine) responsables de nombreuses interactions décrites in vitro et dans son tiers COOH-terminal une zone très hydrophobe associé au métabolisme lipidique et servant également de séquence signal orientant E1 dans la lumière du réticulum. Cette protéine, encore appelée protéine core ou protéine C, est la plus conservée du virus. Sa

localisation est très majoritairement cytoplasmique associée aux membranes du réticulum ; l'hypothèse d'une fraction nucléaire a été suggérée (**Moriay et al., 1997**).

La protéine de capsid jouerait des rôles multiples et liés dans la pathogenèse virale par une cytotoxicité directe ou en modulant la réponse immunitaire de type cellulaire. La cytotoxicité de cette protéine aurait plusieurs origines. Une première origine possible serait la modulation de l'expression de gènes cellulaires. La seconde serait une activité transformante intervenant dans le développement de carcinome hépatocellulaire via la protéine P53 et l'une de ses cible, la protéine P21 (**Ray et al., 2000**). La dernière origine serait l'inhibition ou l'activation de l'apoptose. L'inhibition de l'apoptose liée à la voie C-myc pourrait intervenir dans la persistance virale. L'activation de l'apoptose implique une interaction (résidus 40-80) avec le domaine cytoplasmique des récepteurs de la famille des TNFR (tumor necrosis factor receptor), des lymphotoxines α et β et du ligand Fas (**Ruggieri et al., 1997**). La modulation de la réponse immunitaire cellulaire par le VHC serait aussi le résultat de cette interaction. Aux rôles précédents, il faut ajouter la stéatose qui impliquerait l'interaction de la protéine de capsid avec des gouttelettes lipidiques (**Barba et al., 1997 ; Murphy et al., 2000**).

La protéine F pourrait jouer un rôle dans l'assemblage et/ou l'entrée du virus. Il faut également noter que l'existence de cette protéine peut également remettre en question les nombreuses propriétés fonctionnelles attribuées à la capsid puisqu'elle est co-exprimée avec la protéine C du VHC1a dans de nombreux systèmes d'expression (**Nakai et al., 2006**).

III.1.3.2. Glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2

Les deux glycoprotéines E1 et E2 sont insérées au sein d'une bicouche lipidique pour constituer l'enveloppe du VHC (**Dubuisson, 2000**) (**fig. 10**). Ce sont des glycoprotéines transmembranaires de type I avec un ectodomaine amino-terminal et un peptide transmembranaire hydrophobe carboxy – terminal. La glycoprotéine E1 porterait le peptide nécessaire à la fusion avec la membrane endosomale après l'endocytose alors que la glycoprotéine E2 serait responsable de la reconnaissance et de l'attachement à la cellule (**Pileri et al., 1998**).

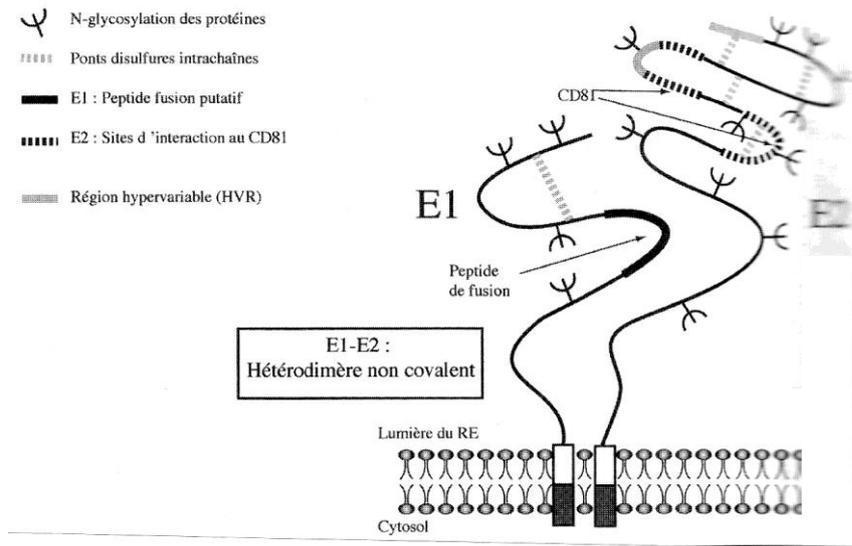


Figure 10. Les glycoprotéines (gp) d'enveloppe E1 et E2 du VHC (d'après Cocquerel et al., 2000).

La glycoprotéine E1 est constituée de 192 résidus (résidus 192-383 de la polyprotéine), dont 8 résidus cystéine, et la glycoprotéine E2 de 363 résidus (résidus 384-746 de la polyprotéine), dont 20 résidus cystéine. Ce grand nombre de résidus cystéines, donc de ponts disulfures potentiels, ainsi que la forte glycosylation de ces protéines ont pour conséquence de rendre leur repliement délicat (**Dubuisson, 2000**). Ce repliement se fait au niveau de la lumière du RE et dépend des signaux de rétention présents au niveau des segments transmembranaires d'E1 et d'E2 (**Cocquerel et al., 2000**). C'est un phénomène très lent qui nécessite plusieurs protéines chaperonnes cellulaires comme la calnexine et des isomérases disulfure. De plus, le repliement d'E1 est dépendant de la présence d'E2. La formation de complexes hétérodimériques E1-E2, maintenus par des interactions non-covalentes, achève la voie productive de ce repliement alors que la voie non productive se traduit par la formation d'agrégats liés par des ponts disulfures (**Dubuisson et al., 1994**).

La glycoprotéine E2 présente à son extrémité amino-terminal (résidus 1-27) une région hypervariable appelée HVR1 (**Weiner et al., 1991**) qui est la seule cible identifiée d'anticorps neutralisants. Une seconde zone hypervariable (HVR2) est située au niveau des résidus 90 à 98. En outre il a été montré que l'ectodomaine d'E2 interagit avec une boucle du récepteur cellulaire CD81 (**fig. 11**) à quatre passages transmembranaires (**Pileri et al., 1998**). Cette interaction est perçue par les cellules T comme un signal de stimulation de prolifération et contribuerait aux phénomènes auto-immuns et aux dommages hépatiques observés lors de l'hépatite C. D'autres récepteurs que le CD81 ainsi que des glycosaminoglycanes (**fig. 11**), localisés à la surface de la cellule, seraient impliqués dans l'entrée du

virus dans la cellule. Ainsi, il est connu que le VHC s'associe aux lipoprotéines de très faible densité (VLDL) par les glycoprotéine d'enveloppe (Thomssen et al., 1993). Le récepteur aux lipoprotéines de faible densité (LDLr) jouerait également un rôle pour l'entrée du virus dans la cellule par une interaction avec la glycoprotéine E2 (Jones et al., 2000). De plus, cette voie d'entrée serait indépendante du récepteur CD81 (Wunshmann et al., 2000).

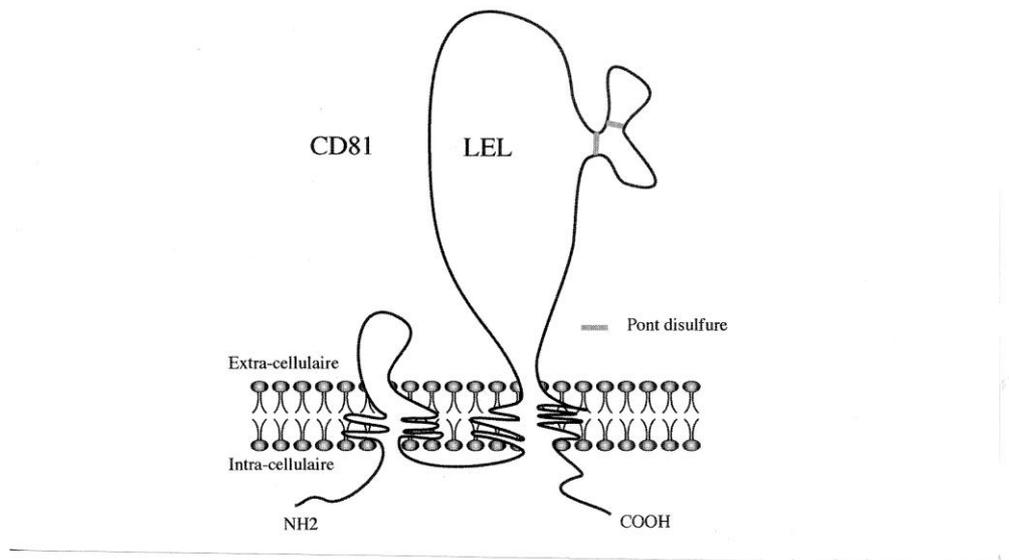


Figure 11. Représentation schématique du CD81 (d'après Cocquerel et al., 2000). LEL : large extracellular loop.

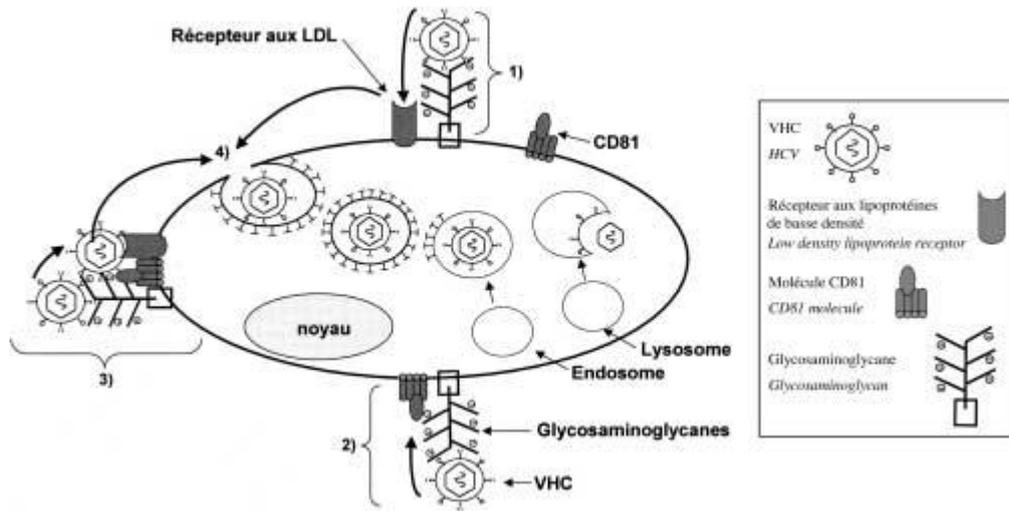


Figure 12. Trois modèles possibles pour l’adsorption du virus de l’hépatite C (VHC) (d’après Germei et al., 2001) : 1) un récepteur unique, 2) un récepteur alternatif en l’absence du récepteur principal, 3) un complexe moléculaire comme récepteur. Internalisation du virus (4) uniquement dans le cas d’une interaction virus/récepteur(s) de forte affinité. Les glycosaminoglycane ne pourraient être qu’un co-récepteur favorisant l’accès du virus aux récepteurs principaux.

La protéine Kinase R dépendante d’ARN bicaténaire (PKR) inhibe la synthèse des protéines en phosphorylant le résidu S51 du facteur d’initiation de la traduction eIF2 α (eucaryotic initiation factor 2 α) en réponse à l’interféron. C’est pourquoi, de nombreux virus inhibent cette PKR afin d’assurer la production de leurs protéines. La protéine E2, comme la protéine virale NS5A, jouerait ce rôle pour le VHC, induisant ainsi la résistance au traitement par l’interféron qui active la transcription du gène de la PKR. L’inhibition de la PKR par E2, impliquerait une séquence de 12 résidus (résidus 276-287) d’E2 nommée «domaine homologue au domaine de phosphorylation du facteur PKR–eIF2 α » (PePHD) (Taylor et al., 1999). Ce domaine semblerait plus conservé dans les séquences du génotype 1 qui est associé à une résistance plus grande au traitement par l’interféron (Chayama et al., 2000).

Le rôle de la protéine transmembranaire P7 (de 63 résidus «résidus 747-809 de la polyprotéine») n’est pas connu (Selby et al., 1994).

III.1.3.3. Protéine NS2

C’est une protéine hydrophobe de 217 résidus (810–1036 de la polyprotéine) associée à la membrane. Sa fonction principale est le clivage NS2/3. L’association de NS2 à la membrane la présence de Zinc et celle du domaine amino-terminal de NS3 sont importantes pour ce clivage (Hijikata et al., 1993).

III.1.3.4. Complexe NS3-NS4 : protéase virale majeure

Protéine de 631 résidus (résidus 1027–1657 de la polyprotéine), NS3 est divisée en deux domaines. Le premier (résidus 1-180) constitue le domaine portant l'activité protéase à sérine. Le second (résidus 181 -631) porte une activité hélicase et une activité nucléotise triphosphate hydrolase. Les deux domaines peuvent exercer leur activité catalytique indépendamment l'un de l'autre (**Kwong et al., 2000**).

NS4A est une protéine hydrophobe de 54 résidus (résidus 1658-1711 de la polyprotéine) (**Kim et al., 1996**).

L'activation de l'activité protéase requiert NS4A et la formation d'un complexe étroit non covalent NS3-NS4A. NS4A activerait et stabiliserait la protéase NS3 et l'ancrerait dans les membranes cellulaires (**Paul et Dominique, 2003**).

III.1.3.5. Protéines du complexe de réplication NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B

NS5B protéine de 591 résidus (résidus 2421-3011 de la polyprotéine) possède une activité ARN polymérase ARN-dépendante. La localisation de la réplication serait au niveau du RE. Pour son activité hélicase, NS3 posséderait dans sa région carboxy-terminale, une activité NTPase et ARN hélicase, éléments essentiels d'un complexe de réplication. NS3 intervient dans le complexe de réplication en modulant l'efficacité de réplication du brin négatif et du brin positif et leur caractère multimérique (**Paul et Dominique, 2003**). NS4B, protéine hydrophobe de 261 résidus (résidus 1712-1972 de la polyprotéine), pourrait également moduler l'efficacité d'activation de NS3 ; enfin NS5A, protéine de 448 résidus (résidus 1973-2420 de la poly protéine) interagirait au sein du complexe (**Reed et Rice, 1999**).

III.2. Rôle de la réponse immune

Après une infection aiguë par le VHC, environ 20 % des malades guérissent spontanément. Chez ceux-ci, les réponses immunes de l'hôte ont été capables de contrôler l'infection, permettant l'élimination définitive du virus. La guérison ne confère cependant pas d'immunité protectrice. Chez les 80 % des malades restants, l'infection évolue vers la chronicité (**Alter et Seeff, 2000**). L'infection par le VHC persiste alors qu'une réponse immune cellulaire et humorale forte et adaptée se développe, à la fois en périphérie et dans le foie. Les mécanismes de la persistance virale sont donc ceux de l'échec des réponses immunes à contrôler la réplication du virus et sa propagation à l'intérieur du foie. La compréhension de ces mécanismes reste incomplète, en grande partie parce que les patients ayant une hépatite aiguë

spontanément résolutive sont rares et ont été peu étudiés. Malgré le nombre toujours croissant d'études publiées, il est important de noter que la plupart des résultats ont été obtenus *in vitro* et que leur validité chez les patients infectés *in vivo* reste à démontrer (**Lai, 1994**).

La réponse immune est un acteur essentiel de toute infection virale, quelle qu'en soit l'issue. L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) ne déroge pas à cette règle. Les réponses humorales jouent un rôle central dans la neutralisation des particules virales circulantes, mais elles ont peu d'effet contre les particules virales intra-cellulaires (**Parker, 1993**). Les réponses cellulaires ont pour tâche essentielle d'éliminer les virus intracellulaires. Ce faisant, elles détruisent les cellules infectées et réduisent l'expression des gènes viraux grâce à l'action de cytokines produites par de nombreux types cellulaires. Ces actions ont un effet bénéfique : elles permettent d'éliminer nombre de cellules infectées et de réduire la réplication du virus. Elles ont également des effets délétères, car elles sont responsables de l'apparition et de l'évolution des lésions hépatiques, à l'origine de la maladie virale C (**Berke, 1995**). Certaines interactions entre le VHC ou ses composants et la réponse immune de l'hôte peuvent également être à l'origine de pathologies extra-hépatiques de mécanisme immunologique (**Pawlotsky et al., 1994**).

III.2.1. Réponse non spécifique à l'infection

La première barrière non spécifique de défense de l'organisme contre le VHC intervient au cours des premiers jours de l'infection. Le rôle des cellules lymphocytaires NK, des neutrophiles, des macrophages et celui de la sécrétion précoce de cytokines dans le contrôle de l'infection restent mal connus. Des arguments indirects suggèrent que l'infection pourrait être évitée à un stade très précoce. En effet, les lymphocytes de sujets infectés ou de chimpanzés exposés à une infection virale C peuvent montrer une réactivité à la stimulation par des antigènes du VHC en l'absence d'anticorps spécifiques et conserver la mémoire lymphocytaire plusieurs années après la guérison d'une hépatite C aiguë (**Ando et al., 1997**).

III.2.2. Réponses humorales

L'infection par le VHC est à l'origine de la production de très nombreux anticorps, dirigés à la fois contre des épitopes des protéines structurales et non structurales du virus. Le rôle de ces anticorps dans le contrôle de l'infection est mal connu. La production d'anticorps neutralisants est indispensable à la neutralisation des particules virales libres et à l'inhibition de leur pénétration dans les cellules permissives. Lorsque le virus a pénétré ces cellules, les réponses humorales peuvent contribuer à limiter la transmission virale de cellule à cellule. Leur effet sur les virus intra-cellulaires est lié à la cytotoxicité dépendante du complément et à la cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps (antibody-dependent

cellular cytotoxicity, ADCC). Il reste très modeste par rapport à l'effet des réponses cellulaires (**Weiner et al., 1992**).

De nombreux anticorps sont produits au cours de l'hépatite C. Une des cibles principales des anticorps neutralisants semble être la région hypervariable 1 (HVR1), région de 27 acides aminés située à la partie N-terminale de la glycoprotéine d'enveloppe E2 et relativement tolérante aux mutations amino acidiques (**Farci, 1994**). De nombreux arguments plaident pour la production d'anticorps neutralisants au cours de l'infection virale C. L'infection *in vitro* de lignées cellulaires lymphoïdes peut être inhibée par l'adjonction de sérum provenant de malades ayant une hépatite chronique C. Des sérums hyperimmuns obtenus après immunisation de J.-M. Pawlotsky B124 lapins avec un peptide HVR1 synthétique peuvent protéger des cultures cellulaires ou des chimpanzés de l'infection par la souche de VHC correspondante (**Shimizu et al., 1996**). Les sérums de patients atteints d'hépatite aiguë ou chronique C contiennent des anticorps capables d'inhiber la fixation des protéines d'enveloppe du virus à des lignées cellulaires *in vitro*, en particulier des lignées d'origine hépatocytaire (**Rosa et al., 1996**). Enfin, des anticorps anti-HVR1 peuvent précipiter le VHC, inhiber l'attachement viral et réduire ou inhiber l'infection *in vitro* ou *in vivo* (**Kojima et al., 1994**). D'autres cibles des réponses anticorps existent sur le génome viral, mais le rôle de ces réponses dans la protection contre l'infection est mal connu (**Mondelli et al., 1994**).

III.2.3. Réponses cellulaires

III.2.3.1. Réponse cellulaire T CD4-positif

Une réponse cellulaire T CD4-positif spécifique, restreinte par le système HLA de classe II, est observée au niveau des lymphocytes périphériques au cours de l'infection. Les protéines de capsid, NS3 et NS4A semblent les plus antigéniques (**Tsai et al., 1997**). Des cellules T CD4-positives sont également présentes au niveau du foie. Des clones spécifiques de certains antigènes du VHC, comme ceux de la capsid, de la glycoprotéine d'enveloppe E1 ou de NS4, sont présents, bien qu'ils ne semblent pas majoritaires (**Bertoletti et al., 1997**). La réponse CD4-positif apparaît compartimentée, les réactivités des cellules T CD4-positives intrahépatiques et périphériques étant qualitativement et quantitativement différentes (**Minutello et al., 1993**). La clairance virale spontanée semble associée à une réponse CD4-positif forte et maintenue, surtout dirigée contre des épitopes des protéines virales non structurales (**Lechmann et al., 1996**). En particulier, la reconnaissance d'un épitope immunodominant de la protéine NS3, situé entre les acides aminés 1251 et 1259, semble associée à une évolution favorable de l'infection. La clairance virale spontanée est d'autant plus probable que la réponse CD4-positif est de type Th1, c'est-à-dire que sont produits de l'IL-2 et de l'interféron- γ , cytokines capables d'activer à la fois les

réponses CTL et les cellules NK (**Pape et al., 1999**). A l'inverse, les malades chez qui l'infection évolue vers la persistance développent une réponse CD4-positif quantitativement plus faible, principalement de type Th2, caractérisée par la production préférentielle d'IL-4 et d'IL-10, ou Th0 (**Hoffmann et al., 1995**). Au stade chronique de l'infection, la réponse CD4-positif est forte, en particulier au niveau du foie, et principalement de type Th1. Elle n'empêche pas la persistance de l'infection et concourt à l'évolution des lésions hépatiques (**Bertoletti et al., 1997**).

III.2.3.2. Réponse cellulaire T cytotoxique (CD8-positif)

Des réponses CTL spécifiques du VHC, restreintes par le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, sont présentes en périphérie et dans le foie des malades ayant une hépatite C (**Chang et al., 1997**). Les CTL spécifiques des épitopes du VHC semblent se compartimenter au niveau du foie, où ils seraient beaucoup plus nombreux qu'en périphérie et où ils constituent la majorité des CTL activés (**Wong et al., 1998**). A ce niveau, les épitopes immunodominants semblent principalement localisés sur les protéines virales structurales, capsidique et enveloppe. La vigueur de la réponse cytotoxique semble inversement corrélée à la charge virale au cours de l'infection (**Nelson et al., 1997**). L'action des CTL sur la clairance virale pourrait être le résultat de la lyse des cellules infectées par apoptose et/ou de l'action de certaines cytokines, telles que l'interféron- γ ou le TNF- α , capables d'inhiber la réplication intra-cellulaire du virus, le granulocyte-macrophage colonystimulating factor (GM-CSF), ou l'IL-8 (**Hiroishi et al., 1997**).

Des résultats préliminaires ont suggéré que la réponse CTL spécifique du VHC était plus large et plus forte chez les malades ayant une infection aiguë virale C guérissant spontanément que chez ceux développant une infection persistante (**Cooper et al., 1999**). Au stade d'hépatite chronique C, une réponse CTL spécifique adaptée est présente au niveau du foie, bien que relativement faible. Elle n'empêche pas la persistance de l'infection virale et participe au développement et à l'évolution des lésions hépatiques (**Koziel et al., 1995**).

