

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



MB.02/07

02
02

Faculté des Sciences
Département du Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme d'Etude Supérieur
(D.E.S)

Option : Microbiologie

Thème

L'hépatite C : Diagnostic et traitement

Membre du jury :

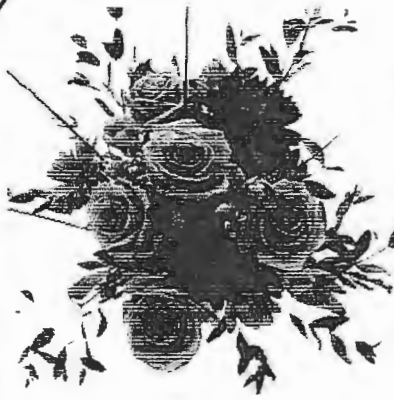
- ❖ Encadreur : AICHOUR Ridha
- ❖ Examineur : LAIB Essaid

Présenté par :

- ❖ DJAAKOUR Rabiaa
- ❖ GHACHOUCHE Djanet
- ❖ SAIFI Randa



Promotion Juin : 2007



Remerciements

Nous voudrions exprimer ici notre profonde reconnaissance à tous ceux qui ont consacré de leur temps pour nous apporter aide et connaissance durant toute la durée de ce travail.

Commençons tous d'abord par notre encadreur :

Mr Aïchour Ridha, nous tenons à vous exprimer nos remerciements les plus sincères pour nous avoir choisi et confié ce travail, votre aide scientifique inestimable, votre soutien morale durant les moments difficiles, votre compréhension et votre gentillesse nous ont beaucoup marqué.

Nous remercions les membres du jury qu'ont accepté de juger notre travail.

Les plus respectueux sentiments s'adressent à Dr: Khloufi, Dr: Bouarcoudj, Dr: Harchouch et Mme Bouhdjar.

Nous exprimons toute notre gratitude à tous les professeurs de notre institut.

Merci à tous qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Nous espérons que ce travail témoigne de nos profondes reconnaissances et de nos hautes considérations.

Randa, Djanet et Rabiaa.



Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Hépatite Virale

Historique.....	2
I.1 Virus de l'hépatite C.....	2
I.2 Epidémiologie.....	2
I.3 Agent pathogène.....	3
I.3.1 La structure de l'hépatite C.....	3
I.3.2 Classification.....	4
I.4 Transmission.....	5
I.4.1 Principes biologiques de la transmission.....	5
I.4.2 Modes de transmission.....	5
I.5 Evolution.....	6
I.6 Cycle viral.....	7
I.7 Symptômes et principaux formes cliniques.....	7
I.7.1 Hépatite C aiguë.....	7
I.7.2 Hépatite C chronique.....	8
I.7.3 Complication des hépatites virales chroniques.....	8

Chapitre II : Diagnostic

II.1 Diagnostic clinique.....	9
II.1.1 Diagnostic d'hépatite aiguë.....	9
II.1.2 Diagnostic d'hépatite chronique.....	9
II.2 Diagnostic sérologique.....	10
II.2.1 Dépistage.....	10
II.2.2 Les tests de confirmation.....	11
II.2.3 L'amplification génique PCR.....	13

Chapitre III : Traitement

III.1 Les médicaments.....	16
III.1.1 L'interféron.....	16
III.1.2 Ribavirine.....	18

III.1.3 Les autres molécules	21
III.1.4 Les associations thérapeutiques.	21
III.2 Indications thérapeutiques.	24
III.2.1 Traitement de l'hépatite aiguë.	24
III.2.2 Traitement de l'hépatite chronique	24
III.3 La réponse au traitement	24
III.4 Surveillance sous traitement	25
III.5 Prophylaxie.	25
III.6 Perspective thérapeutique.	26
III.6.1 Inhibiteurs d'enzyme de VHC.	26
III.6.2 Inhibiteurs de l'ARN viral	27
III.7 Vaccination	27
III.8 L'Approche Antisens.	28
A Généralités.....	28
B Application au VHC approche antisens.	31
Discussion	35
Conclusion	37
Annexe	
Glossaire	
Bibliographies	