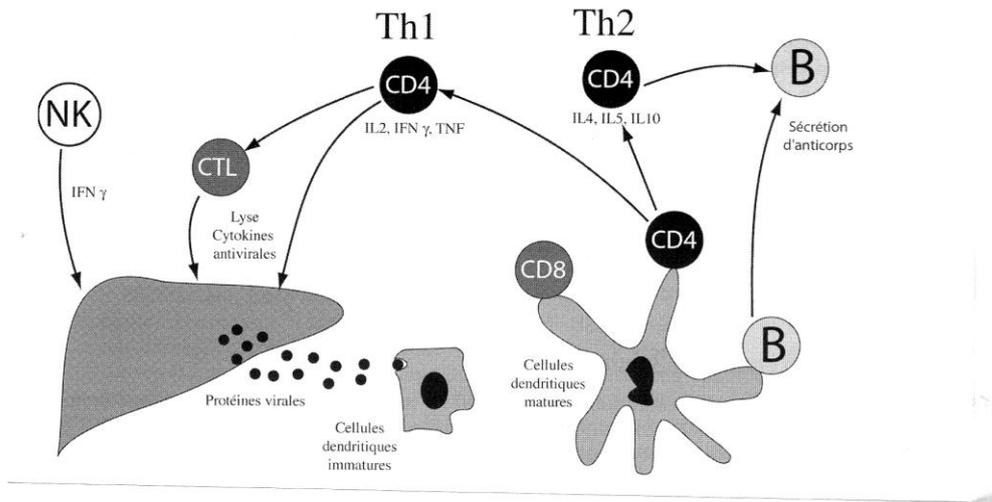


Figure 13. Schéma général de la réponse immune au cours de l'infection virale C (d'après Paul et Dominique, 2003). Après présentation par les cellules dendritiques des motifs peptidiques viraux, aux différents effecteurs du système immunitaire (NK, CD4, CD8 et lymphocyte B), les réponses immunitaires immédiates et spécifiques aboutiront, d'une part à la sécrétion de cytokines (IFN γ ...) susceptibles de limiter la réplication virale et, d'autre part, à l'apparition de cellules cytotoxiques T susceptibles d'éliminer les cellules infectées. L'échappement du VHC à ces effecteurs surviendrait initialement en bloquant l'efficacité des réponses immédiates et, secondairement, en provoquant un déficit qualitatif et quantitatif de l'immunité à médiation cellulaire spécifiquement dirigée contre le VHC. Le rôle des CD4+ serait primordial pour éradiquer l'infection.

III.2.4. Défenses de l'hôte : la voie interféron

Découvert en 1975 par Isacs et Lindenmann au cours d'expérimentations sur le virus grippal, l'interféron (IFN) est une protéine d'information cellulaire, induite par une infection virale, et qui va conférer aux cellules un état de résistance non seulement au virus inducteur mais également aux autres virus (Fleury, 2002).

Lors de l'infection par le VHC, différentes voies de défense de la cellule sont activées (Fig. 14). Bien que le VHC soit un virus simple brin, il comporte des régions double brin qui sont reconnues comme des signatures PAMP (pathogen-associated molecular pattern). L'ARN viral est alors reconnu par les récepteurs PAMP RIG-1 (retinoic acid inducible gene 1) et TLR-3 (toll-like receptor 3) lors de l'infection. RIG-1 et TLR-3 activent deux voies différentes. RIG-1 peut reconnaître des motifs double brin du VHC présents dans les régions 5' et 3' non traduites. La signalisation liée à ce récepteur dépend

de régions homologues à CARD (caspase recruitment domain) qui activent IRF-3 (interferon regulatory factor) et NF- κ B (nuclear factor κ B). TLR-3, également activé par l'ARN double brin, dirige l'expression d'IRF-3 et NF- κ B via une protéine adaptatrice appelée TRIF (Toll-interleukin-1 receptor-domain-containing adaptor inducing INF- β). Ces deux voies aboutissent à la phosphorylation d'IRF-3 qui, sous forme de dimère, est transloqué dans le noyau où il va activer ses gènes cibles dont le gène codant l'IFN β . Ceci conduit à la sécrétion d'IFN β par la cellule infectée, sécrétion qui permet l'expression des gènes induits par l'IFN (ISG) (**Sumpter et al., 2005**).

Par ailleurs, l'IFN β sécrété agit par voie paracrine et autocrine en se fixant aux récepteurs à l'IFN, qui activent la voie JAK-STAT. Dans cette voie, les protéines kinases Jak et Tyk2 associées au récepteur catalysent la phosphorylation de STAT. Cette phosphorylation active STAT qui peut alors s'associer sous forme de dimère STAT1-STAT2 à IRF-9, en formant des complexes STAT1-STAT2-IRF-9. Ces complexes se localisent dans le noyau de la cellule et activent la transcription des ISG (oligo adenylate synthetase, protéine kinase R (PKR),...). La voie JAK-STAT aboutit donc finalement à une seconde vague d'expression des ISG dans la cellule infectée. De nombreux récepteurs PAMP et partenaires de signalisation sont des ISG et leur production augmente en présence d'IFN. Un de ces ISG, IRF-7, va être exprimé en réponse à l'IFN, phosphorylé puis interagir avec IRF-3 en formant un hétérodimère qui va activer l'expression de l'IFN α . L'IFN α va diversifier la gamme des ISG exprimés et l'abondance des composants de la voie de signalisation des PAMP. C'est cette voie IFN α qui est utilisée pour le traitement actuel du VHC. L'IFN α induit également la maturation des cellules immunitaires effectrices, ce qui potentialise la production d'autres cytokines pro-inflammatoires, modulant les défenses de la cellule et l'immunité adaptative (**Sen, 2001**).

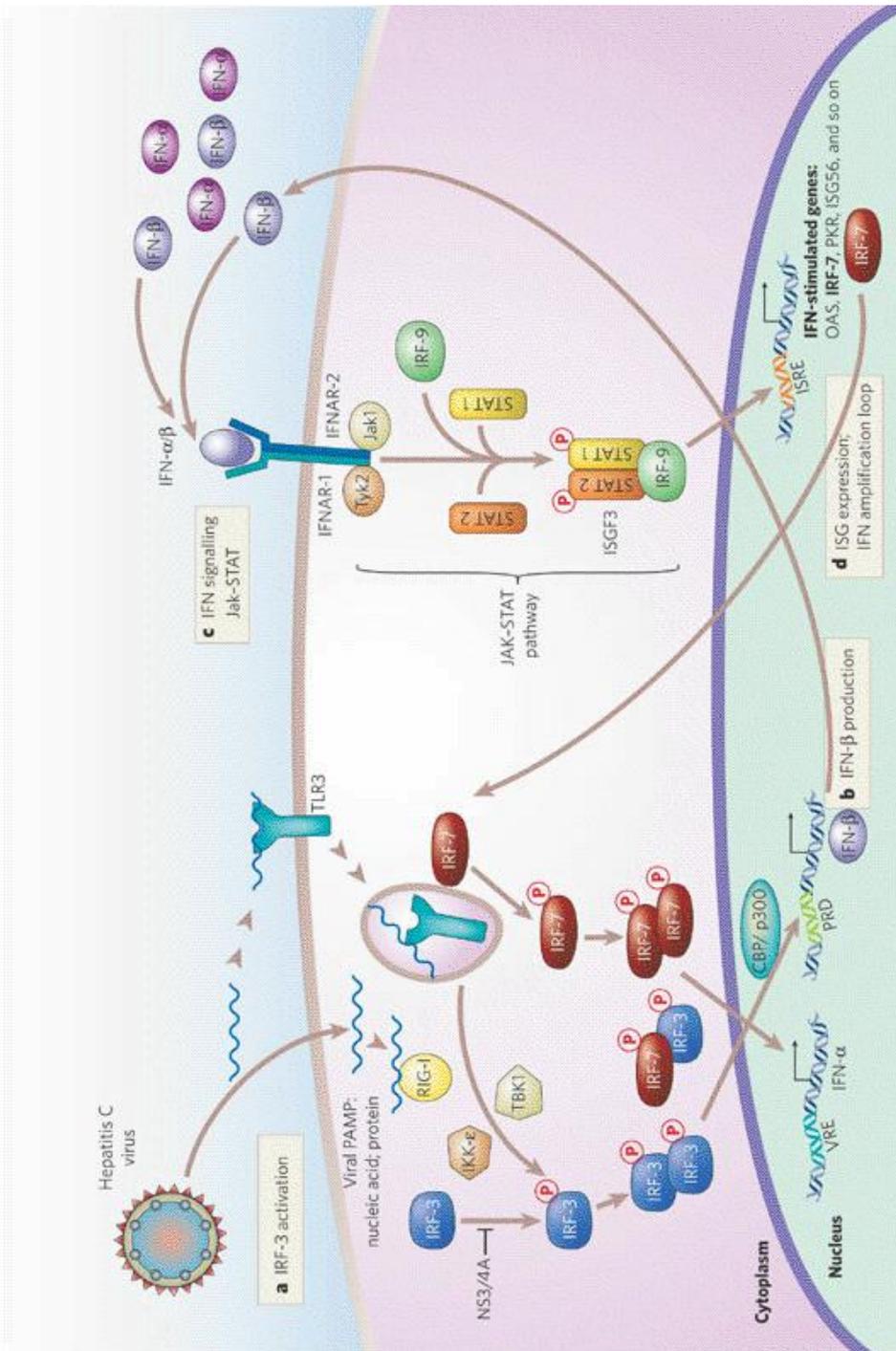


Figure 14. Réponse de l'hôte à l'infection par le VHC (d'après Gale et Foy 2005).

III.3. Rôle de la génétique de l'hôte

Des facteurs génétiques liés à l'hôte infecté pourraient également influencer la nature des réponses immunes et l'issue de leur interaction avec la réplication virale. Cet aspect a été peu étudié, en dehors du rôle du système HLA. Les résultats concernant l'influence des allèles de classe I et II sur la susceptibilité

à l'infection sont pour l'instant contradictoires (**Chen et al., 1996**). Par ailleurs, des études consacrées aux allèles de classe II ont suggéré que la guérison spontanée de l'infection était associée aux allèles DQB1*0301, DRB1*04, DQA1*03, et DRB1*1101, les trois derniers étant en fort déséquilibre de liaison avec DQB1*0301. L'allèle DQB1*0301 pourrait jouer un rôle en favorisant la clairance virale par des mécanismes inconnus (**Cramp et al., 1998**). L'allèle DRB1*11 pourrait également être impliqué. Aucune étude n'a examiné le rôle des allèles de classe I sur la guérison et la persistance de l'infection (**Minton et al., 1998**).

Il a été suggéré que la mutation -238A du promoteur du gène du TNF- α était associée à la persistance virale, mais ces résultats doivent être confirmés (**Hohler et al., 1998**).

III.4. Rôle des cofacteurs

Des facteurs exogènes jouent également un rôle important. C'est le cas de la prise de boissons alcoolisées, qui apparaît comme un des facteurs principaux de la progression de la fibrose et de l'évolution cirrhogène au cours de l'hépatite chronique C (**Roudot-Thoraval et al., 1997**). Une co-infection par le virus de l'immuno-déficiencia humaine et/ou par le virus de l'hépatite B, une immunosuppression associée, quelle qu'en soit la cause, sont également des facteurs d'évolution péjorative (**Cropley et Main, 2000**).

Quatrième chapitre

Diagnostic de l'hépatite C

Les outils virologiques, sérologiques et moléculaires sont indispensables à la prise en charge des hépatites virales, à la fois pour le diagnostic de l'infection, la mise en place du traitement antiviral et le suivi de la réponse virologique au traitement (**Gretch, 1997**).

Le diagnostic virologique spécifique met en évidence les composants du virus : antigène et génome (diagnostic virologique direct) et les anticorps spécifiques sériques (diagnostic virologique indirect). Des examens virologiques complémentaires aideront aux modalités de la prise en charge thérapeutique : génotype (ou typage sérologique des anticorps) et détermination séquentielle de la charge virale plasmatique (quantification de l'ARN viral). Le suivi de l'hépatite chronique nécessite la réalisation de bilans hépatiques successifs et, en cas d'anomalie, d'une ponction biopsie hépatique (PBH). Cette dernière permet d'évaluer l'importance des lésions (**Krajden, 2000**).

IV.1. Tests virologiques disponibles

IV.1.1. Marqueurs indirects

IV.1.1.1. Tests sérologiques de détection des anticorps anti-VHC

Les anticorps anti-VHC peuvent être détectés dans le sérum ou le plasma par des tests immunoenzymatiques de type " enzyme-linked immunosorbent assay " (ELISA), fondés sur l'utilisation de microplaques ou de billes de polystyrène couvertes d'antigènes viraux (**Gretch, 1997**).

Des tests de confirmation de la présence des anticorps anti-VHC fondés sur le principe de l'immunoblot ont été utilisés pendant de nombreuses années. Ces tests avaient une utilité pour éliminer les réactions faussement positives observées lors du dépistage systématique des anticorps anti-VHC chez les donneurs de sang. Ils ne sont plus utiles aujourd'hui car, depuis juillet 2001, tous les dons de sang sont testés pour la présence de l'ARN du VHC par une technique de biologie moléculaire (**Stramer et al., 2000 ; Coste, 2000**).

IV.1.1.2. Tests sérologiques de détermination du génotype

Une méthode indirecte de détermination du génotype peut être réalisée par typage sérologique identifiant les anticorps dirigés contre les épitopes viraux de la région NS4, spécifiques des différents types (1 à 6) (**Pawlotsky et al., 1997**).

IV.1.2. Marqueurs directs

IV.1.2.1. Tests de détection qualitative de l'ARN du VHC

Les tests de détection qualitative de l'ARN du VHC, qui ne permettent pas de mesurer la charge virale, sont toujours utilisés, car ils sont en général plus sensibles que les tests quantitatifs, c'est-à-dire capables de détecter des quantités plus faibles d'ARN viral dans le sérum ou le plasma des malades. Ces tests sont fondés sur le principe de l'amplification de la cible, c'est-à-dire la synthèse au cours d'une

réaction enzymatique cyclique d'un grand nombre de copies du génome viral qui peuvent ensuite être détectées par différentes méthodes. La " polymérase chain reaction " (PCR) utilise une ADN polymérase thermostable et des cycles successifs de températures différentes pour synthétiser des copies d'ADN double-brin (Saiki et al., 1986). La " transcription-mediated amplification " (TMA) utilise une T7 ARN polymérase à température constante pour synthétiser des copies d'ARN simple-brin (Compton, 1991).

IV.1.2.2. Tests de mesure de la charge virale

La quantification de l'ARN du VHC est intéressante dans le suivi thérapeutique de l'infection virale. Elle repose sur la détection et la quantification de l'ARN viral (RT-PCR, ADN braché, PCR temps réel) (Higuchi et al., 1993).

Elle est déterminée soit par amplification de la cible : RT-PCR, soit par amplification du signal : B-DNA. Depuis peu, il existe un standard international qui permet d'homogénéiser les unités de quantification de la charge virale. Pour les virus VHC-1, au cours de la conférence de consensus de 1999, un seuil décisionnel entre 500 000 UI/mL et 800 000 UI/mL avait été proposé pour établir la durée d'un traitement (Takeuchi et al., 1999).

IV.1.2.3. Tests moléculaires de détermination du génotype

La détermination du génotype peut être réalisée par des techniques de biologie moléculaire, toutes fondées sur une PCR initiale (techniques dites de " génotypage "). En pratique clinique, le génotype peut être déterminé par séquençage direct après PCR de la région 5'non codante du génome viral, suivi d'une comparaison à une banque de séquences, ou par hybridation inverse des produits de PCR de la région 5'non codante à des bandelettes de nitrocellulose portant des sondes oligonucléotidiques spécifiques des principaux types et sous-types (Halfon et al., 2001).

IV.1.2.4. Tests de détection et de quantification de l'antigène de capsid du VHC

Un test ELISA de détection qualitative de l'antigène de capsid du VHC a été développé pour permettre de réduire la fenêtre sérologique précédant la séroconversion en qualification des dons de sang (Orito et al., 1996). Par ce test, l'antigène de capsid est détecté en moyenne un à deux jours après l'ARN viral, alors que la fenêtre sérologique est en moyenne de 7 à 8 semaines (Couroucé et al., 2000).

Un test ELISA quantitatif utilisant le même anticorps monoclonal et comportant une étape préliminaire de dissociation des complexes antigène-anticorps a également été développé pour être utilisé dans la prise en charge des malades infectés par le VHC. Le titre d'antigène de capsid circulant est corrélé à la charge virale et sa mesure peut être utilisée comme un marqueur de celle-ci. La détection-quantification de l'antigène de capsid du VHC est cependant moins sensible que les tests moléculaires

pour la mise en évidence d'une réplication virale, puisqu'il ne détecte pas la réplication en deçà d'une charge virale de l'ordre de 20 000 UI/ml (**Tanaka et al., 2000**).

IV.2. Bilan hépatique

Le bilan hépatique permet d'apprécier le retentissement du virus sur le fonctionnement du foie.

Le bilan hépatique comprend le dosage de plusieurs enzymes, relativement spécifique du foie et fabriquées (au moins en partie) par le foie :

- Les transaminases (ALAT et ASAT).
- Les phosphatases alcalines (PAL).
- La gamma-glutamyl transférase (Gamma-GT).
- La bilirubine.

D'autres dosages sont des reflets moins spécifiques de l'activité du foie mais sont aussi des marqueurs du métabolisme hépatique, parmi lesquels :

- Le taux de prothrombine (TP).
- Le facteur V de coagulation.
- FNS, les plaquettes.

IV.3. Diagnostic histologique

L'examen histopathologique d'un fragment du foie obtenu par la ponction biopsie est un élément essentiel pour le diagnostic des atteintes chroniques du foie. Les indications de la ponction biopsie du foie ont augmenté au cours des 2 dernières décennies, notamment en raison de l'augmentation de la fréquence des hépatites chroniques virales C (**Cadranel et al., 2000**).

Au cours de l'infection par le VHC, la biopsie hépatique apporte des éléments diagnostiques et pronostiques essentiels et elle est considérée comme l'examen de référence pour la décision thérapeutique. Les buts de la biopsie hépatique chez un malade infecté par le virus C sont, d'une part, d'estimer le risque de progression de la maladie et, d'autre part, d'estimer le bénéfice potentiel du traitement antiviral (**Yano et al., 1996**).

IV.3.1. Rôle de la ponction biopsie hépatique au cours de l'infection virale C

Tableau 01. Rôle de la ponction biopsie hépatique au cours de l'infection virale C (d'après Paul et Dominique, 2003).

Rôle de la PBH
<ul style="list-style-type: none"> • affirmer l'hépatite chronique • grader la fibrose • évaluer l'activité • détecter des lésions associées

IV.3.2. Classification de l'hépatite chronique

La classification des hépatites chroniques a suscité de nombreuses polémiques, et a surtout apporté beaucoup de confusion. L'approche actuelle prend en compte trois considérations principales, l'étiologie, le grade et le stade histologiques. Le diagnostic d'hépatite C implique d'une part la confirmation d'une infection par le virus C, d'autre part l'évaluation de la gravité de l'atteinte hépatique. L'étiologie virale C ne peut pas être déterminée avec certitude sur des bases seulement histologiques et nécessite des investigations de laboratoire, en particulier sérologiques. La biopsie hépatique est par contre le *gold standard* pour établir le grade et le stade. Le grade histologique est le reflet de l'atteinte nécrotico-inflammatoire de l'infection et par conséquent de son activité. Il permet ainsi de pronostiquer l'évolution de l'hépatite ainsi que sa réponse au traitement. Le stade détermine l'importance et l'extension de la fibrose et est en principe irréversible (Ludwig, 1993; Scheuer, 1996).

Les classifications modernes visent à quantifier les lésions histologiques en établissant un score numérique basé sur le degré d'activité inflammatoire et de fibrose présente dans le foie. Pour qu'un système soit applicable, il doit présenter plusieurs caractéristiques. Premièrement, il doit inclure toutes les données nécessaires à déterminer la sévérité et la gravité de la maladie. Deuxièmement, il doit être facile à élaborer et être reproductible avec une variation intra- et interobservateurs raisonnable. Enfin, il doit présenter une utilité clinique, en permettant d'établir un pronostic et une stratégie thérapeutique (Bedossa et Poynard, 1996).

Les scores les plus connus et les plus couramment utilisés sont le score de Knodell (Knodell et al., 1981), et le score du groupe français METAVIR (Bedossa et Poynard, 1996). L'index histologique d'activité proposé par Knodell en 1981 a été le premier score numérique publié. Il se base sur quatre critères histologiques principaux : la nécrose périportale et en pont, la nécrose lobulaire, l'inflammation

portale, et la fibrose, fournissant un chiffre final compris entre 0 et 22 (**Knodell et al., 1981**). En 1996, un groupe d'hépatologues français propose, pour la classification des hépatites chroniques virales d'origine C, le score de METAVIR. Ce score apprécie deux éléments : l'activité et la fibrose (**Bedossa et Poynard, 1996**).

IV.4. Diagnostic de l'infection

IV.4.1. Diagnostic de l'hépatite aiguë

La réplication virale est détectable une à deux semaines après la contamination. Au moment de l'hépatite aiguë, les anticorps anti-VHC ne sont présents que dans 50 % à 70 % des cas. Chez les autres malades, ils apparaissent trois à six semaines après l'épisode aigu (**Thio et al., 2000**). Au cours d'une hépatite aiguë, les anticorps anti-VHC et l'ARN du VHC doivent être recherchés, respectivement par un test ELISA et par une technique moléculaire sensible, en même temps que les autres marqueurs d'hépatites virales. En l'absence de tout marqueur sérologique d'hépatites virales, la présence de l'ARN du VHC permet le diagnostic d'hépatite aiguë C qui sera confirmé quelques semaines plus tard par une nouvelle recherche d'anticorps anti-VHC montrant la séroconversion. L'absence d'anticorps et d'ARN viral rend le diagnostic d'hépatite aiguë C hautement improbable. Lorsque les anticorps anti-VHC et l'ARN viral sont simultanément présents, il est difficile de faire la différence entre une hépatite aiguë C, l'exacerbation d'une hépatite chronique C ou une hépatite aiguë d'autre cause survenant chez un porteur chronique du VHC (**Puoti et al., 1992**).

IV.4.2. Diagnostic de l'hépatite chronique

La chronicité de l'infection est confirmée par une virémie VHC-positif (RT-PCR), contrôlée classiquement après six mois (**Pawlotsky et al., 1998**).

Quelques points particuliers peuvent être soulignés :

- chez les sujets immunocompétents, une fois le diagnostic d'infection chronique posé, il est inutile de répéter la sérologie VHC qui demeure positive (**Krajden, 2000**);
- chez les patients immunodéprimés (VIH, greffés, hémodialysés), il arrive que le résultat de la sérologie VHC se négative. Si l'immunité du patient s'améliore, les anticorps sont susceptibles de réapparaître sans qu'il s'agisse d'une réinfection (**Pawlotsky et al., 1998**);
- chez le nouveau-né, les anticorps de la mère sont transmis de façon passive. Seule la recherche répétée de l'ARN viral pendant les premiers mois de la vie permet de diagnostiquer une infection en cours chez l'enfant (**Wejstal et al., 1992**).

IV.5. Pronostic de la maladie

Aucun test virologique n'apporte d'information pronostique sur l'évolution naturelle de la maladie liée au VHC. En particulier, ni le génotype viral, ni la mesure de la charge virale ne sont corrélés à l'activité nécro-inflammatoire, la fibrose ou leur potentiel évolutif à court, moyen ou long terme. Aucun de ces tests ne doit donc être réalisé à cette fin (**Gretch, 1997**).

Deuxième partie

Etude pratique

Cinquième chapitre

Matériel et méthodes

L'hépatite C est diagnostiquée grâce à plusieurs analyses de sang. Parmi ces analyses nous avons réalisé : les analyses sérologiques, le bilan hépatique et l'examen histologique.

La sérologie VHC consiste à rechercher la présence d'anticorps anti-VHC, témoins d'une réaction spécifique de l'organisme contre ce virus et donc d'une infection à VHC. Un test positif doit être confirmé par une seconde prise de sang.

Le bilan hépatique permet d'apprécier le retentissement du virus sur le fonctionnement du foie. Les principaux dosages que nous avons réalisé sont le dosage des paramètres biochimiques (les transaminases [TGO et TGP], les phosphatases alcalines [PAL], la gamma-GT, et la bilirubine) et le dosage des paramètres hématologiques (le taux de prothrombine, la numération des plaquettes sanguines et le facteur V).

La ponction biopsie hépatique est nécessaire pour suivre l'évolutivité de la maladie.

Notre étude a été réalisée sur 1000 sujets suspects habitant la région de Batna, de deux sexes, et de différents âges, dont le dépistage a été fait après un bilan de santé systématique montrant une hypertransaminasémie, lors d'un bilan d'une hépatite virale B ou d'une infection à VIH, lors d'un bilan des donneurs de sang ou devant des signes cliniques non spécifiques comme l'asthénie et les douleurs abdominales. Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Batna, laboratoire central d'hématologie du CHU de Batna, laboratoire de biochimie du sanatorium de Batna et laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique du CHU de Batna. L'étude a duré 12 mois, de Juillet 2009 à Juin 2010.

V.1. Sérologie VHC

Nous avons utilisé le test Monolisa® HCV Ag – Ab ULTRA pour le diagnostic sérologique qui est un test immuno – enzymatique pour la mise en évidence de l'infection à VHC basé sur la détection des anticorps et de l'antigène de capsid associés à une infection par le virus de l'hépatite C dans le sérum ou le plasma humain. Pour réaliser ce test nous avons utilisé une centrifugeuse (**fig. 15**), des microplaques à 96 puits (**fig. 17 a et b**) sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti – capsid du VHC et des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide muté de la région capsid du VHC, des films adhésifs, des pipettes pouvant distribuer 50 µl, 80 µl et 100 µl, un incubateur sec de microplaques (**fig. 16**), un laveur automatique (**fig. 18**) et un lecteur de plaques (**fig. 19**). Les réactifs utilisés dans ce test sont résumés dans le **tableau 02**.



Figure 15. Centrifugeuse.



Figure 16. Incubateur sec de microplaques.

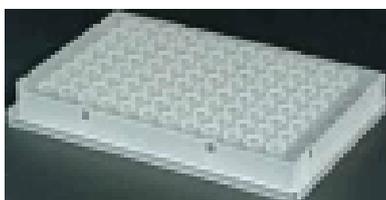


Figure 17 a. Microplaque à 96 puits.

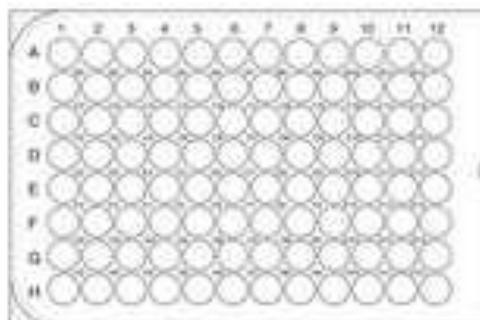


Figure 17 b. Microplaque à 96 puits.



Figure 18. Laveur automatique.



Figure 19. Lecteur de plaques.

Tableau 02. Réactifs utilisés dans le test Monolisa® HCV Ag – Ab ULTRA.

Etiquetage	Nature des réactifs
R2	Solution de lavage concentrée (20x) Tampon Tris NaCl pH 7,4 Conservateur : Proclin™ 300 (0,04%)
R3	Contrôle négatif Tampon Tris HCl Conservateur : Proclin™ 300 (0,1%)
R4	Contrôle positif Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 dilué dans un tampon Tris HCl. Conservateur : Proclin™ 300 (0,1%)
R5a	Contrôle antigène positif Antigène positif synthétique de contrôle contenant un peptide de capsid lyophilisé
R5b	Diluant du contrôle antigène positif Eau contenant un conservateur : Proclin™ 300 (0,5%)
R6	Conjugué 1 Anticorps monoclonal murin dirigé contre la capsid du VHC marqué à la biotine. Coloré en violet. Conservateur : Azide de sodium (<0,1%), Cosmocil 0,025%
R7	Conjugué 2 Anticorps murins anti-IgG humaines marqués à la peroxydase et streptavidine marquée à la peroxydase. Coloré en vert. Conservateur : Proclin™ 300 (0,5%)
R8	Tampon substrat de la peroxydase Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)
R9	Chromogène Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)
R10	Solution d'arrêt Solution d'acide sulfurique 1 N

Notre réalisation de ce test a été commencée par un prélèvement d'un échantillon de sang selon les pratiques en usage. Les tests sont effectués sur des échantillons non dilués de sérum ou de plasma (collectés avec des anti – coagulants comme l'EDTA et le citrate). Les échantillons présentant des agrégats doivent être clarifiés par centrifugation avant le test. Les particules ou agrégats de fibrine en suspension peuvent donner des résultats faussement positifs. Après l'établissement du plan de distribution et d'identification des échantillons et la préparation de solution de lavage diluée R2 et la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b), nous avons déposé directement, sans prélavage de la plaque, successivement 100 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule, 50 µl de contrôle négatif (R3) en A1, 50 µl de contrôle positif (R4) en B1, C1, D1, 50 µl de la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b) en E1, 50 µl du premier échantillon en F1 et 50 µl du deuxième échantillon en G1, etc.... Après ajout de l'échantillon, le puits contenant l'échantillon (ou les contrôles) + le conjugué 1 vire du violet au bleu. Après l'agitation durant 5 secondes, nous avons couvert la microplaque par un film autocollant et nous avons l'incubé dans un incubateur sec de microplaques à 37°C ± 1°C. Après 90 minutes d'incubation, nous avons retiré le film adhésif pour mettre la microplaque dans un laveur

automatique pour un lavage d'un minimum de 5 fois. Après l'étape du lavage, nous avons distribué 100 µl de la solution de conjugué 2 (R7) dans toutes les cupules et nous avons incubé la microplaque recouverte d'un film neuf pendant 30 ± 5 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Nous avons retiré le film adhésif pour faire un deuxième lavage. Nous avons fait une troisième incubation à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante (18 à 30°C) après la distribution dans toutes les cupules 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée (dilution d'1ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8). Enfin, nous avons ajouté 100 µl de la solution d'arrêt (R10) pour lire dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, la densité optique à 450/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

NB : La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.

La présence ou l'absence des anticorps anti-HCV et/ou de l'antigène de capsid du VHC est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

On calcule la moyenne des absorbances mesurées pour le contrôle positif R4.

Exemple : Contrôle positif R4

Echantillon	Densité optique
B1	1,636
C1	1,704
D1	1,650
Total	4,990

$$\text{DO R4} = \frac{\text{Densité Optique Totale}}{3} = \frac{4,990}{3} = 1,663$$

On calcule la valeur seuil (Vs).

$$\text{Vs} = \frac{\text{Moyenne DO R4}}{4}$$

Exemple : Moyenne DO R4 = 1,663

$$V_s = \frac{1,663}{4} = 0,415$$

Pour valider notre test, nous avons basé sur les critères suivants :

- Pour le contrôle négatif R3 : l'absorbance mesurée doit être inférieure à 0,6 fois la DO de la valeur seuil.
- Pour le contrôle positif R4 : la moyenne des absorbances mesurées doit être supérieure ou égale à 0,800 et inférieure ou égale à 2,400. Si l'une des valeurs individuelles du contrôle positif s'écarte de plus de 30 % de la moyenne, on refait le calcul avec les deux valeurs de contrôle positif restantes.
- Pour la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b) : la densité optique mesurée doit être supérieure à 0,500.

Le test est invalidé si le contrôle négatif R3, la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b) et/ou plus d'une valeur du contrôle positif R4 sont hors de l'intervalle des valeurs ci-dessus.

Interprétation des résultats

Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test Monolisa® HCV Ag – Ab ULTRA.

Toutefois, les résultats situés juste au dessous de la valeur seuil doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester de nouveau les échantillons correspondant en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale au seuil sont considérés comme initialement positifs et doivent être re-testés en double avant l'interprétation finale.

Après répétition de l'essai, l'échantillon est considéré positif d'après le test Monolisa® HCV Ag – Ab ULTRA si la deuxième et/ou la troisième mesure est (sont) positive (s), c'est-à-dire supérieure ou égale à la valeur seuil. L'échantillon est considéré négatif si ces deux valeurs sont trouvées inférieures à la valeur seuil.

V.2. Bilan hépatique

V.2.1. Dosage des paramètres hématologiques

Les appareils que nous avons utilisé sont :

- Le coultér (l'automate médonique CA (cell analyseur : 620) (**fig. 20**) pour la numération des plaquettes.
- L'automate STA compacte (**fig. 21**) pour le dosage de prothrombine et du facteur V.



Figure 20. Automate médonique CA 620.



Figure 21. STA (système de coagulation automatique) compacte.

V.2.1.1 Hémogramme

L'hémogramme est le principal examen en hématologie, on regroupe sous ce nom la mesure des taux d'hémoglobine et différents éléments figurés du sang, réalisée sur un échantillon de sang. Il comporte une étude quantitative des cellules : numération des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes, mesure ou calcul de l'hématocrite, dosage de l'hémoglobine, étude des constantes ou indices érythrocytaires et plaquettaires. La réalisation de l'hémogramme, qui a longtemps reposé sur un dénombrement en microscope optique après dilution manuelle, a été révolutionnée par le développement d'automates. Les automates permettent l'analyse d'un grand nombre de cellules et fournissent ainsi des résultats précis et reproductibles. Ils doivent cependant être quotidiennement vérifiés et calibrés pour éviter qu'ils ne s'écartent pas des seuils de normalité et les résultats doivent être contrôlés dans toutes les situations pouvant favoriser des artéfacts.

Numération des plaquettes

L'appareil que nous avons utilisé est le coultér (l'automate médonique CA (cell analyseur : 620). 4,5 ml de sang veineux est prélevé directement dans des tubes spéciaux contenant 0,5 ml d'EDTA (éthylène-diamine-tétra-acétate) dans une température ambiante varie de 20 à 22°C. Le premier tube est placé en contact avec l'aiguille de l'appareil qui va absorber 100 µl de sang destiné à l'analyse, le résultat s'affiche par la suite sur l'écran du coultér (**Samama et al., 1970**).

V.2.1.2. Dosage de prothrombine

Le temps de quick (TQ) ou taux de prothrombine permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation de la voie extrinsèque (facteur du complexe prothrombinique) :

- facteur II (prothrombine)
- facteur V (proaccéléline)
- facteur VII (proconvertine)
- facteur X (Stuart)

La réalisation de ce test se fait sans centrifugation du sang prélevé sur citrate de sodium à 3,8 % (1 volume pour 9 volume du sang). Le principe du temps de quick consiste à comparer, en présence de thromboplastine calcique, le temps de coagulation d'un plasma à étudier par rapport à un témoin normal et un témoin pathologique servant de référence (ces deux derniers sont préparés préalablement dans les mêmes conditions que celle du plasma à tester puis lyophilisés, auxquels on rajoute 50 µl d'eau distillée pour obtenir un plasma prêt à l'utilisation).

Au 50 µl du plasma à tester sont rajoutés 100 µl de la néoplastine calcique (thromboplastine humaine), le mélange est incubé à 37°C pendant 2mn, puis, on déclenche le chronomètre, le taux de prothrombine est exprimé en pourcentage.

La gamme d'étalonnage de prothrombine

La gamme d'étalonnage comprend une dilution avec tampon Owren koller du plasma normal au : 1/4, 1/3 et 1/2 par définition :

- 1/4 correspond à l'activité 23%.
- 1/3 correspond à l'activité 30%.
- 1/2 correspond à l'activité 45%.
- 50 µl du plasma normal non dilué (pure), correspond à l'activité 90%.

100 µl de la néoplastine calcique ont été rajoutés aux plasmas dilués et plasma pure. Après une incubation à 37°C pendant 2mn. On déclenche le chronomètre, puis on détermine le temps de coagulation de chaque dilution pour établir la courbe d'étalonnage.

Résultats de la calibration

Pourcentage d'activité (%)	Temps de coagulation (s)
23%	34,3 secondes
30%	27,9 secondes
45%	20,8 secondes
90%	14,2 secondes

V.2.1.3. Dosage du facteur V

La réalisation de ce test se fait après centrifugation du sang prélevé sur citrate de sodium à 3,8 % (1 volume pour 9 volume du sang). Le principe du test consiste à comparer le temps de coagulation d'un plasma à étudier par rapport à un témoin normal et un témoin pathologique servant de référence (ces deux derniers sont préparés préalablement dans les mêmes conditions que celle du plasma à tester puis lyophilisés, auxquels on rajoute 50 µl d'eau distillée pour obtenir un plasma prêt à l'utilisation). Au 0,1ml du plasma à tester sont rajoutés 0,1ml du plasma déficient en FV. Le mélange est incubé à 37°C pendant 2 mn et enfin, 0,2ml de néoplastine ont été rajouté afin de déclencher le chronomètre. Les résultats sont obtenus en pourcentage.

V.2.2. Dosage des paramètres biochimiques

L'appareil que nous avons utilisé est l'automate METROLAB 2300 PLUS (fig. 22).



Figure 22. Automate METROLAB 2300 PLUS.

V.2.2.1. Dosage de la bilirubine

Pour doser la bilirubine, nous avons basé sur que l'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En présence de diméthyl sulfoxyde (DMSO), la bilirubine totale se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'azobilirubine. Le dosage de la bilirubine directe se fait en l'absence de DMSO.

Les réactifs utilisés sont résumés dans le tableau suivant :

Réactif D	Acide sulfanilique.....30 mmol/l
	Acide hydrochlorique.....150 mmol/l
Réactif T	Acide sulfanilique.....30 mmol/l
	Acide hydrochlorique.....50 mmol/l
	Diméthyl sulfoxyde.....7 mmol/l
Réactif N	Nitrite de sodium.....29 mmol/l

Nous avons centrifugé du sang veineux recueilli sans anticoagulant. Pour la bilirubine totale, 1,5ml du réactif T et 50 µl du réactif N sont rajoutés au 100 µl du sérum à tester et après 5 minutes d'attente à la température ambiante, le mélange est placé dans une cuvette trajet optique 1 cm pour la mettre dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance (Abs.), dont la longueur d'onde utilisée est de 555 nm à une température de 15 à 25°C. Pour le blanc on n'utilise pas le réactif N. L'ajustement du zéro de l'instrument (spectrophotomètre) se fait par l'eau distillée.

Nous avons suivi le même protocole pour la bilirubine directe avec le changement du réactif T par le réactif D.

Le calcul du taux de la bilirubine comme suit :

Bilirubine (mg/dl) = (Abs Echant. – Abs Echant. Blanc) x facteur

Facteur théorique : Bilirubine totale : 19,1

Bilirubine directe : 14

Facteur de conversion : mg/dl x 17,1 = µmol/l

V.2.2.2. Dosage des transaminases

Les transaminases sont deux enzymes qui assurent le transfert de groupements aminés à partir de deux acides aminés (l'alanine et l'acide aspartique) pour former deux autres (les acides pyruvique et oxalo-acétique) : Il s'agit de

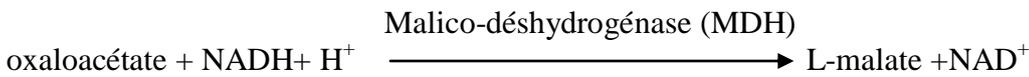
- L’alanine amino transférase (ALAT), anciennement dénommée Sérum Glutamo Pyruvique Transférase (TGP), est d’origine essentiellement hépatique accessoirement musculaire ;
- L’aspartate amino transférase (ASAT), anciennement dénommée Sérum Glutamo- Oxaloacétate Transférase (TGO), est trouvée dans le myocarde, les muscles, les reins, le cerveau mais également le foie.

Nous avons quantifié l’activité sérique des transaminases par les méthodes spectrophotométriques évaluant la vitesse d’oxydation du NADH + H⁺ et de sa disparition du milieu d’incubation.

Pour le TGO la réaction mesurée est la suivante :



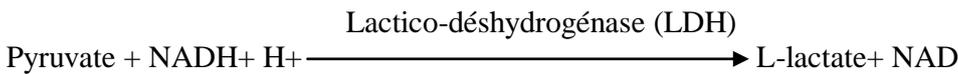
La réaction indicatrice est la suivante :



Pour le TGP la réaction mesurée est la suivante :



La réaction indicatrice est la suivante :



Nous avons utilisé les réactifs suivants :

- **Pour le TGO :**

Réactif 1	Tampon TRIS pH 7,8.....80 mmol/l
Tampon	L – Aspartate.....200 mmol/l
Réactif 2	NADH.....0,18 mmol/l
Substrat	MDH.....600 U/l
	2 oxoglutarate.....12mmol/l

- Pour le TGP :

Réactif 1	Tampon buffer pH 7,8.....100 mmol/l
Tampon	L – Alanine.....500 mmol/l
Réactif 2	NADH.....0,18 mmol/l
Substrat	LDH.....1200 U/l
	2 oxoglutarate15 mmol/l

Pour préparer la solution de travail, nous avons Dissous une tablette R2 dans 15 ml du tampon R1.

Au 100 µl du sérum à tester sont rajouté 1 ml de la solution du travail et après 1 minute d'attente à la température ambiante, le mélange est placé dans une cuvette trajet optique 1 cm pour la mettre dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance (l'absorbance initiale et les absorbances toute minute pendant 3 minutes), dont la longueur d'onde utilisée est de 340 nm à une température de 25°C. L'ajustement du zéro de l'instrument (spectrophotomètre) se fait par l'eau distillée.

Nous avons calculé le taux de TGO et TGP comme suit :

$$\text{TGP (U/l) ou TGO (U/l)} = \Delta\text{Abs./min} \times 1750$$

V.2.2.3. Phosphatase alcaline

Nous avons dosé l'activité de phosphatase alcaline selon la réaction suivante :



Et les réactifs utilisés sont :

Réactif 1	Diethanolamine buffer pH 10,4.....1 mmol/l
Tampon	Chlorure de magnésium.....0,5 mmol/l
Réactif 2	p-nitrophénylphosphate0,18 mmol/l
Substrat	

Pour préparer la solution de travail, nous avons dissous une tablette R2 dans 15 ml du tampon R1.

Au 20 µl du sérum à tester sont rajouté 1,2 ml de la solution du travail et après 1 minute d'attente à la température ambiante, le mélange est placé dans une cuvette trajet optique 1 cm pour la mettre dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance (l'absorbance initiale et les absorbances toute minute pendant 3 minutes), dont la longueur d'onde utilisée est de 405 nm à une température de 25°C. L'ajustement du zéro de l'instrument (spectrophotomètre) se fait par l'eau distillée.

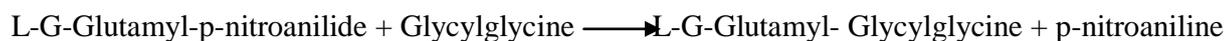
Nous avons calculé le taux de la phosphatase alcaline comme suit :

$$\text{ALP (U/l)} = \Delta\text{Abs./min} \times 3300$$

V.2.2.4. Gamma glutamyltransférase (GGT)

Notre dosage est basé sur le schéma réactionnel suit :

GGT



Et les réactifs employés sont :

Réactif 1	Tampon buffer pH 8,25.....25 mmol/l
Tampon	
Réactif 2	L-G-Glutamyl-p-nitroanilide5 mmol/l
Substrat	Glycylglycine.....75 mmol/l

Pour préparer la solution de travail, nous avons Dissous une tablette R2 dans 15 ml du tampon R1.

Au 0,2 ml du sérum à tester sont rajoutés 2 ml de la solution du travail et après 1 minute d'attente à la température ambiante, le mélange est placé dans une cuvette trajet optique 1 cm pour la mettre dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance (l'absorbance initiale et les absorbances toute minute pendant 3 minutes), dont la longueur d'onde utilisée est de 405 nm à une température de 25°C. L'ajustement du zéro de l'instrument (spectrophotomètre) se fait par l'eau distillée.

Nous avons calculé le taux de la GGT comme suit :

$$\text{GGT (U/l)} = \Delta\text{Abs./min} \times 1158$$

V.3. Examen histologique

La Ponction Biopsie Hépatique (PBH) ou biopsie du foie est actuellement l'examen de référence pour diagnostiquer la cause et préciser le traitement et le pronostic (stade de fibrose par exemple) de nombreuses maladies du foie ou de maladies générales retentissant sur le foie. Cet examen est parfois indispensable pour recevoir un traitement (cas de l'hépatite C et B notamment), il est basé sur le prélèvement d'un fragment de tissu hépatique (Poynard et al., 2002).

Pour réaliser cet examen, nous avons utilisé le matériel suivant : gants stériles, compresses stériles, seringue, aiguille spéciale pour ponction-biopsie hépatique, lame de bistouri, Sérum physiologique stérile, bétadine pour désinfection cutanée et anesthésique local type Xylocaïne à 1 %.

Avant de réaliser l'examen, le patient fait un bilan sanguin de la coagulation (taux de prothrombine, temps de saignement, groupe sanguin) et une échographie du foie. 10 jours avant l'examen, il arrête tout traitement modifiant la coagulation. Le jour de l'examen, il doit être à jeun depuis au moins six heures.