Listes des tableaux

Tableau 01 : Effets indésirables liés au traitement	23
--	-----------

Listes des figures

Figure 01 : Le virus de l'hépatite C	3
Figure 02 : Organisation du génome viral	4
Figure 03 : Résumé de l'histoire naturelle de l'infection virale C	6
Figure 04 : Cycle cellulaire du VHC	7
Figure 05 : Technique d'immunomarquage : test ELISA	11
Figure 06 : Amplification enzymatique de la cible par polymérase chaîne réaction (PCR).	14
Figure 07 : Résumé schématique du système IFN.....	17
Figure 08 : Structures chimiques de la ribavirine et de la guanosine	18
Figure 09 : Mode d'action possible de la ribavirine dans les traitements contre HCV .	19
Figure 10 : schéma de l'action d'un antisens	29
Figure 11 : Du gène à la protéine, cible des ODN.....	30
Figure 12 : Mécanisme principaux d'action des stratégies antisens sur le VHC	31
Figure 13 : Structure d'un ribozyme.	33



Introduction

Introduction

Une hépatite est une inflammation du foie causée soit par des substances toxiques soit par des virus.

A ce jour, un total de cinq virus provoquent une infection ciblée et une inflammation du foie, ces virus désignés par les lettres A, B, C, D, E, F et delta diffèrent par leur mode de transmission et leur agressivité.

Parmi ces 7 genres, l'hépatite C est l'agent étiologique le plus répandu des hépatites non A – non B.

Le virus de l'hépatite C ou VHC qui toucherait 3% de la population mondiale (Alter., et al, 1995).

Le VHC n'a été identifié qu'en 1989, qui est une cause majeure d'affection hépatique chronique pouvant aboutir à la cirrhose et au cancer du foie (Larousse de santé, 1999).

Le diagnostic de l'hépatite C repose essentiellement sur des méthodes immunologiques (mise en évidence d'anticorps) ou de biologie moléculaire (mise en évidence des génomes viraux).

L'objet de ce travail a été principalement de résumer le diagnostic et les traitements actuels de l'hépatite C qui repose sur l'association d'interféron alpha pégylé, de ribavirine et de la thérapie génique.

De nombreux efforts ont été entrepris pour essayer d'améliorer les traitements actuels et pour développer de nouvelles molécules, notamment des anti-protéase et anti-polymérase et à terme de mettre au point un vaccin.

Chapitre I

Hépatite Virale



Historique

L'hépatite C est une maladie nécro inflammatoire du foie, due à une infection par un virus hépatotoxique, le virus de l'hépatite C (VHC).

Le VHC présente une remarquable tendance à établir une infection persistante chez l'hôte, dont la manifestation pathologique principale est une hépatite chronique. Dans le long terme, cette hépatite peut aboutir à l'apparition d'une cirrhose, avec des risques accrus d'insuffisance fonctionnelle et de développement d'un carcinome hépatocellulaire (Enomoto .1995).

L'existence du VHC a été soupçonnée une première fois au début des années 1970, date à laquelle la plupart des cas d'hépatites liées à des transfusions n'étaient pas dues à une infection par le virus de l'hépatite A ni de l'hépatite B. Pour cette raison, le terme de l'hépatite non-A, non-B fut introduit. C'est seulement à la fin des années 1980 que le VHC a été identifié, permettant la caractérisation du génome viral dans sa totalité (Enomoto.1995).

I.1 Virus de l'hépatite C

L'hépatite C est une maladie du foie occasionnée par un virus de la famille des Flavivirus. Le virus de l'hépatite C est le principale agent des hépatites parentérales non liées au VHB (hépatite non A non B), est un virus à ARN dont l'incubation variée de 5-6 semaines. On distingue 6 géotypes différents et de nombreux sous types (Belataf. 2002).

I.2 Epidémiologie

L'hépatite C est une maladie relativement fréquente. On estime que 170 millions de personnes ont une infection chronique par le VHC dans le monde et que 3 à 4 millions de personnes sont nouvellement infectées chaque année. En France, selon une étude rendue publique en 2004, 780.000 personnes seraient infectées par le virus de l'hépatite C. On considère que le VHC est responsable d'environ 20% des cas d'hépatites aiguës et de 70% des cas d'hépatites chroniques. L'hépatite chronique C est un cas majeur de cirrhose et de cancer primitif du foie (carcinome hépatocellulaire). L'évolution silencieuse de la maladie et la fréquence élevée de passage à la chronicité explique l'existence d'un grand réservoir de sujets infectés (Alter, 1995).