Protocole

- Le patient est allongé sur le dos ou sur le côté gauche, sur un lit d'hôpital.
- On repère l'endroit où on va effectuer la ponction en localisant avec la main la région du foie.
- La peau est nettoyée à la Bétadine.
- On réalise une Anesthésie locale pour insensibiliser la peau et le muscle sous-jacent.
- On réalise une petite incision cutanée à l'aide d'une lame de bistouri.
- Au moment où on va piquer, le patient doit expirer, bloquer sa respiration. Cela permet d'immobiliser les côtes et le diaphragme.
- La seringue est remplie de sérum physiologique stérile. La seringue gardée en légère aspiration, l'aiguille est ensuite introduite de façon progressive jusqu'au passage de la capsule de Glisson (sensation d'une légère résistance). A ce point, on injecte un peu de sérum, s'il part, on est dans le péritoine, il faut alors continuer à pousser, le vide à la main, sans aspirer et on prélève le parenchyme hépatique.
- Une fois que l'aiguille est entrée, faire une petite compression au point de pénétration plus un pansement.
- Tous les fragments biopsiques sont ensuite mis dans du formol avant d'être envoyés au laboratoire d'anatomo-pathologie.
- Le patient reste allongé pendant dix heures.



Figure 23. Ponction biopsie hépatique.

Pour étudier le tissu hépatique à partir d'un fragment biopsique, nous avons utilisé une technique qui comporte plusieurs étapes : la déshydratation, l'inclusion en paraffine, la confection de coupes et leur coloration.

Nous avons commencé la technique par l'étude macroscopique. Il s'agit de la description de la biopsie par exemple le nombre des carottes et leurs diamètres. Les prélèvements sont placés dans des cassettes en plastique (**fig. 24**) sous numéros.



Figure 24. Cassettes en plastique.

Les prélèvements vont subir un cycle de déshydratation et imprégnation en paraffine. Cette étape est automatisée, dure quelques heures, elle passe par trois étapes : déshydratation qui se fait par immersion du prélèvement dans des bains d'alcool de plus en plus purs, passage dans un solvant xylène qui est miscible avec la paraffine et imprégnation du tissu par de la paraffine.

Le prélèvement déshydraté et imprégné de paraffine est coulé dans de la paraffine liquide (chaude) rendue solide au froid. L'étape de l'inclusion est manuelle et consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe (**fig. 25**) dans un moule de paraffine (**fig.26**).



Figure 25. Inclusion en paraffine.



Figure 26. Moules de paraffine.

Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à un microtome (**fig. 27**), les coupes de 3 à 5 microns d'épaisseur sont étalées sur des lames de verre (**fig. 28**), séchées pour que le prélèvement adhère à la surface du verre. Chaque lame porte le numéro du bloc coupé correspondant au numéro de l'examen.



Figure 27. Coupe au microtome.

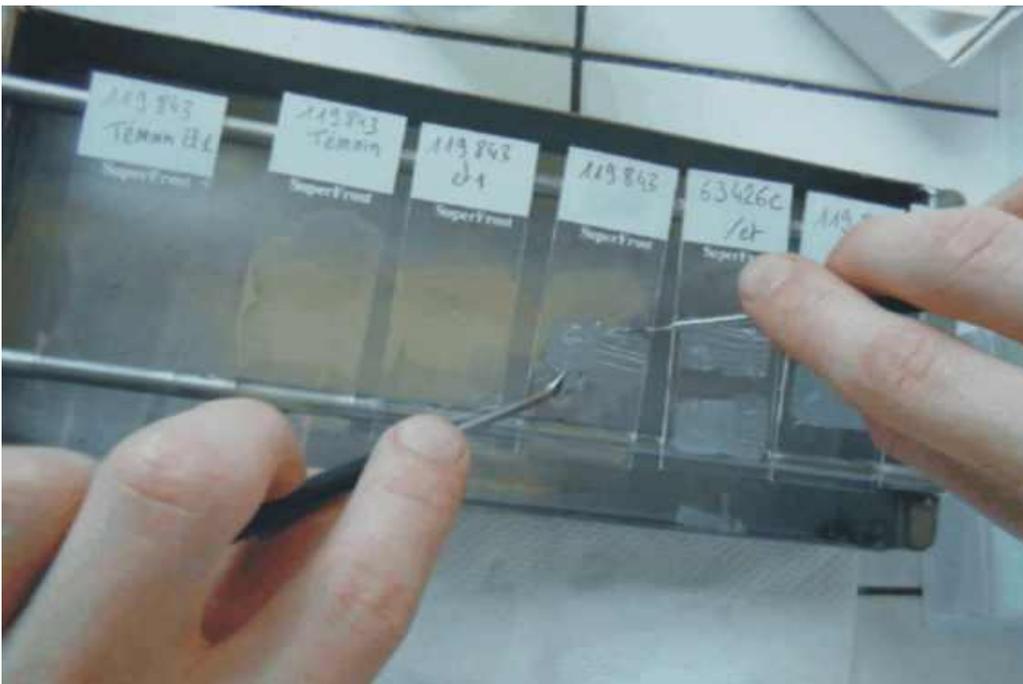


Figure 28. Étalement et collage des coupes sur la lame.

L'étape de la coloration consiste à l'utilisation de réactifs suivant :

- Xylène (Déparaffiner) 20 mn

- Alcool 100 % 10 mn
- Alcool 90 % 10 mn
- Alcool 80 % 10 mn
- Alcool 70 % 10 mn
- Rincer à l'eau courante
- Hématoxyline
- L'eau courante
- Eosine
- L'eau courante
- Alcool passage
- Alcool passage
- Alcool passage
- Alcool passage
- Xylène
- **Montage** : Le montage se fait classiquement entre lame et lamelle en utilisant un media classique (Eukitt).

On observe les lames au microscope optique : détection et interprétation des lésions pour établir un diagnostic.

V.4. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm sem. Pour comparer les moyennes des échantillons, nous avons utilisé le test "t" de student, l'effectif "N" (nombre des sujets) est <30 (les calculs ont été effectués à l'aide d'un logiciel Graph Pad Prism 5,00).

Sixième chapitre

Résultats et discussion

Après le diagnostic sérologique de 1000 cas suspects, la maladie n'a été trouvée que chez 24 patients, cela veut dire que la fréquence est estimée à 2,4 %, ces derniers ont bénéficié d'un bilan hépatique (pour tous les malades) et un examen histologique (pour les malades à transaminases élevées).

VI.1. Variation du taux des transaminases (TGO, TGP) chez les malades de l'hépatite C

Après le dosage des transaminases, 7 des 24 malades dépistés positifs ayant des transaminases normales, par contre le reste des patients (17 cas) présente un taux élevé des transaminases.

Tableau 03. Variation du taux des transaminases (TGO, TGP) chez les malades de l'hépatite C à transaminases normales.

Etat/Test biologique	Témoins	Malades à transaminases normales
Taux de TGO (UI/L)	$27 \pm 2,6$	$29 \pm 3,5$
Taux de TGP (UI/L)	$28 \pm 1,7$	$30 \pm 2,4$

Valeur normale : 5 – 40 UI/L

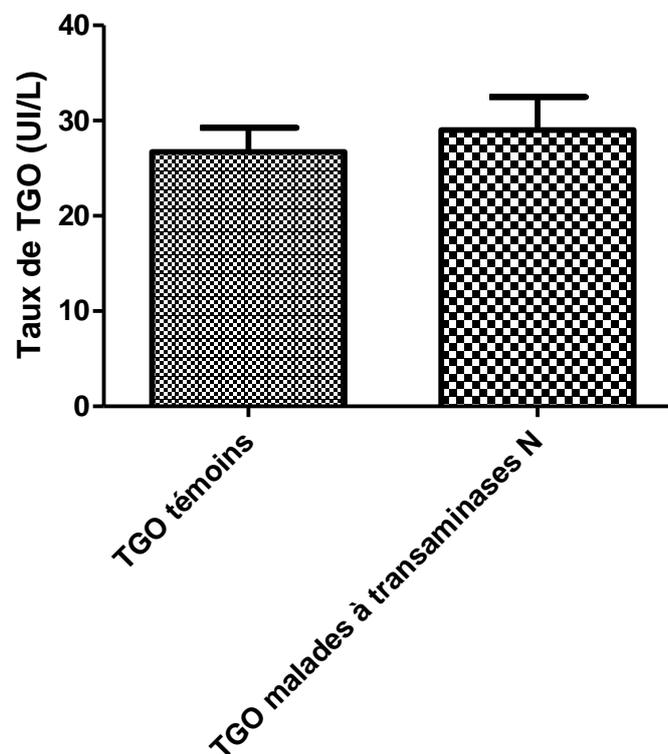


Figure 29. Variation du taux de TGO (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases normales ($p = 0,5934$).

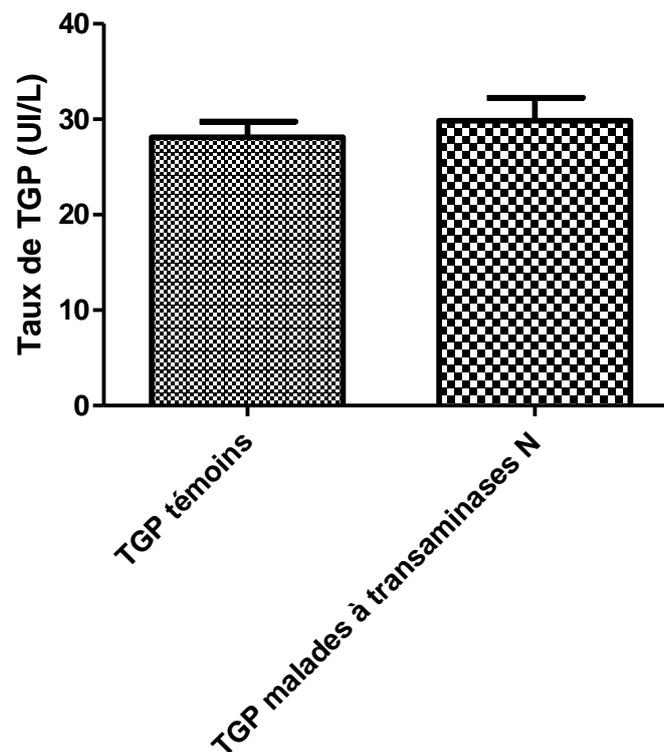


Figure 30. Variation du taux de TGP (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases normales ($p = 0,5412$).

Les résultats obtenus montrent qu'il n'existe pas de différence statistiquement significative du taux de TGO ($p = 0,5934, >0,05$) chez ces malades ($29 \pm 3,5$) par rapport aux témoins ($27 \pm 2,6$) (**Fig. 29**). Le résultat est le même pour le taux de TGP, il n'existe pas de différence statistiquement significative ($p = 0,5412, >0,05$) chez ces malades ($30 \pm 2,4$) par rapport aux témoins ($28 \pm 1,7$) (**Fig. 30**).

Selon Jian, 2005, Un certain nombre de patients, ayant une infection chronique par le VHC, ont des transaminases normales en permanence malgré la présence d'une virémie détectable (ARN viral détectable par PCR dans le sérum). Ces patients sont souvent identifiés lors d'un dépistage. La définition de ce groupe de patients doit être stricte : positivité des anticorps anti-VHC, positivité de l'ARN VHC par PCR et transaminases strictement normales. Cela nécessite au moins 3 dosages des transaminases sur une période d'au moins 6 mois. Parmi les facteurs associés à des ALAT normales, le sexe féminin est celui qui est retrouvé le plus constamment. D'autres facteurs sont inconstamment retrouvés comme l'âge jeune ou une charge virale faible. A l'opposé d'études plus anciennes, le génotype ne semble pas être un facteur associé. Enfin, peu de données physiopathologiques sont disponibles. On peut citer l'association plus fréquente avec certains groupes HLA dont HLA-DRB1*11.

Tableau 04. Variation du taux des transaminases (TGO, TGP) chez les malades de l'hépatite C à transaminases élevées.

Etat/Test biologique	Témoins	Malades à transaminases élevées
Taux de TGO (UI/L)	27 ± 2,6	82 ± 9,5
Taux de TGP (UI/L)	28 ± 1,7	87 ± 9,2 ^{***}

***p<0,0001.

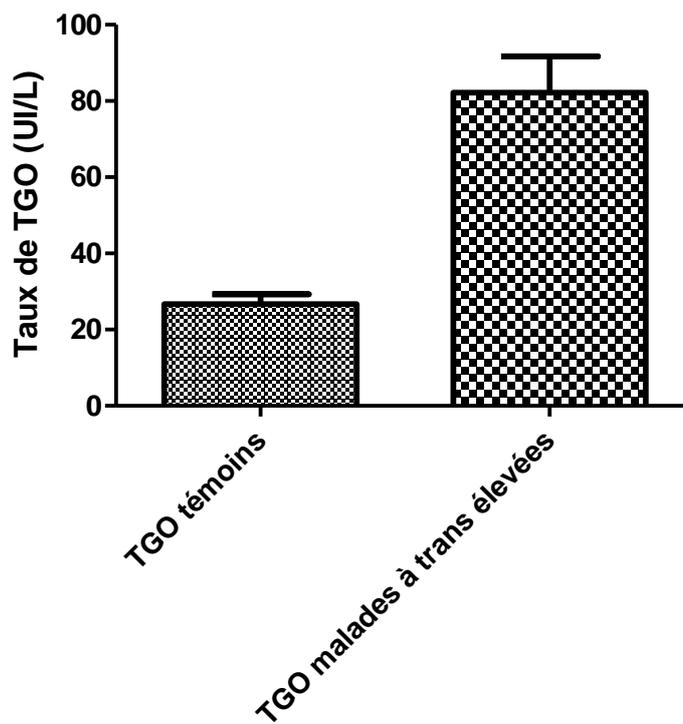


Figure 31. Variation du taux de TGO (UI/L) chez les malades de l'hépatite C à transaminases élevées (p = 0,0002).

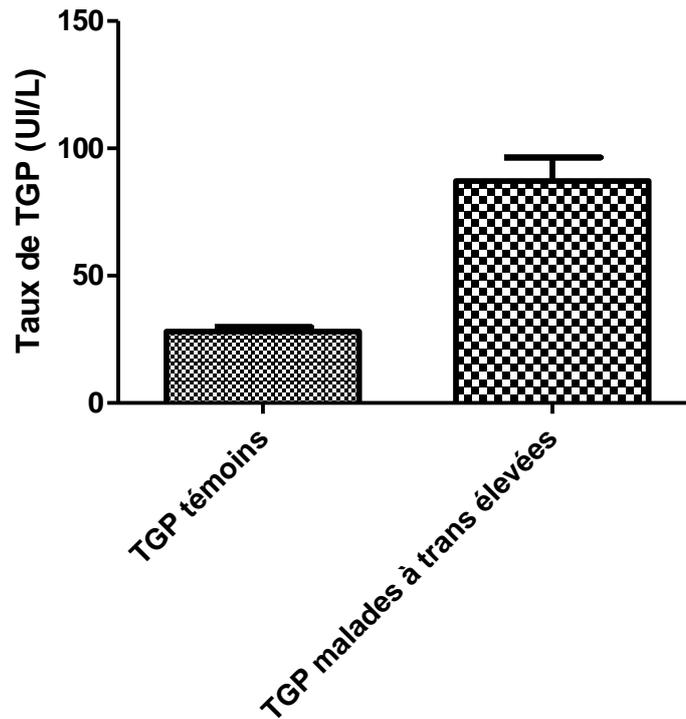


Figure 32. Variation du taux de TGP (UI/L) chez les malades de l’hépatite C à transaminases élevées (p < 0,0001).

Nos résultats révèlent, l’existence d’une différence statistiquement significative du taux de TGO (p = 0,0002, <0,05) chez nos patients (82 ± 9,5) par apport aux témoins (27 ± 2,6) (**Fig. 31**) et une différence statistiquement très hautement significative du taux de TGP (p < 0,0001) chez ces patients (87 ± 9,2) par apport aux témoins (28 ± 1,7) (**Fig. 32**).

D’après Jean-Pierre et al., 2002, des transaminases élevées sont le signe d’une cytolyse hépatique qui traduit une atteinte de la membrane hépatocytaire. Cette atteinte est une destruction de la membrane qui définit la nécrose hépatocytaire. Par conséquent, les substances normalement contenues dans l’hépatocyte vont être relarguées dans les sinusoides et leur concentration dans le sang périphérique va augmenter.

VI.2. Variation du taux des phosphatases alcalines chez les malades de l’hépatite C

Tableau 05. Variation du taux des phosphatases alcalines chez les malades de l’hépatite C

Etat/Test biologique	Témoins	Malades
Taux des PAL (UI/L)	75 ± 4,1	140 ± 12

Valeur normale : 35 – 104 UI/L

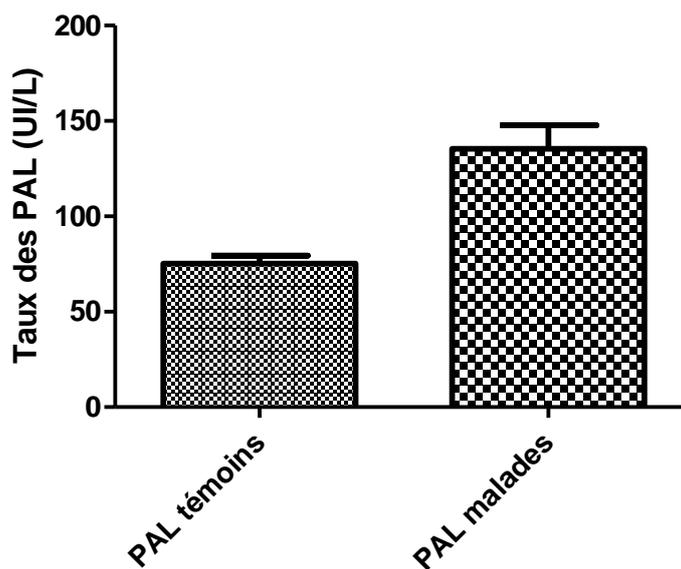


Figure 33. Variation du taux des phosphatases alcalines (UI/L) chez les malades de l'hépatite C (p = 0.0040).

On enregistre une différence statistiquement significative du taux des phosphatases alcalines (p = 0.0040, <0,05) entre les témoins (75 ± 4,1) et les malades (140 ± 12) (**Fig. 33**).

Selon Sotil et Jensen, 2004, la phosphatase alcaline est localisée dans les microvillosités des canalicules biliaires et au pôle sinusoidal des hépatocytes. Le dosage des phosphatases alcalines présente un intérêt dans les atteintes du foie et d'après Bronstein et al., 2004, L'augmentation des phosphatases alcalines lors des affections hépatobiliaires est un reflet de cholestase. La cholestase est la perturbation de l'écoulement biliaire, par altération de la formation de la bile ou par obstacle à l'écoulement à travers l'arbre biliaire. La plupart des hépatopathies provoquent de la cholestase en perturbant les mécanismes de transport intracellulaire ou en altérant les petits conduits biliaires interlobulaires. Les tests de cholestase reflètent d'une part les lésions des hépatocytes ou des cellules épithéliales biliaires induites par l'accumulation des acides biliaires (enzymes hépatiques) et d'autre part les altérations fonctionnelles de la sécrétion biliaire (bilirubine, acides biliaires).

VI.3. Variation du taux de GGT chez les malades de l'hépatite C

Tableau 06. Variation du taux de GGT chez les malades de l'hépatite C

Etat/Test biologique	Témoins	Malades
Taux de GGT (UI/L)	19 ± 1,5	56 ± 9,6

Valeur normale : 5 – 36 UI/L

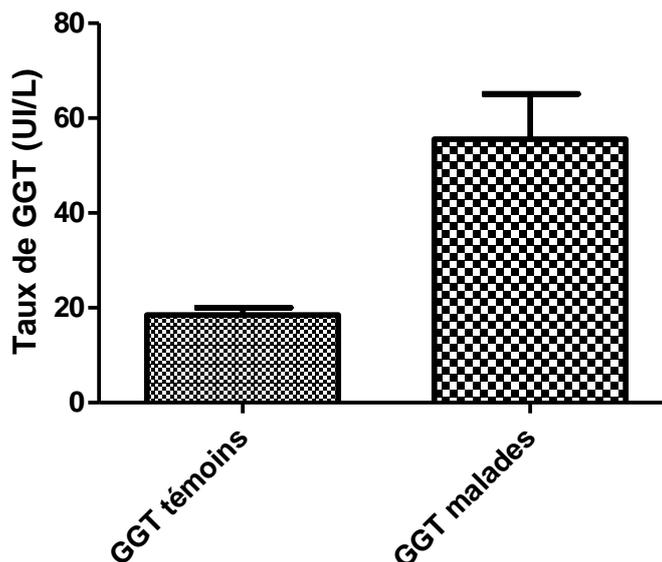


Figure 34. Variation du taux de GGT (UI/L) chez les malades de l'hépatite C ($p = 0.0190$).

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une augmentation significative ($p = 0.0190$, $<0,05$) du taux de GGT chez ces malades ($56 \pm 9,6$) par rapport aux témoins ($19 \pm 1,5$) (**Fig. 34**).

GGT est une glycoprotéine principalement trouvée dans les membranes des cellules ayant une activité importante de sécrétion et d'absorption. Le rein et le pancréas sont les deux organes les plus riches en activité GGT. La concentration hépatique en GGT est faible, localisée essentiellement dans les cellules des canaux biliaires et au niveau des deux pôles de l'hépatocyte. Cependant, du fait du poids du foie, on peut considérer que le foie contient dans l'organisme la plus forte quantité de GGT. Sous l'influence de la cholestase, l'hépatocyte fabrique en excès un certain nombre de substances dont la concentration sérique augmente: phosphatases alcalines et GGT. En cas d'élévation de la phosphatase alcaline, le dosage des γ -GGT est utile pour confirmer que cette élévation est bien d'origine hépatique. Le dosage conjoint des phosphatases alcalines et des GGT est utilisé pour rechercher une cholestase. L'élévation conjointe de ces 2 enzymes est spécifique de la cholestase (**Sotil et Jensen, 2004**).

VI.4. Variation du taux de la bilirubine chez les malades de l'hépatite C

Tableau 07. Variation du taux de la bilirubine chez les malades de l'hépatite C

Etat/Test biologique	Témoins	Malades
Taux de la bilirubine totale (mg/L)	6,3 ± 0,64	13 ± 1,6
Taux de la bilirubine directe (mg/L)	1,4 ± 0,18	4,7 ± 1,1

Valeurs normales : La bilirubine totale ≤ 10 mg/L La bilirubine directe $\leq 2,5$ mg/L

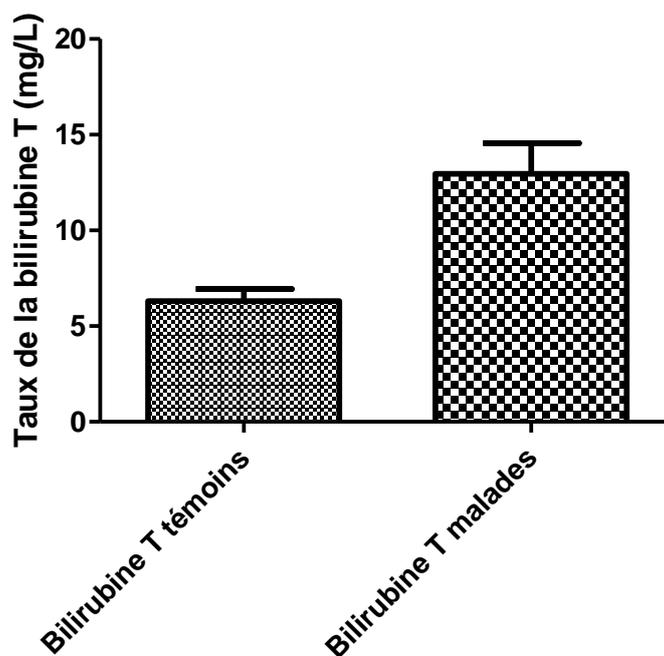


Figure 35. Variation du taux de la bilirubine totale (mg/L) chez les malades de l'hépatite C ($p = 0.0127$).

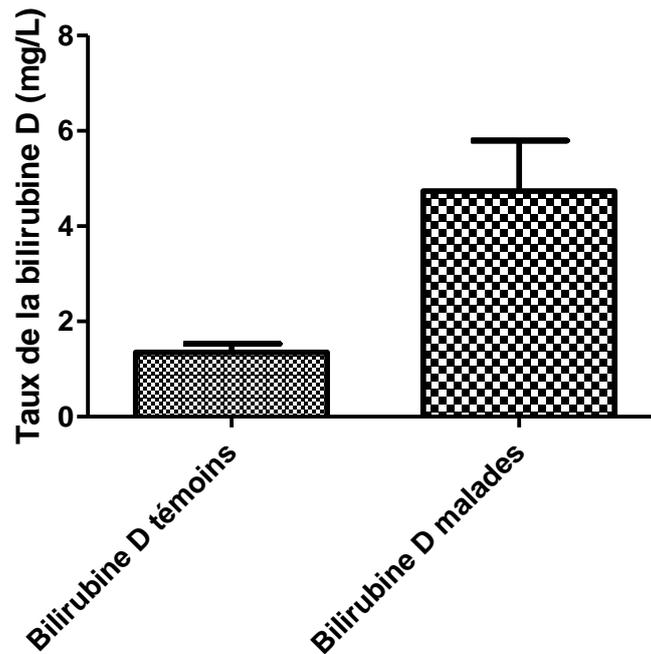


Figure 36. Variation du taux de la bilirubine directe (mg/L) chez les malades de l'hépatite C ($p = 0.0484$).

D'après l'analyse de ces résultats, on note une différence significative du taux de la bilirubine totale ($p = 0.0127$, $p < 0,05$) entre les malades ($13 \pm 1,6$) et les témoins ($6,3 \pm 0,64$) (**Fig. 35**). La même observation pour la bilirubine directe, il existe une différence significative du taux de la bilirubine directe ($p = 0.0484$, $p < 0,05$) entre les malades ($4,7 \pm 1,1$) et les témoins ($1,4 \pm 0,18$) (**Fig. 36**).

La bilirubine n'a pas une origine hépatique. Elle provient en majeure partie de la destruction dans le système réticulo-endothélial des hématies vieillies (environ 120 jours). L'hémoglobine est alors libérée et sa molécule est déstructurée en chaîne α et en chaîne β . Le fer et la globine sont libérés. La fraction hémique conduit à une bilirubine préhépatique ou bilirubine libre ou non conjuguée. Elle arrive par la veine porte au foie (**Tiribelli et Ostrow, 1989**).

Quand les fonctions hépatiques sont normales, la bilirubine est totalement transformée dans le foie en bilirubine conjuguée. Trois mécanismes interviennent : la captation hépatocytaire, la glycuconjugaison et l'excrétion biliaire.

La bilirubine conjuguée forme des pigments biliaries. Elle est excrétée dans la bile qui est stockée dans la vésicule biliaire. Déversée dans le duodénum elle subira une succession de modifications structurales: c'est le cycle entérohépatique qui conduit à la formation de bilinogènes dont la majeure

partie sera excrétée sous forme de stercobiline dans les selles et urobiline dans les urines. Les acides biliaires réabsorbés par l'intestin sont captés activement au pôle sinusoidal de l'hépatocyte (cycle entérohépatique). Ces acides biliaires captés activement s'ajoutent à ceux qui sont synthétisés de novo par l'hépatocyte. L'eau est attirée vers le canalicule par le pouvoir osmotique des acides biliaires. D'autres transporteurs de constituants biliaires (dont celui de la bilirubine conjuguée) sont également localisés à la membrane du canalicule biliaire (**fig. 39**) (**Ferenci et al., 2002**).

20% des pigments biliaires seront déconjugués en bilirubine libre et réabsorbés par le foie 75% seront transformés en bilinogènes incolores: urobilinogène, stercobilinogène qui après oxydation donneront des produits d'élimination fécale : urobiline et stercobiline. 5% des bilinogènes échappent à l'oxydation; ils seront réabsorbés et en partie éliminés par le rein ce qui conduit à une trace normale d'urobiline urinaire.

La bilirubine a deux formes circulantes : la bilirubine non conjuguée ou bilirubine libre (indirecte) et la bilirubine conjuguée (directe). En fait, la bilirubine non conjuguée est liée à l'albumine: une mole d'albumine transporte 2 à 5 moles de bilirubine. C'est la forme pré-hépatique. Chez le sujet normal, c'est la seule forme circulante (présence normale dans le plasma). C'est une molécule insoluble dans l'eau, soluble dans les solvants organiques et les lipides. La bilirubine conjuguée est la forme post-hépatique. Normalement absente du plasma ou présente à l'état de traces. Elle est soluble dans l'eau et insoluble dans les lipides. Dans certains états pathologiques elle s'accumule dans le sang (**Tiribelli et Ostrow, 1989**).

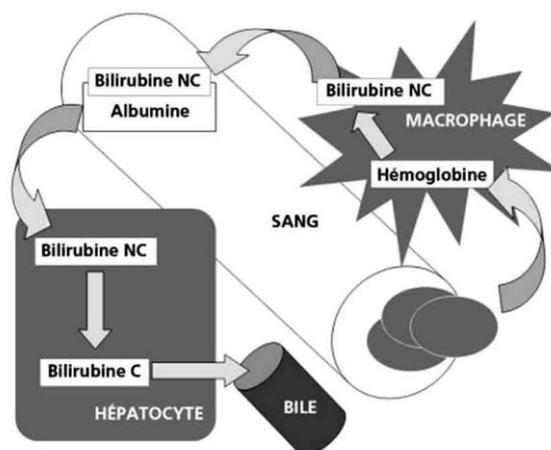


Figure 37. Représentation schématique des premières étapes du métabolisme de la bilirubine (d'après Ferenci et al., 2002) .

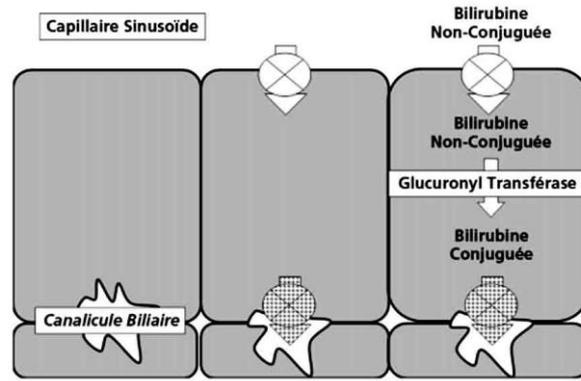


Figure 38. Représentation schématique des étapes hépatocytaires du métabolisme de la bilirubine (d’après Ferenci et al., 2002).

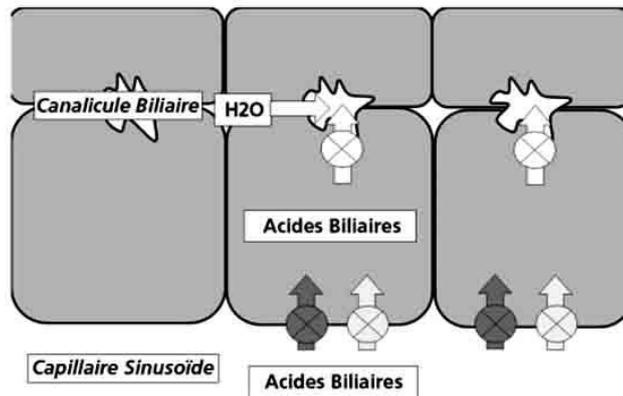


Figure 39. Représentation schématique de la génération du flux biliaire (cholérèse) par la sélection active des acides biliaires au pôle canaliculaire de l’hépatocyte (d’après Ferenci et al., 2002).

D’après Jean-Pierre et al., 2002, en cas de l’hépatite C, la bilirubine conjuguée que l’on appelle également bilirubine directe est augmentée en présence d’ictère hépatocellulaire, c’est le cas pour les hépatites virales, il s’agit aussi d’une élévation du taux de bilirubine portant à la fois sur la bilirubine conjuguée et non conjuguée (hyperbilirubinémie dite « mixte »). Les mécanismes qui conduisent à l’élévation du taux sanguin de bilirubine sont multiples : défaut de captation et de conjugaison de la bilirubine (amenant à une élévation de la bilirubine non conjuguée), défaut d’excrétion biliaire amenant à une élévation de la bilirubine conjuguée.

VI.5. Variation du taux de plaquettes chez les malades de l’hépatite C

Tableau 08. Variation du taux de plaquettes chez les malades de l’hépatite C

Etat/Test biologique	Témoins	Malades
Taux de plaquettes ($10^3/mm^3$)	220 ± 15	140 ± 14
Valeur normale : $150 - 500 \times 10^3/mm^3$		

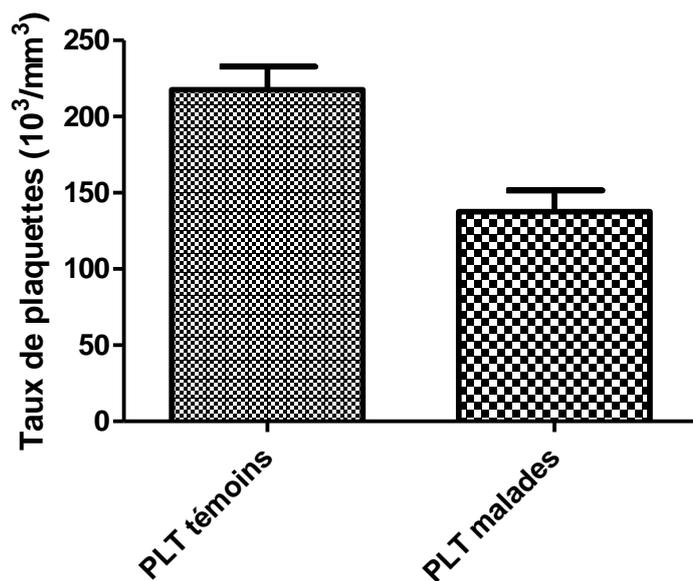


Figure 40. Variation du taux de plaquettes ($10^3/\text{mm}^3$) chez les malades de l'hépatite C ($p = 0.0020$).

Nos résultats montrent qu'il existe une diminution significative du taux de plaquettes ($p = 0.0020$, $<0,05$) chez ces malades (140 ± 14) par rapport aux témoins (220 ± 15) (**Fig. 40**).

Composantes du sang, les plaquettes ne sont pas à proprement parler des cellules mais des petits sacs de dimensions plus importante que les cellules habituelles, contenant des substances chimiques actives permettant le processus de la coagulation, et plus précisément de l'hémostase primaire (formation du caillot sanguin) (**Medaille, 1999**).

Rappelons que les plaquettes produites au sein de la moelle osseuse sont libérées dans les sinusoides afin de rejoindre le courant circulatoire ; 60 à 70 % d'entre elles restent dans la circulation sanguine, les autres étant stockées notamment dans les vaisseaux de la rate (**Medaille, 1999**).

Les plaquettes sénescents quittent la circulation pour être détruites par le système des phagocytes mononucléés, pour 50% dans la rate (principalement dans les travées de la pulpe rouge), 33% dans le foie et pour le reste dans les autres tissus (**Sampol et al., 1995**).

La raison exacte de la sortie de la circulation par les plaquettes n'est pas claire. Il existe deux théories. La première théorie consiste à dire qu'un nombre constant de plaquettes est retiré de la circulation. La seconde théorie consiste à croire que la survie dépend de l'âge des plaquettes, et que ce sont les plaquettes les plus vieilles qui sont extraites en premier (**Sampol et al., 1995**).

Notons que la rate joue un rôle cardinal dans la physiologie des plaquettes puisque c'est le principal organe de stockage des plaquettes mais également le principal organe où se déroule leur inactivation. De plus, la rate est un site de production d'anticorps antiplaquettes, ce qui favorise une destruction locale accrue (**Sampol et al., 1995**).

Un taux abaissé de plaquettes est une condition qui s'appelle thrombopénie. Cette condition est dangereuse car elle présente des risques de saignement interne et externe. Une maladie du foie avancée peut causer la thrombopénie (**Godeau et Bierling, 2004**).

Les thrombopénies infectieuses peuvent se développer selon divers mécanismes immuns. Certaines maladies infectieuses peuvent initier la destruction immunologique des plaquettes. En cas de dérèglement du système immunitaire, des auto-anticorps sont synthétisés de façon excessive ; la destruction plaquettaire est alors accrue et la synthèse plaquettaire médullaire ne peut plus compenser la destruction. On est alors confrontée à une thrombopénie. Il semble que chez l'homme la synthèse d'auto-anticorps anti-plaquettes soit liée à une carence et au dysfonctionnement des lymphocytes suppresseurs dont le rôle est de contrôler les lymphocytes B potentiellement auto-réactifs (**Valat et al., 1998**).

La destruction immune périphérique des plaquettes se produit à la suite de la rencontre d'antigènes fixés à leur surface ou constitutifs de leur membrane et d'anticorps dont ils sont la cible. La rencontre se fait sur le lieu de vie principal des plaquettes, le courant circulatoire ou au sein des vaisseaux des organes de stockage (principalement la rate). La fixation des anticorps aux antigènes produit l'élimination des plaquettes de la circulation sanguine vers des organes lymphopoiétiques (notamment la rate) où elles sont détruites par les macrophages (**Valat et al., 1998**).

Toute maladie caractérisée par une splénomégalie ou une hépatomégalie peut être associée à une thrombopénie concomitante. L'hypersplénisme est la cause la plus fréquente de séquestration excessive de plaquettes. La thrombopénie résulte également d'une production diminuée de TPO (thrombopoïétine) par le foie (**Mackin, 1995**).

VI.6. Variation du taux de prothrombine et du facteur V chez les malades de l'hépatite C

Tableau 09. Variation du taux de prothrombine et du facteur V chez les malades de l'hépatite C

Etat/Test biologique	Témoins	Malades
Taux de prothrombine (%)	95 ± 1,8	68 ± 2,6***
Taux du FV (%)	89 ± 4,6	55 ± 2,7***

Valeurs normales :

TP : 70 – 100 %

FV : 70 – 120 %

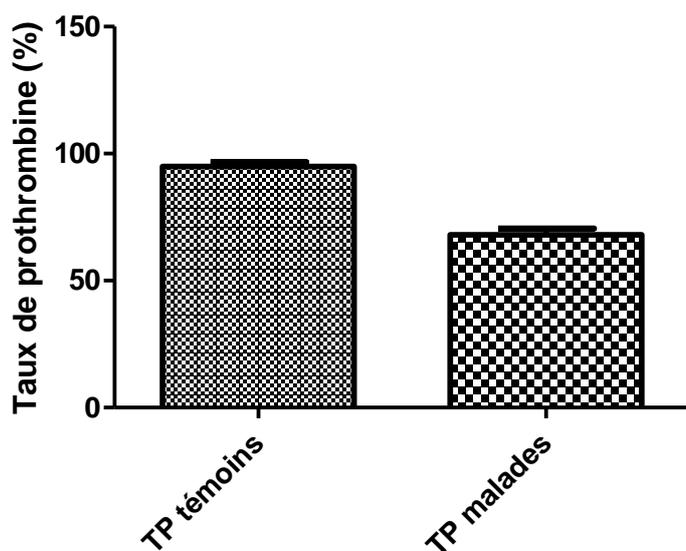


Figure 41. Variation du taux de prothrombine (%) chez les malades de l'hépatite C ($p < 0.0001$).

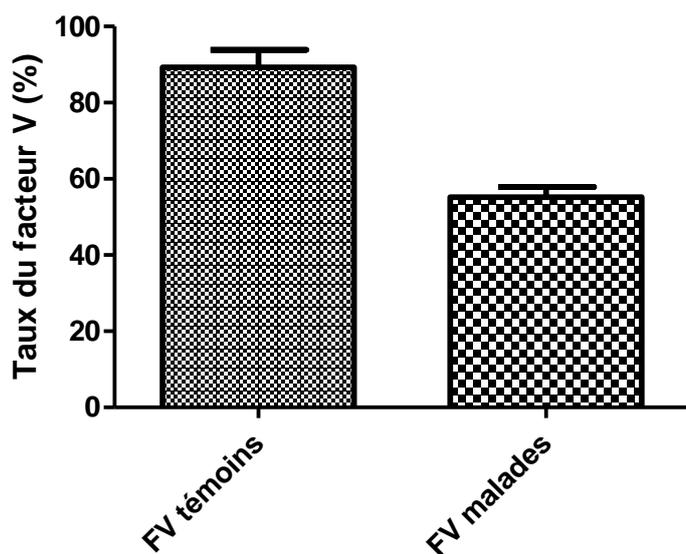


Figure 42. Variation du taux du facteur V (%) chez les malades de l'hépatite C ($p < 0.0001$).

Les résultats montrent l'existence d'une diminution très hautement significatif du taux de prothrombine ($p < 0.0001$) chez nos patients ($68 \pm 2,6$) par apport aux témoins ($95 \pm 1,8$) (Fig. 41).

Pour le facteur V, on enregistre une diminution très hautement significative ($p < 0.0001$) chez ces malades ($55 \pm 2,7$) par rapport aux témoins ($89 \pm 4,6$) (**Fig. 42**).

La coagulation du sang met en jeu de nombreux facteurs agissant en cascade les uns sur les autres et qui conduisent à la formation du caillot. Parmi les facteurs de coagulation, le fibrinogène (facteur I), les facteurs II, V, VII, IX et X sont synthétisés par le foie. La vitamine K est nécessaire à cette synthèse, sauf pour le facteur V. Le temps de Quick explore les facteurs à synthèse hépatique. En cas de déficit de synthèse de l'un de ces facteurs, la coagulation se fait mal et le temps de Quick s'allonge. Le temps de Quick est exprimé en secondes. Il peut aussi être exprimé sous la forme d'un rapport entre temps de Quick d'un témoin sain / temps de Quick du malade : c'est le taux de prothrombine (TP). Si le temps de Quick du malade est normal, le TP est voisin de 100%. Si le temps de Quick du malade est allongé, le TP diminue : il est considéré comme pathologique lorsqu'il est inférieur à 70% (**Michel, 2007**).

La cholestase provoque une carence en vitamine K car les sels biliaires sont nécessaires à l'absorption des graisses et la vitamine K est une vitamine liposoluble. Ainsi, lorsque les réserves en vitamine K sont épuisées, il y a une diminution de la synthèse des facteurs hépatiques (qui épargne le facteur V) et donc une diminution du TP. L'administration sous-cutanée de vitamine K corrige le défaut de coagulation et donc normalise le TP en 48 heures. Le dosage séparé du facteur V (normal lorsque la cause de la chute du TP est une carence en vitamine K) peut être utile au diagnostic (**Kullak-Ublick et Meier, 2000**).

La demi-vie des facteurs de coagulation hépatique est brève (quelques heures à 4 jours). Ainsi, la baisse de leur concentration sérique est un marqueur précoce d'insuffisance hépatocellulaire et le meilleur moyen d'en suivre l'évolution à court terme. Elle se traduit par un allongement du temps de Quick et donc une diminution du TP. Le facteur V est abaissé comme les autres facteurs. L'injection de vitamine K n'a aucun effet (**Michel, 2007**).

VI.7. Résultats histologiques de la ponction biopsie hépatique

Tableau 10. Résultats de la ponction biopsie hépatique.

Score Métavir	Effectif
A1F3	4
A2F1	4
A2F2	4
A2F3	2
A3F4	3
Total	17

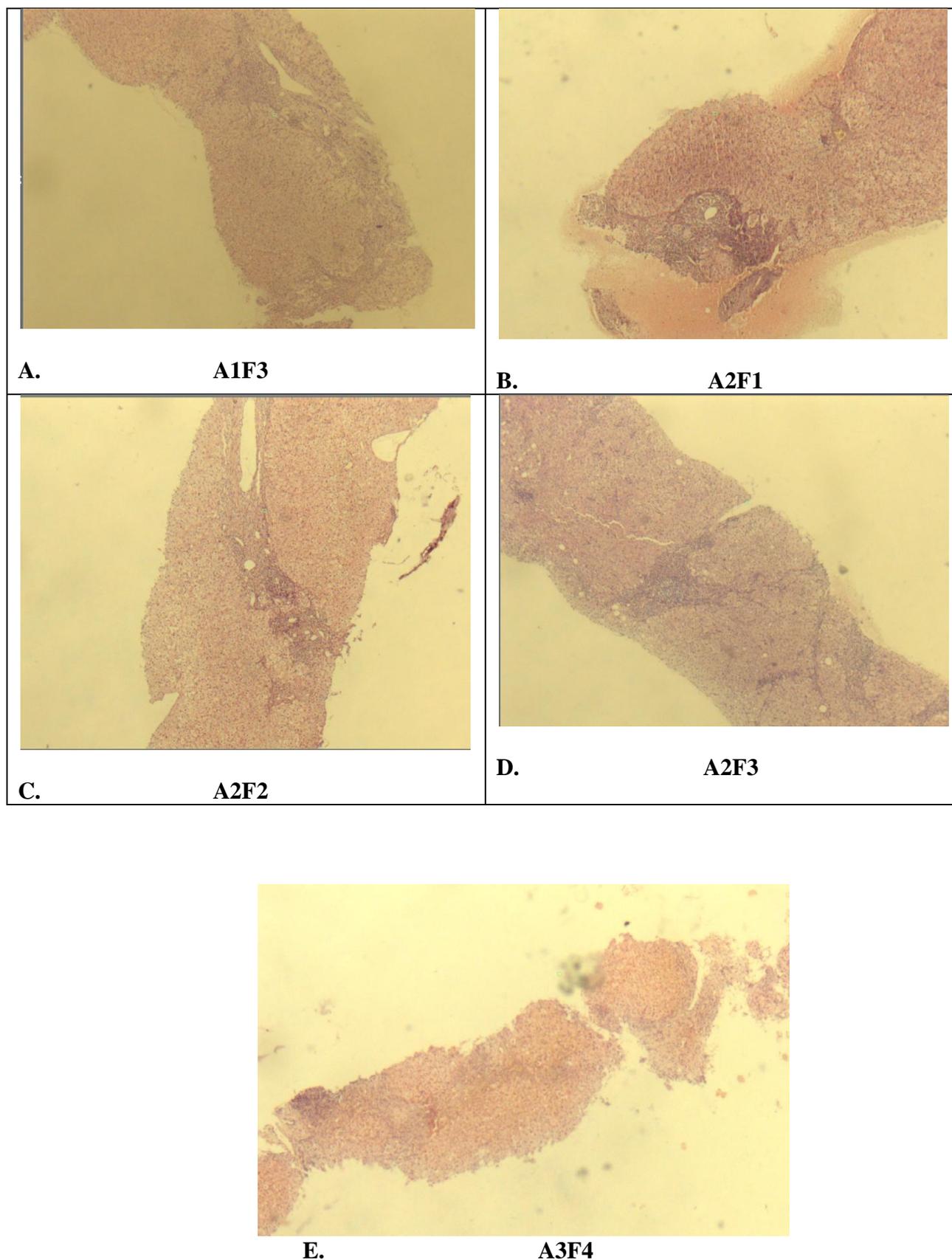


Figure 43. Résultats de la ponction biopsie hépatique selon le score Métavir : A. A1F3, B. A2F1, C. A2F2, D. A2F3, E. A3F4.