I.3 Agent pathogène

C'est en 1989 que l'utilisation des techniques de biologie moléculaire permis l'identification du virus de l'hépatite C (HCV) responsable de la majorité des hépatites non A – non B à transmission parentérale et des hépatopathies considérés comme oryptogénétiques (Larousse de santé, 1999).

La particularité du travail réalisé par une équipe de la société américaine CHIRON, est que le génome virale a été isolé, et séquencé, avant le virus lui-même (Alter, 1995).

I.3.1 La structure de l'hépatite C

I.3.1.1 La structure de virions

C'est un virus de petite taille constitué de 3 éléments, de l'extérieur vers l'intérieure (Figure1).

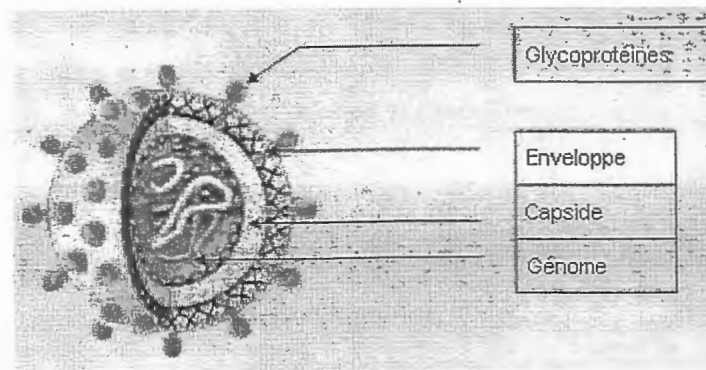


Figure1 : Le virus de l'hépatite C (Lindonbach., et al ,2005).

1 Une enveloppe

Qui contient 2 types des glycoprotéines (protéines liées à un sucre) E1 et E2, servant au virus pour se fixer sur les cellules du foie avant d'y pénétrer.

2 Une capsidie protéique

(Coque constituée des protéines) qui permet de protéger le génome de l'extérieur.

3 Une partie génétique

(Le génome) constituée d'ARN (acide désoxyribonucléique) peut varier. Les variations du génome sont classées en sous-groupes, les « génotypes » (types de génomes) numérotés de 1 à 6.

I.3.1.2 Structure du génome

Le génome du VHC est constitué d'un ARN monocaténaire, de polarité positive, d'une taille de 9600 nucléotides environ.

Les régions non codantes situées aux extrémités 5' e 3' du génome encadrent une phase de lecture majeure qui code pour une poly-protéine de 3000 acides aminés environ et une autre mineure obtenue par décalage du cadre de lecture et codant une protéine F encore mal décrite.

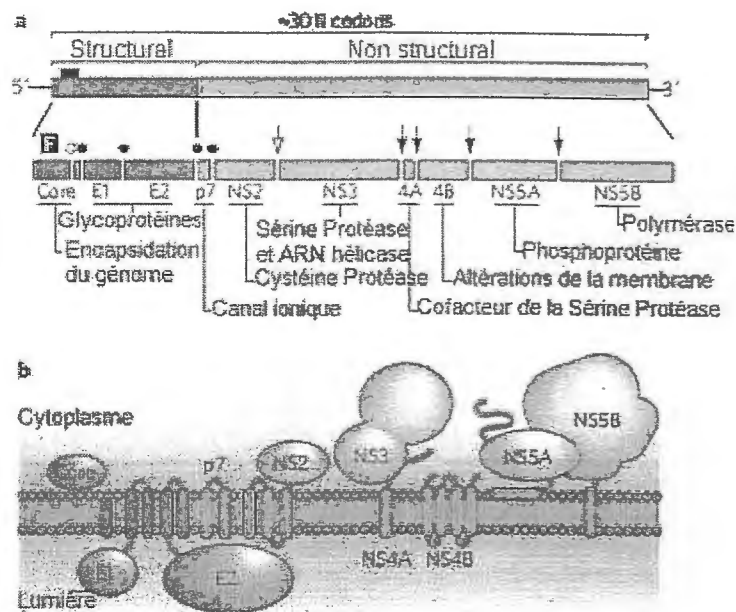


Figure2 : organisation du génome viral (a) et représentation du clivage de la polyprotéine (b). (Lindenbach., et al, 2005).

La poly protéine majeur schématisée dans la figure 2.a est clivée sur plusieurs sites par de signal – peptides cellulaires (●) ou la peptides du peptide signal (○), par le complexe NS3-NS4A (▼) ou par clivage auto catalytique de NS2 – NS3 (▽). La figure 2.b représente la poly protéine une fois clivée sur la membrane du R.E (Branch., et al, 2005).

I.3.2 Classification

Le virus de l'hépatite C est classé parmi les flavivirus qui sont des virus enveloppés avec un génome qui est un ARN (Bricout.1998).

Sa structure, son organisation génomique, son cycle de réplication sont similaires à ceux des membres de la famille de Flaviviridae, mais tout fois suffisamment distinctes pour mériter une classification spécifique (Enomato., et al, 1995).

I.4 Transmission

I.4.1 Principes biologiques de la transmission

La transmission du VHC nécessite un contact entre le virion et les cellules susceptibles de permettre la réplication. Malgré les techniques disponibles, il est difficile de déterminer précisément le type d'organe ou de cellule pouvant accueillir le virus. L'ARN viral a toute fois été détecté dans le sang, la salive, les larmes, le liquide séminale, l'ascite et le LCR (Vrielingh., et al, 1995).

I.4.2 Modes de transmission

Le véhicule essentiel de la transmission du VHC est le sang. En effet, le VHC se transmet principalement par voie parentérale : transfusionnelle ou non (Vrielingh., et al, 1995)

I.4.2.1 Transmission parentérale transfusionnelle

Avant le dépistage par les testes sérologiques, l'incidence des hépatites C post-transfusionnelles était supérieure à 5%. Le risque d'hépatite C post-transfusionnelle est devenu bien inférieur à 0,5% de puis l'élimination des donneurs anti-VHC positifs. Ce risque résiduel d'hépatite C post-transfusionnelle peut être lié aux donneurs à la phase sérologiquement muette (Vrielingh., et al, 1995).

I.4.2.2 Transmission parentérale non transfusionnelle

La toxicomanie

Est le principal mode de transmission parentérale non transfusionnelle : 70 à 90% des toxicomanes sont anti-VHC positifs.

Les hémodialysés

Ils représentent un autre groupe à risque plus du quart d'entre eux seraient anti-VHC positifs.

La transmission sexuelle

Actuellement elle est considérée comme nulle ou épidémiologiquement négligeable. Le risque potentiel est extrêmement faible, sans commune mesure avec la même transmission bien établie pour le VHB. Cependant, un nombre important de partenaires sexuels et l'homosexualité augmentent ce risque.

La transmission de la mère à l'enfant

Semble extrêmement faible en dehors d'une virémie élevée et / ou d'une confection avec le VIH. D'ailleurs, le dépistage systématique de l'infection par le VHC chez les femmes enceintes n'est pas indiquée (Bezzaoucha ,2004).

I.5 Evolution

Histoire naturelle de l'infection virale C est caractérisée par une hépatite aiguë survenant 5 à 45 jours après la rencontre avec le virus puis, le risque principale est l'évolution vers la chronicité observée chez 70 à 80% des patients, cela signifie qu'environ 20-30% des patients vont guérir spontanément, et aussi le risque de l'hépatite chronique C est l'évolution vers la cirrhose dans 20% des cas, la cirrhose elle-même expose à ses propres complications d'hypertension portal, insuffisance hépatocellulaire, qu'à la survenue du carcinome hépatocellulaire avec une incidence annuelle de 3 à 5% à partir de la constitution de la cirrhose (Figure3) (Pol ., et al, 1998).