Sept des 24 malades dépistés positifs ayant des transaminases normales (pas de cytolyse) n'ont pas eu de biopsie hépatique, par contre la PBH a été réalisé chez le reste des malades (17 cas) et qui présentent un taux élevé des transaminases. D'après Dubois et al., 2001, actuellement la réalisation de la ponction biopsie hépatique est discutée chez les malades VHC positifs ayant des transaminases normales lors du suivi médical.

La ponction-biopsie hépatique au cours de l'infection par le virus de l'hépatite C a un rôle diagnostique et pronostique. Elle permet de porter les diagnostics d'hépatite chronique, de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. L'association de nodules lymphoïdes portaux, de lésions inflammatoires des canaux biliaires interlobulaires et d'une stéatose suggère l'origine virale C d'une hépatite chronique. Elle permet également d'établir un inventaire lésionnel précis en quantifiant, par les scores de Knodell et METAVIR, les lésions nécro-inflammatoires et la fibrose qui conditionnent en grande partie le traitement antiviral, et de rechercher d'éventuelles maladies associées. Elle permet aussi l'évaluation de l'efficacité des traitements antiviraux (Desmet et al., 1994).

Nos résultats histologiques sont expliqués dans le tableau 11 et les figures 44, 45, 46 et 47.

Tableau 11. Classification histologique des lésions d'hépatite chronique C (Système Métavir) (d'après Paul et Dominique, 2003).

Système Métavir.			
Grade (A)	Nécrose et inflammation périportale (NP)	Nécrose et inflammation lobulaire (NL)	Score d'activité (combinaison de NP et NL)
	Absente NP0	Absente NL0	A0= NP0 et NL0
	Discrète NP1	Minime ou modérée NL1	A1= NP0 ou 1 et NL0 ou 1
	Modérée NP2	Marquée NL2	A2= NP1 et NL2
	Sévère NP3		ou seulement NP3
			A3 = NP2 et NL2
			ou seulement NP3
Stade (F)	Fibrose		
	Absente		F0
	Élargissement portal sans septa		F1
	Avec rares septa		F2
	Nombreux septa sans cirrhose		F3
	Cirrhose		F4

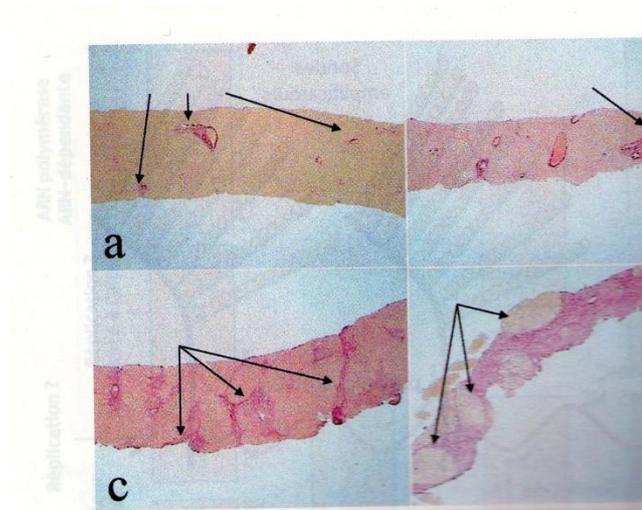


Figure 44. Fibrose hépatique évaluée sur la coloration de picrosirius mettant en évidence la fibrose collagène en rouge (d'après Poynard et al., 1997). a : fibrose portale discrète : F1. b : fibrose portale avec pont fibreux : F2. La flèche désigne un pont fibreux porto-porte. c : fibrose portale avec multiples ponts fibreux (flèches) : F3. d : cirrhose constituée : F4. Les flèches désignent les nodules cirrhotiques.

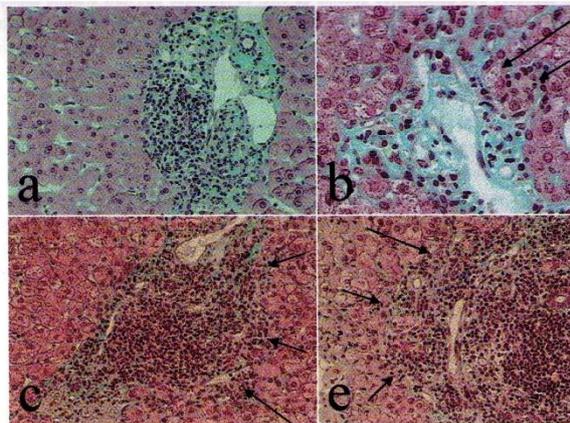


Figure 45. Nécrose périportale (NP) observée sur le trichrome de Masson (d'après Poynard et al., 1997). **a** : absence d'infiltration de la lame bordante par les lymphocytes : NP0. **b** : infiltration discrète de la lame bordante par les lymphocytes (flèches) : NP1. **c** : infiltration modérée de la lame bordante par les lymphocytes : NP2. **d** : infiltration de toute la circonférence de la lame bordante par les lymphocytes : NP3.

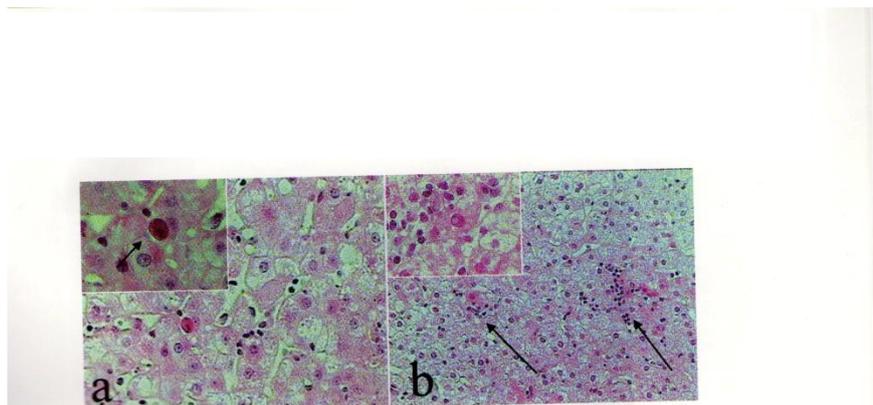


Figure 46. Nécrose et inflammation lobulaire (NL) observées sur l'hématoxyline éosine et safran (HES) (d'après Poynard et al., 1997). **a** : nécrose et inflammation lobulaire discrète à modérée : NL1. un corps de Councilman ou corps apoptotique (flèche) associé à quelques lymphocytes est observé par lobule. **b** : nécrose et inflammation lobulaire marquée : NL2. Plusieurs amas nécrotico-inflammatoires sont observés par lobule (flèches).

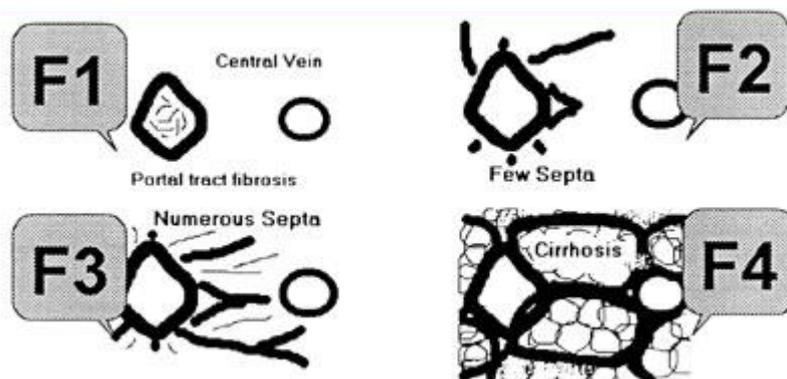


Figure 47. Score de fibrose METAVIR (d'après Poynard et al., 1997).

F1 = fibrose portale. F2 = quelques septa. F3 = nombreux septa. F4 = cirrhose.

Il apparaît clairement aujourd'hui que la réponse immune intra-hépatique joue un rôle primordial dans le contrôle (ou l'absence de contrôle) de l'infection et la pathogenèse des lésions hépatiques (Valiante et al., 2000).

L'architecture hépatique favorise le contact entre hépatocytes et lymphocytes circulants, du fait de la fenestration de l'endothélium bordant les sinusoides hépatiques. Le foie contient un pool de lymphocytes résidents, dont le nombre pourrait être de l'ordre de 10^9 , soit 1 à 4 % du pool total de l'organisme. Les lymphocytes intra-hépatiques comprennent des cellules NK et des cellules T exprimant le récepteur cellulaire (« T-cell receptor » ou TCR) $\gamma\delta$, qui représentent environ 15 % des lymphocytes résidents (Bertolino et al., 2000). La majorité des lymphocytes intra-hépatiques expriment le récepteur TCR $\alpha\beta$. Environ la moitié d'entre eux sont des lymphocytes T conventionnels, exprimant fortement la molécule CD3 et co-exprimant soit le récepteur CD4, soit le récepteur CD8. Ces cellules proviennent des organes lymphoïdes périphériques. L'autre moitié correspond à des cellules plus inhabituelles, exprimant faiblement la molécule CD3, pouvant être CD4-négatifs/CD8-négatifs, ou co-exprimer les marqueurs CD4 ou CD8 α/α (Watanabe et al., 1995). Ces cellules pourraient correspondre aux lymphocytes CD56 et semblent pouvoir produire de grandes quantités de cytokines lorsqu'elles sont activées. Leur origine n'est pas connue avec certitude (Doherty et al., 1999).

Chez l'individu normal non infecté, la fonction des lymphocytes intra-hépatiques pourrait être de maintenir un microenvironnement favorisant homéostasie et tolérance en l'absence de pathogènes. La production d'antigènes reconnus comme étrangers au cours d'une infection, par exemple virale, pourrait activer ces lymphocytes et induire la synthèse de cytokines en grandes quantités, aboutissant finalement à transformer l'environnement « tolérogène » en un environnement « immunogène » (O'Farrelly et Crispe, 1999).

Le foie étant continuellement en contact avec des pathogènes extérieurs, en particulier d'origine digestive, les lymphocytes intra-hépatiques pourraient également jouer un rôle de barrière de défense permanente contre l'infection (**Bertolino et al., 2000**).

L'hépatite chronique C est caractérisée sur le plan histologique par la présence d'infiltrats lymphoïdes dans les espaces portes, souvent sous la forme d'agrégats ou de follicules lymphoïdes (**Bach et al., 1992 ; Scheuer et al., 1992**). Ceux-ci sont souvent situés à proximité des canaux biliaires, qui peuvent être lésés. Les lésions hépatocytaires sont typiquement de type « piecemeal necrosis » et s'accompagnent d'une inflammation lobulaire d'intensité variable. Une nécrose en pont peut être observée, mais la nécrose confluyente est rare. Une stéatose macrovésiculaire est fréquemment observée et le degré de la fibrose est un signe de gravité de la maladie (**Dienes et al., 1999**).

Le VHC semble peu cytopathique, au moins chez les sujets immunocompétents et à des niveaux de répllication habituels. Des altérations morphologiques de l'architecture cellulaire, témoins d'une atteinte cytopathique, sont en effet observées dans un très faible nombre de cellules hépatiques (**Dienes et al., 1999 ; Bamber et al., 1981**). La sévérité de l'atteinte hépatique n'est pas liée au niveau de la charge virale (**Duvoux et al., 1999**) et l'hyperexpression de protéines virales structurales par des souris transgéniques n'induit pas de lésions hépatocytaires. Dans ces conditions, le rôle du virus lui-même dans la constitution des lésions hépatiques et leur évolution semble modeste s'il existe (**Kawamura et al., 1997**).

En l'absence d'action cytopathique du VHC, les réponses immunes, en particulier les réponses cellulaires, jouent un rôle de premier plan dans l'apparition et l'évolution des lésions hépatiques de l'hépatite chronique C. Au cours de l'infection chronique, des cellules T CD4-positives, principalement de type Th1, et des CTL spécifiques du VHC s'accumulent au niveau du foie infecté (**Bertoletti et al., 1997 ; Minutello et al., 1993**). Les hépatocytes infectés expriment à leur surface des antigènes viraux. Ils constituent ainsi une cible pour l'effet cytotoxique direct des CTL spécifiques, médié par le système granzyme/perforine. Cet effet est toutefois insuffisant, car le rapport CTL spécifiques/hépatocytes infectés est de l'ordre de 1/1 000. La lyse hépatocyttaire est en grande partie liée à l'action de cytokines produites à la fois par les CTL et par les cellules T CD4-positives de type Th1, en particulier les grandes quantités de TNF- α et d'interféron- γ produites par ces dernières (**Kozziel, 1999**). L'action cytotoxique directe des lymphocytes T, combinée à l'action des cytokines, en particulier du TNF- α , conduisent à la mort cellulaire par apoptose (**Ando et al., 1997**). L'action loco-régionale des cytokines explique que l'atteinte concerne non seulement les hépatocytes infectés, mais aussi les hépatocytes non infectés situés à proximité de ceux-ci. Ce mécanisme permet de prévenir, dans une certaine mesure, la diffusion du virus à l'intérieur du foie, mais il contribue à l'extension et à la progression des lésions hépatocytaires. L'évolution ultérieure de la maladie vers l'accumulation de la fibrose et, à terme, la constitution d'une cirrhose semble sous la dépendance de nombreux facteurs exogènes (**Ando et al., 1997**).

Des facteurs exogènes jouent également un rôle important. C'est le cas de la prise de boissons alcoolisées, qui apparaît comme un des facteurs principaux de la progression de la fibrose et de l'évolution cirrhogène au cours de l'hépatite chronique C (**Roudot-Thoraval et al.,1997**). Une co-infection par le virus de l'immuno-déficience humaine et/ou par le virus de l'hépatite B, une immunosuppression associée, quelle qu'en soit la cause, sont également des facteurs d'évolution péjorative (**Cropley et Main, 2000**).

La nécrose est une mort cellulaire que l'on peut qualifier d'accidentelle ou de pathologique, car elle est toujours secondaire à une agression habituellement sévère et brutale. Elle est provoquée par des causes toxiques, physiques ou chimiques, des agents infectieux ou par des situations physiologiques extrêmes, comme l'anoxie, qui mettent en échec les mécanismes de défense et d'adaptation de la cellule (**Searle et al., 1982**). La nécrose évolue en plusieurs phases, bien reconnaissables par l'analyse morphologique (**fig. 48**). La phase initiale est caractérisée par l'association d'altérations cytoplasmiques et nucléaires. Les altérations cytoplasmiques sont souvent les plus marquées. Elles se traduisent par une dilatation et un oedème des organites intracellulaires et, en particulier, du réticulum endoplasmique et des mitochondries (**fig. 49**). Dans le noyau, la chromatine se disperse et devient pycnotique. Enfin, la membrane plasmique se déforme pour donner naissance à des bulles cytoplasmiques de taille progressivement croissante qui fusionnent les unes avec les autres. Les altérations de cette phase initiale sont encore réversibles. Par contre, celles de la phase suivante, qui correspond à la mort cellulaire proprement dite, sont irréversibles. Elles débutent par l'augmentation rapide du volume cellulaire et la rupture des bulles cytoplasmiques. Il en résulte une perte de l'intégrité membranaire, qui se manifeste notamment par la disparition des gradients ioniques transmembranaires et la fuite des enzymes cytosoliques. Certaines de ces enzymes, comme les transaminases, sont couramment utilisées en pratique clinique comme indicateurs de la nécrose cellulaire. Le processus de nécrose cellulaire induit une réaction inflammatoire locale, qui permet la dégradation et l'élimination des cellules nécrosées. L'induction de cette réaction inflammatoire contribue habituellement à aggraver les dégâts tissulaires déclenchés par l'agression initiale (**Rosser et Gores, 1995**).

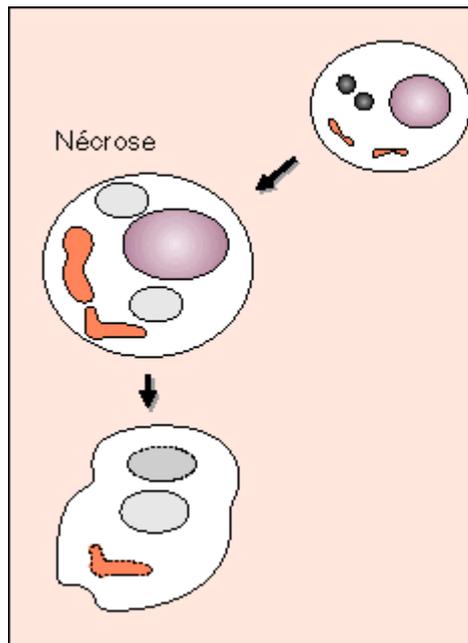


Figure 48. La séquence des altérations morphologiques caractéristiques de la nécrose (d'après Rosser et Gores, 1995). La nécrose est caractérisée par une augmentation du volume cellulaire, une dilatation du réticulum endoplasmique (en rouge) et un oedème des mitochondries (en brun). Elle aboutit à l'éclatement de la cellule et de ses organites.

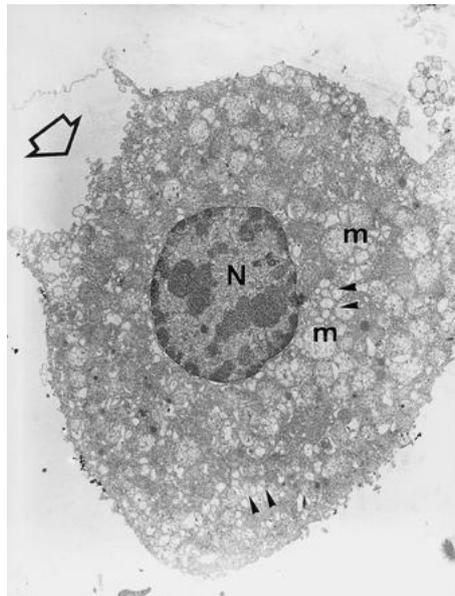


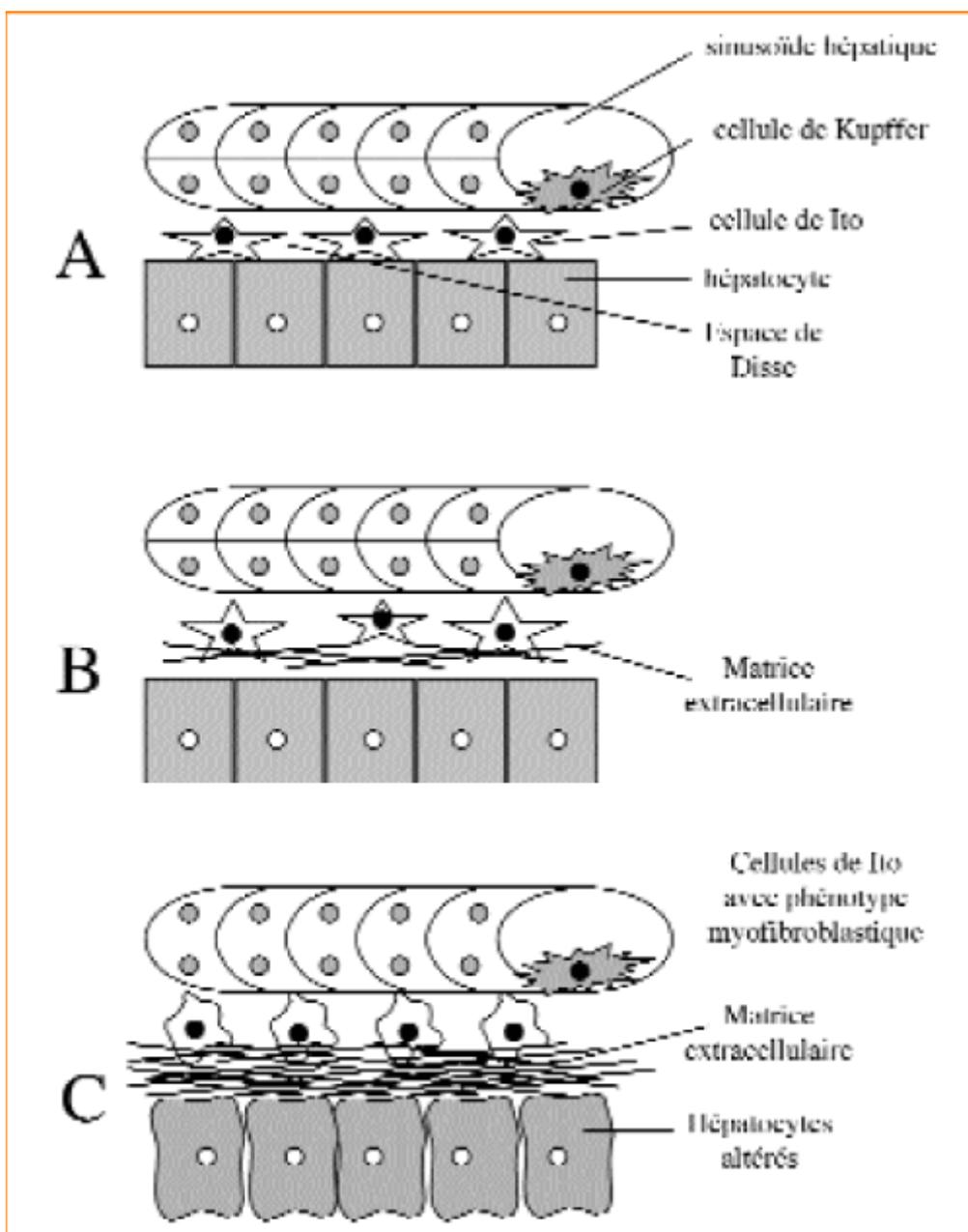
Figure 49. Aspect ultrastructural d'un hépatocyte en voie de nécrose (d'après Rosser et Gores, 1995). Noter la dispersion de la chromatine nucléaire (N), la dilatation du réticulum endoplasmique (têtes de flèches), l'oedème des mitochondries (m), la rupture de la membrane plasmique (flèche).