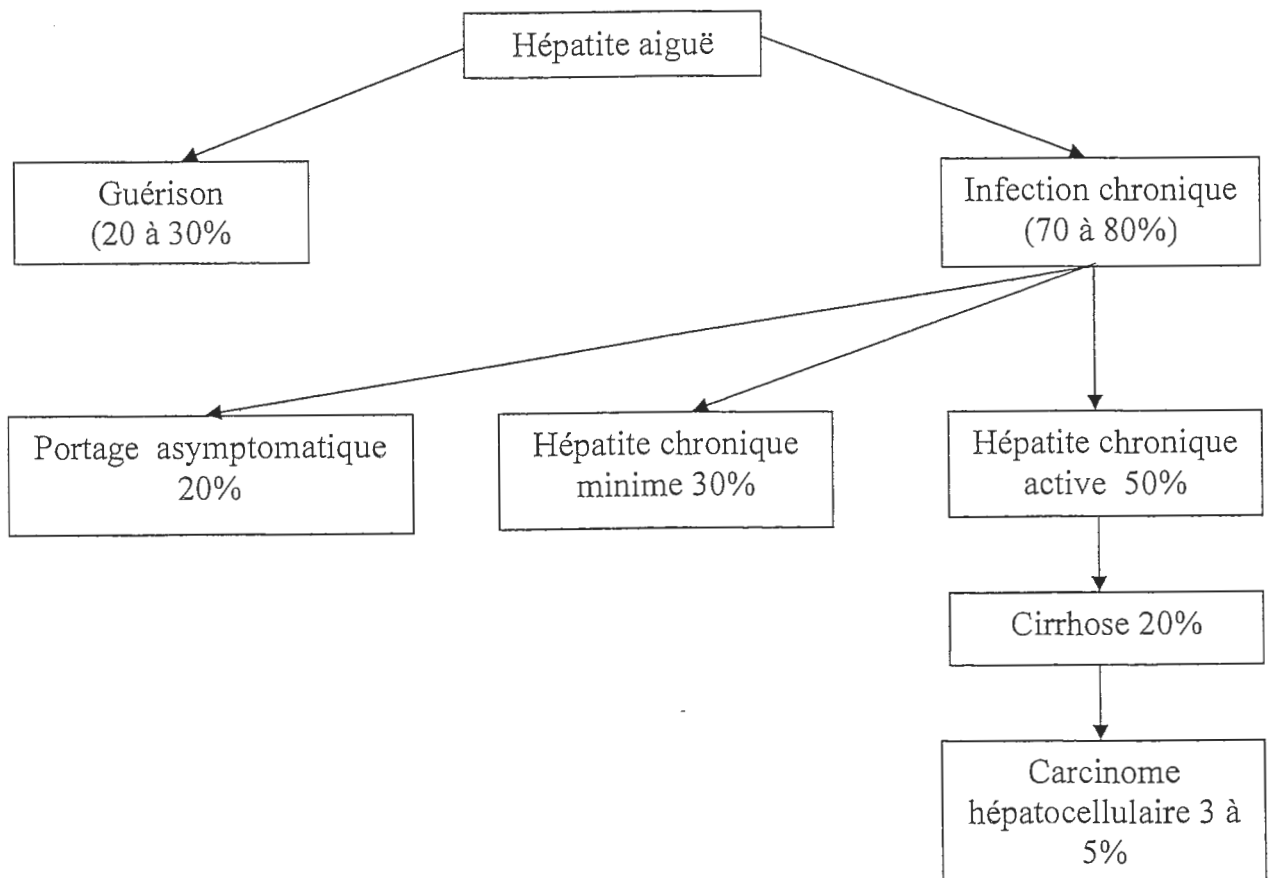


Figure3 : Résumé de l'histoire naturelle de l'infection virale C. (Belataf, 2002).

I.6 Cycle viral

Si on se base sur un cycle cellulaire « idéal » représenté par la fig.04, la particule virale enveloppée des protéines de surface E₁ et E₂ interagit avec des récepteurs membranaires spécifiques. La fusion entre les membranes cellulaires et virales, probablement déclenchée par une baisse de pH après que le virus soit fixé via E1 et E2 sur un / des récepteurs. La particule est décapsidée et l'ARN est traduit, probablement par des ribosomes associés au RE. Après maturation des protéines, la réplication de l'ARN peut avoir lieu. Le processus de réplication est similaire à celui observé chez les flavivirus avec synthèse d'un ARN négatif qui sert de matrice puis de la réplication à proprement parler de l'ARN.

Le virion est ensuite assemblé au niveau du RE et les particules virales vont transiter par l'appareil de Golgi, subissant des modifications au niveau des protéines de surface.

Les nouveaux virions sont au final libérés, sans lyse cellulaire, à la différence d'autres virus qui sont cytopathiques (Branch., et al, 2005).

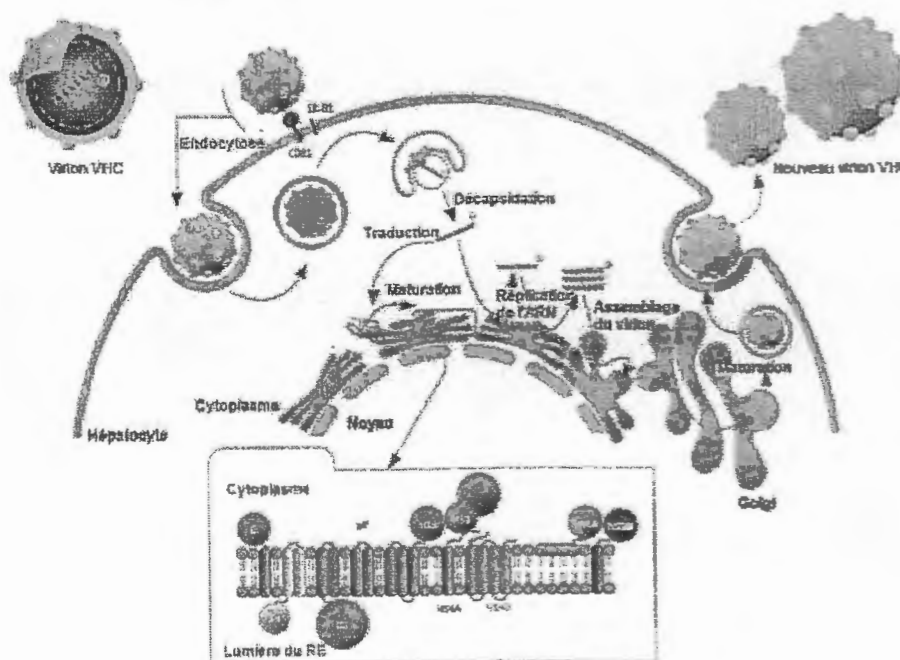


Figure 4 : Cycle cellulaire du VHC (Lindebach., et al, 2005)

I.7 Symptômes et principales formes cliniques

I.7.1 Hépatite aiguë

L'hépatite C aiguë peut se manifester par une sensation de malaise, des nausées, des douleurs au niveau de l'hépatocentre droit, suivie par l'apparition d'un ictère,

souvent discret, associé à la présence d'urines foncées. La période d'incubation est d'environ sept semaines. Le RNA viral peut être détecté dans le sang dès la deuxième semaine après l'exposition et peut être suivie par une élévation des transaminases hépatiques.

Les symptômes clinique et le taux d'élévation des transaminases sont généralement moins sévères par rapport aux infections aiguës par le virus de l'hépatite A ou B (Pol., et al, 1998).

I.7.2 Hépatite C chronique

Environ 85% des personnes qui présentent une hépatite C aiguë auront une persistance de leur virémie, comme décrit plus haut. Ainsi bien qu'un cas sur six d'hépatite virale aiguë symptomatique soit dû à une infection par le VHC, le virus de l'hépatite C est la cause infectieuse principale d'hépatopathies chronique, les individus infectés chroniquement par le VHC sont rarement symptomatique, et s'ils le sont, ils ne présentent généralement que des symptômes banaux de type malaise ou fatigue (Pol., et al, 1998).

I.7.3 Complication des hépatites virales chroniques

I.7.3.1 Cirrhose

Constitue l'évolution néfaste d'environ 20% des hépatites virales. Ensuite anatomique souvent la tente et asymptomatique, elle est par fois compliquée (hypertension portale, hémorragie par rupture de varices oesophagiennes, ascite) et d'insuffisance hépatocellulaire (asterixis, ascite, ictère, sensibilité aux infections) ainsi qu'à la survenue du carcinome hépatocellulaire avec une incidence annuelle de 3 à 5% à partir de la constitution de la cirrhose (Pol., et al, 1998).