La fibrose hépatique est la principale complication de l'hépatite chronique C. Son terme évolutif, la cirrhose, est la responsable de la morbidité et de la mortalité de l'hépatite C (**Khan et al., 2000**). Des progrès importants ont été accomplis dans la compréhension des mécanismes responsables de la fibrose hépatique grâce, en particulier, aux modèles animaux de fibrose et aux cultures des cellules étoilées du foie (CEF). Les mécanismes impliqués dans le développement de la fibrose au cours de l'hépatite chronique C sont ceux associés à une réaction inflammatoire prolongée liée à la persistance du VHC dans le foie (**Gressner, 1992**).

Le foie réagit à l'agression par le virus de l'hépatite C (VHC) par une réaction inflammatoire dont l'un des composants est la fibrogenèse. La fibrogenèse est un processus dynamique caractérisé par la synthèse de molécules constitutives de la matrice extracellulaire (MEC), ensemble complexe de molécules protéiques (collagène, élastine), glycoprotéiques (fibronectine, laminine...) et de protéoglycanes organisées en réseaux tridimensionnels interconnectés (**Schuppan, 1990**). Il s'agit d'un mécanisme non spécifique d'organe qui se pérennise tant que l'agent agresseur reste présent dans le foie et qui vise à limiter l'extension de la réaction inflammatoire. Il s'agit donc au début d'un mécanisme physiologique bénéfique pour l'organisme et qui fait partie intégrante du mécanisme de cicatrisation. La fibrose est un mécanisme pathologique consécutif à une fibrogenèse prolongée liée à la persistance du VHC dans le foie, elle est caractérisée par le dépôt anarchique des molécules de la MEC et leur organisation en polymères complexes et peu solubles aboutissant à la perturbation de l'architecture hépatique (**Martinez Hernandez et Amenta, 1993**).

Dans l'hépatite C, la fibrose débute autour de l'espace porte (fibrose périportale) pour s'étendre vers les espaces voisins et les veines centrolobulaires réalisant des septa ou ponts fibreux (**Lefkowitz et al., 1993**). Le stade ultime du développement de la fibrose hépatique est la cirrhose, caractérisée par des bandes de tissu fibreux reliant entre elles la majorité des structures mésenchymateuses portales et centrolobulaires et isolant des nodules hépatocytaires. Une régénération hépatique peut s'associer ou survenir après l'installation de cette fibrose annulaire (**Goodman et Ishak, 1995**).

La fibrogenèse est étroitement liée à l'activation de cellules fibrocompétentes hépatiques dont les principales sont les CEF (**Bedossa, 1993**). Les CEF sont localisées dans l'espace de Disse entre les hépatocytes et la paroi sinusoidale. Dans un foie normal, elles représentent 5 à 8 % de l'ensemble des cellules. Elles y stockent la vitamine A et établissent des connections étroites avec les cellules avoisinantes par l'intermédiaire de prolongements cytoplasmiques étoilés. Au cours de la fibrogenèse, les CEF subissent un processus d'activation. Leur phénotype quiescent, lipocytaire évolue vers un phénotype de type myofibroblastique ; les cellules perdent alors leurs vésicules de graisse, acquièrent un cytosquelette contractile caractérisé en particulier par l'expression de l'alpha-actine muscle lisse et produisent la majorité des constituants de la MEC (**Arenson et al., 1988**).



if une

Figure 50. Schéma illustrant un sinusoiide hépatique en situation physiologique (A), une fibrogenèse débutante avec dépôts de constituants de la matrice extracellulaire dans l'espace de Disse (B), et une fibrose importante associée à des altérations cellulaires (hépatocytes et cellules de Ito) (d'après Hammel et al., 2001).

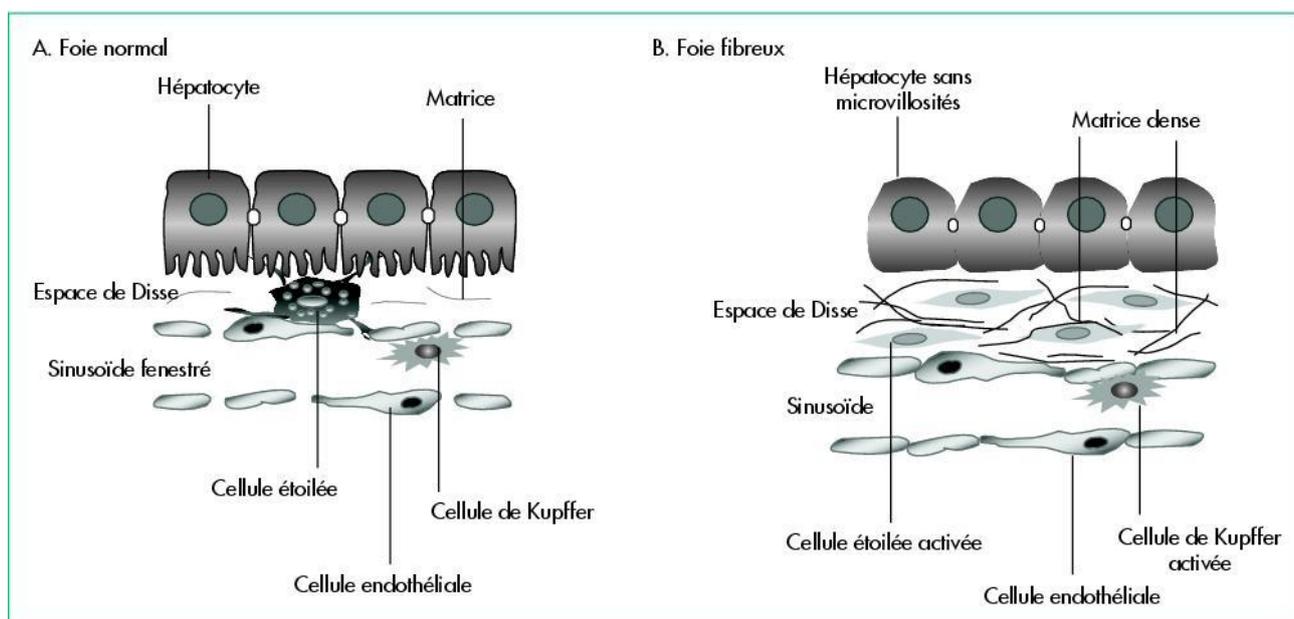


Figure 51. Modifications de l'espace de Disse au cours de la fibrogenèse hépatique (d'après Schuppan et al., 2001).

Le développement d'une fibrose, conséquence de la fibrogenèse, est un tournant dans l'évolution de l'hépatite chronique. C'est le dépôt et l'organisation tissulaire des molécules de la MEC au sein du tissu hépatique. À l'échelle de la microscopie, la MEC s'organise en deux structures bien identifiées : des fibres et des membranes basales (**Martinez Hernandez et Amenta, 1993**). Les fibres sont constituées par un réseau réticulé comportant essentiellement des molécules de collagène. Ils forment l'architecture, le squelette de l'organe, mais jouent également un rôle complexe d'échange d'informations avec les cellules avec lesquelles ils rentrent en contact. Les autres structures identifiables en microscopie sont les membranes basales. Dans le foie normal, les membranes basales sont absentes dans l'espace de Disse au contact du pôle vasculaire des hépatocytes. L'une des modifications architecturales notable observée au cours du processus de fibrose hépatique dans l'hépatite C est le développement d'une membrane basale séparant les hépatocytes et le flux sanguin, perturbant les échanges entre le courant sanguin et les hépatocytes et réalisant la capillarisation des sinusoièdes (**Moragas et al., 1998**).

Les fibres, ainsi que les autres composants de la MEC présents en excès au cours de la fibrose, jouent également un rôle de stockage de molécules très réactives (facteurs de croissance, cytokines) sous leurs formes inactives, mais susceptibles d'être activées suite à des modifications du micro-environnement (**Paradis et al., 1999**). Lors du développement de la fibrose, il existe, d'une part, une augmentation quantitative de la MEC, mais également des modifications qualitatives dans la répartition de ses différents composants. L'une des caractéristiques de la fibrose hépatique est la transformation d'une MEC lâche de type membrane basale en MEC réticulée et dense de type fibrillaire, beaucoup plus résistante à la dégradation enzymatique (**Murata et al., 1984**).

L'ensemble des lésions inflammatoires et nécrotiques observées au cours de l'hépatite chronique C sont regroupées sous le terme d'activité ou grade de la maladie. À l'échelle morphologique, une hépatite chronique active associe à des degrés divers un infiltrat inflammatoire constitué de cellules mononucléées principalement lymphocytaires souvent organisées en agrégat dans l'espace porte, des lésions périportales le plus souvent discrètes caractérisées par la présence de lymphocytes débordant l'espace porte et associées à des lésions de nécrose hépatocytaire périportale (hépatite d'interface, nécrose parcellaire, piece meal necrosis), des amas nécrotico-inflammatoires localisés au sein du lobule hépatique et souvent de petite taille (**Scheuer et al., 1992**).

Si ces critères morphologiques sont particulièrement bien définis, leur signification pathogénique et leur rôle dans la fibrogenèse restent ambigus dans l'hépatite C. L'infiltrat lymphocytaire et particulièrement les cellules T cytotoxiques se comportent comme des effecteurs des mécanismes de nécrose hépatique, probablement partiellement inefficaces dans la clairance virale. Ils peuvent aussi interagir avec la fibrose en agissant soit comme des stimulants de la fibrogenèse (IL-6, IL-8), soit comme des modulateurs (IL-10, IFN-g) (**Koziel, 1999**).

CONCLUSION GENERALE

L'hépatite C est une maladie relativement fréquente. On estime que 3 % de la population mondiale a une infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC) et que le VHC est responsable d'environ 70 % des cas d'hépatites chroniques, cause majeure de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. L'évolution silencieuse de la maladie et la fréquence élevée de passage à la chronicité expliquent l'existence d'un grand réservoir de sujets infectés. Ainsi, bien que le VHC ne soit pas très contagieux, il est transmis largement, essentiellement par voie parentérale. L'hépatite aiguë C est habituellement asymptomatique, ce qui explique que le diagnostic soit rarement fait au stade aigu de la maladie. L'hépatite chronique est généralement asymptomatique et son diagnostic est fortuit dans la plupart des cas, parfois à un stade tardif de la maladie. Il repose sur des tests sérologiques, biologiques et sur la biopsie hépatique.

Le diagnostic de la maladie de l'hépatite C qui a été effectué sur 1000 sujets suspects d'une population habitant la région de Batna nous a permis de démontrer que :

La prévalence de la maladie de l'hépatite C dans la région de Batna est de 2,4% par rapport à la population étudiée. On a détecté vingt quatre cas de l'hépatite C. La prévalence de cette maladie chez cette population étudiée est proche de la prévalence théorique.

Cette pathologie se traduit par l'apparition de la cytolyse, la cholestase, l'ictère, la thrombopénie, et troubles de la coagulation dont le dosage des transaminases explore la cytolyse, le dosage des phosphatases alcalines et de la gamma-GT explore la cholestase, le dosage de la bilirubine explore l'ictère, la numération des plaquettes explore la thrombopénie et le taux de prothrombine avec le taux de facteur V explorent les Troubles de la coagulation

Il n'existe pas de marqueurs biologiques spécifiques pour suivre l'évolution de la maladie et souvent, un examen histologique (étude du tissu) "la ponction biopsie hépatique" est nécessaire pour suivre l'évolutivité de la maladie. Dans notre étude ce test montre la présence des signes histologiques spécifiques pour la maladie et l'évolution vers la cirrhose dont le résultat histologique A3F4 confirme cette observation.

De fait de la fréquence et la sévérité de cette maladie, l'hépatite C a été et est l'objet de très nombreux travaux de recherche, qui ont permis, en dépit de l'absence de systèmes de culture virale efficaces, d'appréhender la biologie moléculaire et le cycle de réplication virale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alter HJ, Seeff LB, (2000).** Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis*, 20:17-35.
- Ando K, Hiroishi K, Kaneko T, Moriyama T, Muto Y, Kayagaki N, et al, (1997).** Perforin, 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.
- Antony S, Eugène B, Kurt J.I, Jean D.W, Joseph B.M, Dennis L.K, Stephen L.H, Danl L, (2000).** Médecine interne. 14^{ème} édition, Tome 2. Mc Graw-Hill International (UK) (Ed). London, 2964 p.
- Arenson DM, Friedman SL, Bissel DM, (1988).** Formation of extracellular matrix in normal rat liver:lipocytes as a major source of proteoglycan. *Gastroenterology*, 95:441-7.
- Bach N, Thung SN, Schaffner F, (1992).** The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology*, 15:572-7.
- Bamber M, Murray A, Lewin J, Thomas HC, Sherlock S, (1981).** Ultrastructural features in chronic non-A, non-B (NANB) hepatitis: a controlled blind study. *J Med Virol*, 8:267-75.
- Barba G, Harper F, Harada T, Kohara M, Goulinet S, Matsuura Y et al, (1997).** Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:1200-1205.
- Bedossa P, (1993).** The cell origin of extracellular matrix proteins. *J Hepatol*, 19:1-3.
- Bedossa P, Poynard T, (1996).** METAVIR cooperative study group. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 24 : 289-93.
- Bennett JG, Plum F, (1997).** Cecil traité de médecine interne. 1^{ère} édition. Médecine-Sciences Flammarion (Ed). Paris, 2339 p.
- Berke G, (1995).** The CTL's kiss of death. *Cell*, 81:9-12.
- Berry MN, Edwards AM, (2000).** The Hepatoeyte Review. 391-410.
- Bertoletti A, D'Elios MM, Boni C, De Carli M, Zignego AL, Durazzo M, et al, (1997).** Different cytokine profiles of intraphepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Gastroenterology*, 112:193-9.
- Bertolino P, Klimpel G, Lemon SM, (2000).** Hepatic inflammation and immunity: a summary of a conference on the function of the immune system within the liver. *Hepatology*, 31:1374-8.
- Berwyn , Clarke, (1993).** Molecular virology of hepatitis C virus. *Gen. Virol*, 78: 2397-2410.
- Bouffard P, Hayashi PHEA, (1992).** Hepatitis C virus detected in a monocyte/macrophage subpopulation of peripheral blood mononuclear cells of infected patients. 166: 1276-80.
- Bronstein JA, Caumes JL, Richecoeur M, et al, (2004).** Conduite à tenir devant une cholestase. *EMC-Hépatologie*, 1:113-21.

Bukh J, Miller RH, Purcell RH, (1995). Genetic heterogeneity of hepatitis C virus : quasi-species and genotypes. *Semin Liver Dis*, 15 : 41-63.

Cadranel JF, Rufat P, Degos F, (2000). Practices of liver biopsy in France results of a prospective nationwide survey. *Hepatology*, 32:477-81.

Chang KM, Rehermann B, McHutchison JG, Pasquinelli C, Southwood S, Sette A, et al, (1997). Immunological significance of cytotoxic T lymphocyte epitope variants in patients chronically infected by the hepatitis C virus. *J Clin Invest*, 100:2376-85.

Chayama K, Suzuki F, Tsubota A, Kobayashi M, Arase Y, Saitoh et al, (2000). Association of amino acid sequence in the PKR-eIF2 phosphorylation homology domain and response to interferon therapy. *Hepatology*, 32:1138-44.

Chen DF, Endres W, Kliem V, Tillmann HL, Brunkhorst R, Koch KM, et al, (1996). No significant influence of HLA determinants on susceptibility to hepatitis C virus infection in Caucasian patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*, 16:384-9.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M, (1989). Isolation of a DNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome . *Science*, 244: 359-362.

Cocquerel L, Wychowski C, Minner F, Penin F, Dubuisson J, (2000). Charged residues in the transmembrane domains of hepatitis C virus glycoproteins play a major role in the processing, subcellular localization, and assembly of these envelope proteins. *J Virol*, 74:3623-33.

Compton J, (1991). Nucleic acid sequence-based amplification. *Nature*, 350:91-2.

Cooper S, Erickson AL, Adams EJ, Kansopon J, Weiner AJ, Chien DY, et al, (1999). Analysis of a successful immune response against hepatitis C virus. *Immunity*, 10:439-49.

Corvilain B, (1997). «Lipoprotein metabolism». *Rev Med Brux*, 18 : 3-9.

Coste J, (2000). Screening for viral genomes in blood transfusion. *Transfus Clin Biol*,; 7:11-17.

Couroucé AM, Le Marrec N, Bouchardeau F, Razer A, Maniez M, Laperche S, et al, (2000). Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period. *Transfusion*. 40:1198-202.

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

Cropley I, Main J, (2000). Hepatitis C virus infection: co-infection with HIV and HBV. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 14:265-75.

Denis D, (1991). *Biochimie clinique*. Maloine (Ed). Paris, 451-537.

Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ, (1994). Classification of chronic hepatitis:diagnosis, grading and staging. *Hepatology*, 19:1513-20.

Dienes HP, Drebber U, von Both I, (1999). Liver biopsy in hepatitis C. *J Hepatol*, 31: 43-6.

- Doherty DG, Norris S, Madrigal-Estebas L, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, et al, (1999).** The human liver contains multiple populations of NK cells, T cells, and CD3+CD56+ natural T cells with distinct cytotoxic activities and Th1, Th2, and Th0 cytokine secretion patterns. *J Immunol*, 163:2314-21.
- Dubuisson J, (2000).** Folding, Assembly and Subcellular Localisation of Hepatitis C Virus Glycoproteins. 242:135-148.
- Dubuisson J, Hsu HH, Cheung RC, Greenberg HB, Russel DG, Rice CM, (1994).** Formation and intracellular localization of hepatitis C virus envelope glycoprotein complexes expressed by recombinant vaccine and Sindbis viruses. *J Virol*, 68:6147-6160.
- Duvoux C, Pawlotsky JM, Bastie A, Cherqui D, Soussy CJ, Dhumeaux D, (1999).** Low HCV replication levels in end-stage hepatitis C virus-related liver disease. *J Hepatol*, 31:593-7.
- Etienne J, Clauser E, (2004).** Biochimie Génétique Biologie moléculaire. 8^{ème} édition. Masson (Ed). Paris, 409 p.
- Failla C, Tomei L, DE Francesco R, (1994).** Both NS3 and NS4A are required for proteolytic processing of hepatitis C virus nonstructural proteins. 68: 3753-60.
- Farci P, Alter HJ, Wong DC, Miller RH, Govindarajan S, Engle R, et al, (1994).** Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated in vitro neutralization. 91:7792-6.
- Ferenci P, Zollner G, Trauner M, (2002).** Hepatic transport systems. *J Gastroenterol Hepatol*, 17:105-112
- Fleury HJA, (2002).** Virologie humaine. 4^{ème} édition. Masson (Ed). Paris, 245 p.
- Fouet P, (1978).** Abrégé d'hépatologie. Masson (Ed). Paris, 292 p.
- Fraser-Hill MA, Atri M, Bret PM, Aldis AE, Illescas FF, Herschorn SD, (1990).** Intrahepatic portal venous system: variations demonstrated with duplex and color Doppler US. *Radiology*, 177 : 523-526
- Gale M, Foy E M, (2005).** Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *Nature*, 436: 939-45.
- Gardner E, Gray DJ, O'rahilly R, (1993).** Anatomie. Tome 2. Office des publications universitaires (Ed). Paris, 786 p.
- Germi R, Crance JM, Garin D, Zarski JP, Drouet E, (2001).** Rôle des glycosaminoglycanes dans l'adsorption des virus sur les cellules hôtes. *Virologie*, 5:255-63.
- Giannini C, Bréchet C, (2003).** Hepatitis C virus biology. *Cell Death Differ*, 10 : 27-38.
- Godeau B, Bierling P, (2004).** Thrombopénies. *Traité de médecine interne*, 2818-24.
- Goodman ZD, Ishak KG, (1995).** Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis*, 15:70-81.
- Gressner AM, (1992).** Hepatic fibrogenesis: the puzzle of interacting cells, fibrogenic cytokines, regulatory loops and extracellular matrix molecules. *Gastroenterol*, 30:5-16.
- Gretch DR, (1997).** Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology*, 43-47.

Hadjiky P, Dadoune J, Siffroi J, Vendrely E, (2000). Histologie. 2^{ème} édition. Flammarion (Ed). Paris, 330 p.

Halfon P, Trimoulet P, Bourlière M, Khiri H, de Ledinghen V, Couzigou P, et al, (2001). Hepatitis C virus genotyping based on 5'noncoding sequence analysis (Trugene). J Clin Microbiol, 39:1771-3.

Hammel P, Couvelard A, O'Toole D, et al, (2001). Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. N Engl J Med, 344 : 418-23.

Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R, (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. Biotechnology, 11:1026-30.

Hijikata M, Mizushima H, Akagi T, Mori S, Kakiuchi N, Kato N, Tanaka T, Kimura K, Shimotohno K, (1993). Two distinct proteinase activities required for the processing of a putative non-structural precursor protein of hepatitis C virus. J Virol, 67:4665-4675.

Hiroishi K, Kita H, Kojima M, Okamoto H, Moriyama T, Kaneko T, et al, (1997). Cytotoxic T lymphocyte response and viral load in hepatitis C virus infection. Hepatology, 25:705-12.

Hoffmann RM, Diepolder HM, Zachoval R, Zwiebel FM, Jung MC, Scholz S, et al, (1995). Mapping of immunodominant CD4+ T lymphocyte epitopes of hepatitis C virus antigens and their relevance during the course of chronic infection. Hepatology, 21:632-8.

Hohler T, Kruger A, Gerken G, Schneider PM, Meyer zum Buschenfelde KH, Rittner C, (1998). Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism at position -238 is associated with chronic active hepatitis C infection. J Med Virol, 54:173-7.

Jacquemin E, (1998). Sécrétion biliaire. MT Pédiatrie, 1 : 179-85.

Jean-Pierre B, Johannes B, Neil M, Mario R, Juan R, (2002). Hépatologie clinique. 2^{ème} édition. Médecine-Sciences Flammarion (Ed). Paris, 2148p.

Jian R, (2005). Hépatogastroentérologie. René Descartes (Ed). Paris, 318 p.

Jones IM, Chan-Fook C, Jiang WR, Clarke BE, (2000). Receptors for hepatitis C virus. J Virol, 74:10860-10861.

Kawamura T, Furusaka A, Koziel MJ, Chung RT, Wang TC, Schmidt EV, et al, (1997). Transgenic expression of hepatitis C virus structural proteins in the mouse. Hepatology, 25:1014-21.

Khan MH, Farrell GC, Byth K, Lin R, Weltman M, George J, et al, (2000). Which patients with hepatitis C develop liver complications? Hepatology, 31:513-20.

Kim JL, Morgenstern KA, Lin C, Fox T, Dwyer MD, Landro JA et al, (1996). Crystal structure of the hepatitis C virus NS3 protease domain complexed with a synthetic NS4A cofactor peptide. 87:343-355.

Kiyosawa K, Tanaka E, Sodeyama T, Yoshizawa K, Yabu K, Futura K, Lamai H, Nakano Y, Usuda S, Uemura K, (1994). Transmission of hepatitis C in an isolated area in Japan : community-acquired infection. The south Kiso Hepatitis Study Group. Gastroenterology, 106 : 1596-1602.

Kmieciak Z, (2001). Cooperation of liver cells in health and disease. Adv Anat Embryol Cell Bio, 161: 1-151.

- Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al, (1981).** Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*, 1 : 431-5.
- Kojima M, Osuga T, Tsuda F, Tanaka T, Okamoto H, (1994).** Influence of antibodies to the hypervariable region of E2/NS1 glycoprotein on the selective replication of hepatitis C virus in chimpanzees. *Virology*, 204:665-72.
- Kolb E, (1975).** *Physiologie des animaux domestiques*. Vigot (Ed). Paris, 974 p.
- Koziel MJ, (1999).** Cytokines in viral hepatitis. *Semin Liver Dis*, 19: 157-69.
- Koziel MJ, Dudley D, Afdhal N, Grakoui A, Rice CM, Choo QL, et al, (1995).** HLA class I-restricted cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus. Identification of multiple epitopes and characterization of patterns of cytokine release. *J Clin Invest*, 96:2311- 21.
- Krajden M, (2000).** Hepatitis C virus diagnosis and testing. 91: 36-42.
- Kullak-Ublick GA, Meier PJ, (2000).** Mechanisms of cholestasis. *Clin Liver Dis*, 4:357-385.
- Kwong AD, Kim JI, Lin C, (2000).** Structure and function of hepatitis C virus NS3 helicase. 242:171-196.
- Lai ME, Mazzoleni AP, Argioli F, De Virgilis S, Balestrieri A, Purcell RH, et al, (1994).** Hepatitis C virus in multiple episodes of acute hepatitis in polytransfused thalassaemic children. *Lancet*, 343: 388-90.
- Lam NP, Neumann AU, Gretch DR, Wiley TE, Perelson AS, Layden TJ, (1997).** Dose-dependent acute clearance of hepatitis C genotype 1 virus with interferon alfa. *Hepatology*, 26:226-31.
- Lechmann M, Ihlenfeldt HG, Braunschweiger I, Giers G, Jung G, Matz B, et al, (1996).** T- and B-cell responses to different hepatitis C virus antigens in patients with chronic hepatitis C infection and in healthy anti-hepatitis C virus-positive blood donors without viremia. *Hepatology*, 24:790-5.
- Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, Perillo RP, Lindsay K, Bodenheimer HC et al (1993).** Pathological diagnosis of chronic hepatitis C. A multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 104:595-603.
- Ludwig J, (1993).** The nomenclature of chronic active hepatitis : An obituary. *Gastroenterology*, 105: 274-8.
- Mackin A, (1995).** Canine Immune-Mediated Thrombocytopenia. *Compend*. 17: 515-535.
- Mammette A, (2002).** *Virologie médicale*. Press universitaires de Lyon (Ed). Lyon, 798 p.
- Marieb ÉN, (1999).** *Anatomie et physiologie humaines*. Renouveau Pédagogique (Ed).1194 p.
- Martell M, Esteban JL, Quer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, et al, (1992).** Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasi-species nature of HCV genome distribution. *J Virol*, 66 : 3225-6.
- Martinez Hernandez A, Amenta PS, (1993).** Morphology, localization and origin of the hepatic extracellular matrix. *biology and pathobiology* , 201-254.
- Matsuura Y, Miyamura T, (1993).** The molecular biology of hepatitis C virus. 297-304.

- Medaille C, (1999).** Les plaquettes. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.* 31: 294-295.
- Meeks RG, Harrison SD, Bull RJ, (1991).** *Hepatotoxicology*, 700 p.
- Michel V, (2007).** *Biochimie Hématologie*. 3^{ème} édition. Le Moniteur (Ed). Paris, 1116p.
- Minton EJ, Smillie D, Neal KR, Irving WL, Underwood JCE, James V, (1998).** Association between MHC class II alleles and clearance of circulating hepatitis C virus. *J Infect Dis*, 178:39-44.
- Minutello MA, Pileri P, Unutmaz D, Censini S, Kuo G, Houghton M, et al, (1993).** Compartmentalization of T lymphocytes to the site of disease: intrahepatic CD4+ T cells specific for the protein NS4 of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C. *J Exp Med*, 178:17-25.
- Mondelli MU, Cerino A, Boender P, Oudshoorn P, Middeldorp J, Fipaldini C, et al, (1994).** Significance of the immune response to a major, conformational B-cell epitope on the hepatitis C virus NS3 region defined by a human monoclonal antibody. *J Virol*, 68:4829-36.
- Moragas A, Allende H, Sans M, (1998).** Characteristics of perisinusoidal collagenization in liver cirrhosis: computer-assisted quantitative analysis. *Anal Quant Cytol Histol*, 20:169-77.
- Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, M et al, (1997).** Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J Gen Virol*, 78: 1527-1531.
- Murata K, Kudo M, Onuma F, Motoyama T, (1984).** Changes of collagen types at various stages of human liver cirrhosis. *Hepatogastroenterol*, 31:158-61.
- Murphy DJ, Hernandez-Pinzon I, Patel K, Hope RG, McLauchlan J, (2000).** New insights into the mechanisms of lipid-body biogenesis in plants and other organisms. 28:710-711.
- Nakai KT, Okamoto T, Kimura-Someya K, Ishii CK, Lim H, Tani E, Matsuo T, Abe Y, Mori T, Suzuki T, Miyamura JH, Nunberg K, Moriishi Y Matsuura, (2006).** Oligomerization of Hepatitis C Virus Core Protein Is Crucial for Interaction with Cytoplasmic Domain of E1 Envelope Protein. *J Virol*.
- Nelson DR, Marousis CG, Davis GL, Rice CM, Wong J, Houghton M, et al, (1997).** The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. *J Immunol*, 158:1473-81.
- Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, et al, (1998).** Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science*, 282:103-7.
- O'Farrelly C, Crispe IN, (1999).** Prometheus through the looking glass: reflections on the hepatic immune system. *Immunol Today*, 20: 394-8.
- Okamoto H, Kojima M, Okada SI, Yoshizaw H, Lizuka H, Tanaka T, et al (1992).** Genetic drift of hepatitis C virus during an 8,2 year infection in a chimpanzee : variability and stability. *Virology*, 190 : 894-9.
- Orito E, Mizokami M, Tanaka T, Lau JY, Suzuki K, Yamauchi M, et al, (1996).** Quantification of serum hepatitis C virus core protein level in patients chronically infected with different hepatitis C virus genotypes. *Gut*, 39:876-80.
- Pape GR, Gerlach TJ, Diepolder HM, Gruner N, Jung M, Santantonio T (1999).** Role of the specific T-cell response for clearance and control of hepatitis C virus. *J Viral Hepat*, 36-40.

- Paradis V, Dargere D, Vidaud M, De Gouville AC, Huet S, Martinez V, et al, (1999).** Expression of connective tissue growth factor in experimental rat and human liver fibrosis. *Hepatology*, 30:968-76.
- Parker DC, (1993).** T cell-dependent B cell activation. *Ann Rev Immunol*, 11:331-60.
- Paul D, Dominique R, (2003).** Virus de l'hépatite C. Elsevier (Ed). Paris, 190 p.
- Pawlotsky JM, Ben Yahia M, André C, Voisin MC, Intrator L, Roudot-Thoraval F, et al, (1994).** Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology*, 19:841-8.
- Pawlotsky JM, Lonjon I, Hézode C, Raynard B, Darthuy F, Rémiré J, et al, (1998).** What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology*, 27:1700-2.
- Pawlotsky JM, Lunel F, (1996).** Les virus transmissibles par le sang. ouvrage collectif, John Libbey Eurotexte, 23-52.
- Pawlotsky JM, Prescott L, Simmonds P, Pellet C, Laurent-Puig P, Labonne C, et al (1997).** Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. *J Clin Microbiol*, 35:1734-9.
- Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, Pellet C, Stuyver L, Duval J, Dhumeaux D, (1995).** Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. 171: 1607-1610.
- Penin F, (2003).** Structural biology of hepatitis C virus. *Clin Liver Dis*, 7: 1-21.
- Pileri P, Uematsu Y, Compagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Weiner AJ et al, (1998).** Binding of hepatitis C virus to CD81. 282:938-941.
- Poynard T, Bedossa P, Opolon P, (1997).** Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. 349: 825-32.
- Poynard T, Ratziu V, Moussalli J, Regimbeau C, DI Martino V, Benhamou Y, Myers R, Imbert-Bismut F, (2002).** Biopsie du foie contre prise de sang pour le suivi de l'hépatite C. *Médecine sciences* (Ed). 353-356.
- Puoti M, Zonaro A, Ravaggi A, Marin MG, Castelnuovo F, Cariani E, (1992).** Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 6:877-81.
- Racanelli V, Rehermann B, (2003).** Trends in immunology. *Trends Immunol*, 24: 456-64.
- Ray RB, Meyer K, Ray R, (2000).** Hepatitis C virus core protein promotes immortalization of primary human hepatocytes. *Virology*, 271:197-204.
- Reed KE, Rice CM, (1999).** Identification of the major phosphorylation site of the hepatitis C virus H stain NS5A protein as serine 2321. 274:28011-28018.
- Roingeard P, Hourieux C, Blanchard E, et al, (2004).** Hepatitis C virus ultrastructure and morphogenesis. *Biol Cell*, 96 : 103-8.

- Rosa D, Campagnoli S, Moretto C, Guenzi E, Cousens L, Chin M, et al (1996).** A quantitative test to estimate neutralizing antibodies to the hepatitis C virus: cytofluorimetric assessment of envelope glycoprotein 2 binding to target cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:1759- 63.
- Rosser BG, Gores GJ, (1995).** Liver cell necrosis : cellular mechanisms and clinical implications. *Gastroenterology*,108 : 252-75.
- Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlotsky JM, Dhumeaux D, (1997).** Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6,664 patients. *Hepatology*, 26:485-90.
- Rouviere H, (1978).** Anatomie humaine. 11^{ème} édition, Tome 2. Masson (Ed). Paris, 686 p.
- Ruggieri A, Harada T, Matsuura Y, Miyamura T, (1997).** Sensitization to Fas-mediated apoptosis by hepatitis C virus core protein. *Virology*, 229:68-76.
- Saiki RK, Bugawan TL, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA, (1986).** Analysis of enzymatically amplified beta-globin and HLA-DQ alpha DNA with allele-specific oligonucleotide probes. *Nature*, 324:163-6.
- Samama M, Prost RJ, Doumenc J, Beuzart A, (1970).** *Pathologie et biologie*. 18:868.
- Sampol J, Arnoux D, Boutière D, (1995).** Manuel d'hémostase. Elsevier (Ed). Paris, 409-432.
- Schaffler A, Schidi S, (1999).** Anatomie Physiologie Biologie. Maloine (Ed). Paris, 338 p.
- Scheuer PJ, (1996).** Scoring of of liver biopsies : Are we doing it right ? *Gastroenterol Hepatol*, 25 : 649-54.
- Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, (1992).** Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology*, 15:567-71.
- Schuppan D, (1990).** Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver: Collagens and glycoproteins. *Semin Liver Dis*, 10:1-10.
- Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG, (2001).** Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis*, 21 : 351-72.
- Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ, (1982).** Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. *Pathol Ann*, 17 : 229-47.
- Selby MJ, Glazer E, Masiarz F, Houghton M, (1994).** Complex processing and protein : protein interactions in the E2-NS2 region of HCV. *Virology*, 204:114-122.
- Sen GC, (2001).** Viruses and interferons. *Annu Rev Microbiol*, 55: 255-81.
- Sherlock DS, (1994).** Chronic hepatitis C. 40: 117-96.
- Shimizu YK, Igarashi H, Kiyohara T, Cabezon T, Farci P, Purcell RH, et al, (1996).** A hyperimmune serum against a synthetic peptide corresponding to the hypervariable region 1 of hepatitis C virus can prevent viral infection in cell cultures. *Virology*, 223:409-12.
- Shimoike T, Mimori S, Tani H, Matsuura Y, Miyamura T, (1999).** Interaction of hepatitis C virus core protein with viral sense RNA and suppression of its translation. 73 : 9718-9725.

- Silbernagl S, Despopoulos A, (1992).** Atlas commenté de physiologie humaine. 2^{ème} édition. Médecine-science Flammarion (Ed). Paris, 473 p.
- Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Bréchet C, et al, (1994).** A proposed system for the nomenclature of hepatitis c virus genotypes. *Hepatology*, 19:1321-4.
- Sotil EU, Jensen DM, (2004).** Serum enzymes associated with cholestasis. *Clin Liver Dis*, 8:41-54.
- Stevens A, Steven Low EJ, (1993).** Histologie. Edisem (Ed). Paris, 378 p.
- Stramer SL, Caglioti S, Strong DM, (2000).** NAT of the United States and Canadian blood supply. *Transfusion*, 40:1165-8.
- Sumpter R, Loo E, Foy K, Li M, Yoneyama T, Fujita SM, Lemon M, Gale Jr, (2005).** "Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG-I." *J Virol*, 79: 2689-99.
- Takeuchi T, Katsume A, Tanaka T, Abe A, Inoue K, Tsukiyama-Kohara K, et al, (1999).** Real-time detection system for quantification of hepatitis C virus genome. *Gastroenterology*, 116:636-42.
- Tanaka E, Ohue C, Aoyagi K, Yamaguchi K, Yagi S, Kiyosawa K, et al, (2000).** Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology*, 32:388-93.
- Taylor DR, Shi ST, Romano PR, Baber GN, Lai MM, (1999).** Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. 285:107-110.
- Thio CL, Nolt KR, Astemborski J, Vlahov D, Nelson KE, Thomas DL, (2000).** Screening for hepatitis C virus in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Clin Microbiol*, 38:575-7.
- Thomas DL, (2000).** Hepatitis C epidemiology. 242 : 25-41.
- Thomson ABR, Shaffer EA, (2005).** Principes fondamentaux de gastro-entérologie États pathologiques et démarches thérapeutiques. 972 p.
- Thomssen R, Bonk S, Thiele A, (1993).** Density heterogeneities of hepatitis C virus in human sera due to the binding of beta-lipoproteins and immunoglobulins. 182:392-334.
- Tiribelli C, Ostrow D, (1989).** New concepts in bilirubin chemistry, transport and metabolism. *Hepatology*, 11: 303-313.
- Tatora GJ, Reynolds Grabozski S, Parent JC, (1999).** Principe d'anatomie et de physiologie. Centre éducatif culturel inc. Canada (Ed), 1204 p.
- Trauner M, Meier PJ, Boyer JL, (1998).** Molecular pathogenesis of cholestasis. 339 : 1217-27.
- Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, Huang CY, Kuo GC, (1997).** Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology*, 25:449-58.
- Tsukiyama-Kohara K, Lizuka NEA, (1992).** Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. 66: 1476-83.

Vacheret N, (1999). «Ultrastructure du parenchyme hépatique», <http://spiral.univ-lyon1.fr/polycop/HistologieFonctionnelleOrganes/AppareilDigestif/dig23rd.html>.

Valat AS, Caulier MT, Devos P, Rugeri L, Wibaut B, Vaast P, Puech F, Bauters F, Jude B, (1998). Relationships between severe neonatal thrombocytopenia and maternal characteristics in pregnancies associated with autoimmune thrombocytopenia. *Br J Hematol*, 103:397-401.

Valiante NM, D'Andrea A, Crotta S, Lechner F, Klenerman P, Nuti S, et al, (2000). Life, activation and death of intrahepatic lymphocytes in chronic hepatitis C. *Immunol Rev*, 174:77-89.

Wain-Hobson S, (1992). Human immunodeficiency virus type 1 quasi-species in vivo and ex vivo. *Curr Top Microbiol*, 176 : 181-93.

Watanabe H, Miyaji C, Kawachi Y, Iiai T, Ohtsuka K, Iwanage T, et al (1995). Relationships between intermediate TCR cells and NK1.1+ T cells in various immune organs. NK1.1+ T cells are present within a population of intermediate TCR cells. *J Immunol*, 155:2972-83.

Weiner AJ, Brauer MJ, Rosenblatt J, Richman KH, Tung J, Crawford K et al, (1991). Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoproteins. *Virology*, 180:842-848.

Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C, Hall JE, Mason TJ, Saracco G, et al, (1992). Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:3468-72.

Wejstal R, Widell A, Mansson AS, Hermodsson S, Norkrans G, (1992). Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Ann Intern Med*, 117:887-90.

Wong DK, Dudley DD, Afdhal NH, Dienstag J, Rice CM, Wang L, et al, (1998). Liver-derived CTL in hepatitis C virus infection: breadth and specificity of responses in a cohort of persons with chronic infection. *J Immunol*, 160:1479-88.

Wunschmann S, Medh JD, Klinzmann D, Schmidt WN, Stapleton JT, (2000). Characterization of hepatitis C virus (HCV) and HCV E2 interactions with CD81 and the low-density lipoprotein receptor. *J Virol*, 74:10055-10062.

Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K, Shimamatsu K, Inoue O, et al, (1996). The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology*, 23:1334-40.

Zein NN, Rakela J, Krawitt EL, Reddy R, Tominaga T, Persing DH, and the Collaborative Study Group, (1996). Hepatitis C virus genotypes in the United States : epidemiology, pathogenicity and response to interferon therapy. *Ann Intern Med*, 125:634-9.

Zeuzem S, Schmidt J, Lee JH, Ruster B, Roth K, (1996). Effect of interferon alpha on the dynamics of hepatitis C turnover in vivo. *Hepatology*, 23 : 366-71.

RESUMÉ

L'hépatite C est une maladie infectieuse transmissible par le sang et due au virus de l'hépatite C (VHC), qui s'attaque au foie. L'infection se caractérise par une inflammation du foie (l'hépatite) qui est souvent asymptomatique, mais qui peut évoluer vers une hépatite chronique et plus tard une cirrhose (fibrose cicatricielle du foie) et un cancer du foie. Notre problématique tend à mettre en évidence d'une part la prévalence de cette maladie infectieuse chez la population de la région de Batna, et d'autre part les caractéristiques biologiques et histologiques de cette maladie par un dépistage et un diagnostic spécifique basé sur des tests sérologiques, un bilan hépatique (dosage des paramètres hématologiques et des paramètres biochimiques), et un examen histologique.

Les résultats obtenus ont montré :

Augmentation du taux des phosphatases alcalines, de la GGT et de la bilirubine, un taux normal ou élevé des transaminases, allongement du taux de prothrombine, baisse du taux des plaquettes et du facteur V.

La sérologie du virus de l'hépatite C permet d'établir le diagnostic de l'infection par le virus de l'hépatite C. Dans cette étude et grâce au test sérologique 24 cas ont été découverts.

La présence du virus de l'hépatite C perturbe les fonctions du foie dont l'apparition de la cytolysse, la cholestase, l'ictère, la thrombopénie, et troubles de la coagulation.

La ponction biopsie hépatique est nécessaire pour suivre l'évolutivité de la maladie. Elle montre la présence des signes histologiques spécifiques pour la maladie et l'évolution vers la cirrhose dont le résultat histologique A3F4 confirme cette observation.

Vingt quatre cas de la maladie de l'hépatite C ont été trouvés sur 1000 cas suspects (7 cas à transaminases normales et 17 cas à transaminases élevées). La prévalence de cette maladie chez cette population étudiée (2,4%) est proche de la prévalence théorique.

Mots clés

Maladie de l'hépatite C, diagnostic sérologique, bilan hépatique, examen histologique.

ملخص

إلتهاب الكبد سي مرض معد ينتقل عبر الدم و ناتج عن فيروس التهاب الكبد سي الذي يهاجم الكبد . تتميز الإصابة بالتهاب في الكبد (Hépatite) والتي غالبا تكون لا عرضية ، ولكن يمكن أن تتطور إلى التهاب الكبد المزمن و في وقت لاحق إلى تشمع الكبد (تليف ندبي للكبد) وإلى سرطان الكبد.

هدف هذا البحث من جهة هو معرفة نسبة هذا المرض المعدي عند سكان منطقة باتنة و من جهة أخرى معرفة المميزات البيولوجية والهستولوجية (الخاصة بالأنسجة) لهذا المرض عن طريق تشخيص خاص قائم على اختبارات مصلية، تقييم كبدي (معايرة المعالم الدموية و البيوكيميائية). النتائج المحصل عليها بينت :

إرتفاع نسبة الفوسفاتاز ألكالين، الغاماغلوتامات و البيليروبين، نسبة ثابتة أو مرتفعة للترنساميناز، زيادة نسبة البروترومبين، نقص نسبة الصفائح الدموية و العامل الخامس.

الدراسة المصلية لفيروس التهاب الكبد سي يتيح وضع تشخيص الإصابة بالفيروس. في هذه الدراسة و بفضل الإختبار المصلي، تم اكتشاف 24 حالة.

وجود فيروس التهاب الكبد سي يعطل وظائف الكبد مما يؤدي إلى ظهور إنحلال الخلايا، اضطراب في الجريان الصفراوي، الصفار، مرض نقص الصفائح الدموية، اضطراب في التخثر الدموي.

إن أخذ قطعة من الكبد للدراسة النسيجية مهم لتتبع تطور هذا المرض، و التي تبين وجود علامات نسيجية خاصة بالمرض و التطور إلى تشمع الكبد حيث ان النتيجة A3 F4 تؤكد هذه الملاحظة.

أربعة و عشرون حالة من مرض التهاب الكبد سي تم تشخيصها من بين 1000 حالة (7 حالات نسبة الترنساميناز عندهم ثابتة و 17 حالة نسبة الترنساميناز مرتفعة).

نسبة هذا المرض في هذه المنطقة (2,4%) قريبة من النسبة النظرية.

الكلمات المفتاحية

مرض التهاب الكبد سي، التشخيص المصلي، التقييم الكبدي، الإختبار الهستولوجي .