I.7.3.2 Carcinome hépatocellulaire

Certains carcinomes hépatocellulaires sont observés, avec ou sans cirrhose, chez des patients n'ayant pas d'Ag HBs détectable, suggérant l'intervention d'autre virus que le virus de l'hépatite B tel que : HCV qui pourrait favoriser l'émergence de carcinomes hépatocellulaires par des mécanismes différents, en fait, des AC dirigés contre le VHC sont présents plus fréquemment dans la population concernée (30 à 70%) que dans la population générale (1%) en l'absence d'Ag HBs (Pol., et al, 1998).

Chapitre II



Diagnostic

Depuis 1989, date de la découverte de virus de l'hépatite C (VHC), les méthodes de diagnostic est nettement progressés au cour du temps (Choo., et al, 1989).

Pour l'indentification d'antigènes du VHC seuls les AC anti-VHC peuvent être aisément détectés par les tests Elisa (enzyme-linked immuno sorbent assay) ou les immuno -blots.

Le diagnostic d'une infection active par le VHC repose seulement sur l'identification de l'ARN virale par la RCR (polymérase Chain réaction) qui n'est pas indispensable à la présence des AC anti-VHC associée à une hyper transaminasémie (Choo., et al ,1989).

II.1 Diagnostic clinique

II.1.1. Diagnostic d'hépatite aiguë

La plupart des formes sont asymptomatiques sur le plan clinique. L'infection aiguë par le VHC se caractérise souvent par une élévation des transaminases (5 à 10 fois la normale), hypertansaminasémie souvient dès la période prè-inctérique où elle est souvent maximale, la bilirubinémie vrais évidemment en fonction de l'ictère, mais ne dépasse que rarement ($200\mu\text{mol/l}$) et porte essentiellement sur la fraction conjuguée.

Les phosphates alcalines sont normales où modérément élevées (moins de 2 fois la valeur supérieure des normales) (Pol., et al, 1998).

II.1.2 Diagnostic d'hépatite chronique

L'examen clinique au stade d'hépatite chronique est le plus souvent normal.

Les déficiences biologiques sont les suivantes :

- Elévation des transaminases habituellement modérées, avec un rapport ALAT/ASAT supérieur à 1 (Tillois, 1997).

Parmi les sujets ayant une infection chronique par le VHC :

- Hépatites chroniques à ALAT normales : concernent une moyenne 25% des hépatites chroniques C, patients identifiés à l'occasion d'un dépistage systématique : asymptomatique.
- Hépatites chroniques à ALAT élevés :



- 75% des hépatites chroniques C, patients souvent symptomatiques (Asthénie : signe peu spécifique) deux sous groupes individualisables selon l'histologie :
- 50% hépatite minime, 50% hépatite modérée à sévère (active) évolue une cirrhose où un carcinome hépatique (Micoud, 1995).

II.2 Diagnostic sérologique

Toutes les protéines recombinantes où les peptides de synthèse correspondantes aux séquences présumées les plus immunogènes constituent la base des tests visant à une réactivité maximale avec les sérums de sujets infectés (Eygmont., et al ,1998).

Depuis la découverte du virus, plusieurs tests assuraient leur utilisation, certains d'entre eux sont plus commercialisés et faciles à pratiquer, ces tests basent sur des principes immunologiques : immuno enzymatique (Merçellin, 1996).

II.2.1 Dépistage

Test Elisa

Abréviation de enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. Test Sérologique utilisé pour le dosage d'AC (anticorps) de virus où de bactéries. Cette technique de AC de nombreuses maladies : SIDA, peste, staphylococcus aureus (doré), hépatites etc...

L'antigène est adsorbé sur une phase solide et l'anticorps à doser est ajouté, puis révélé par la protéine G (qui se lie aux IgG) couplée à une enzyme (David, 1999).

a /Type sandwich

Le sérum est mis en contact avec un support où sont présents des Ag (antigènes) spécifiques. Il se forme alors des complexes AG-AC. On fait ensuite agir une immunoglobuline associée à une enzyme permettant la mise en évidence (Letonturier, 1998).

b/ Type compétition

Les antigènes viraux fixés sont des protéines de l'enveloppe où de la capsid de VHC. On ajoute ensuite le sérum à tester, provenant du patient. Si les sérums contiennent des anticorps, ils vont se fixer sur les antigènes viraux marqués par une enzyme qui va permettre de faire une réaction colorimétrique (David, 1999).

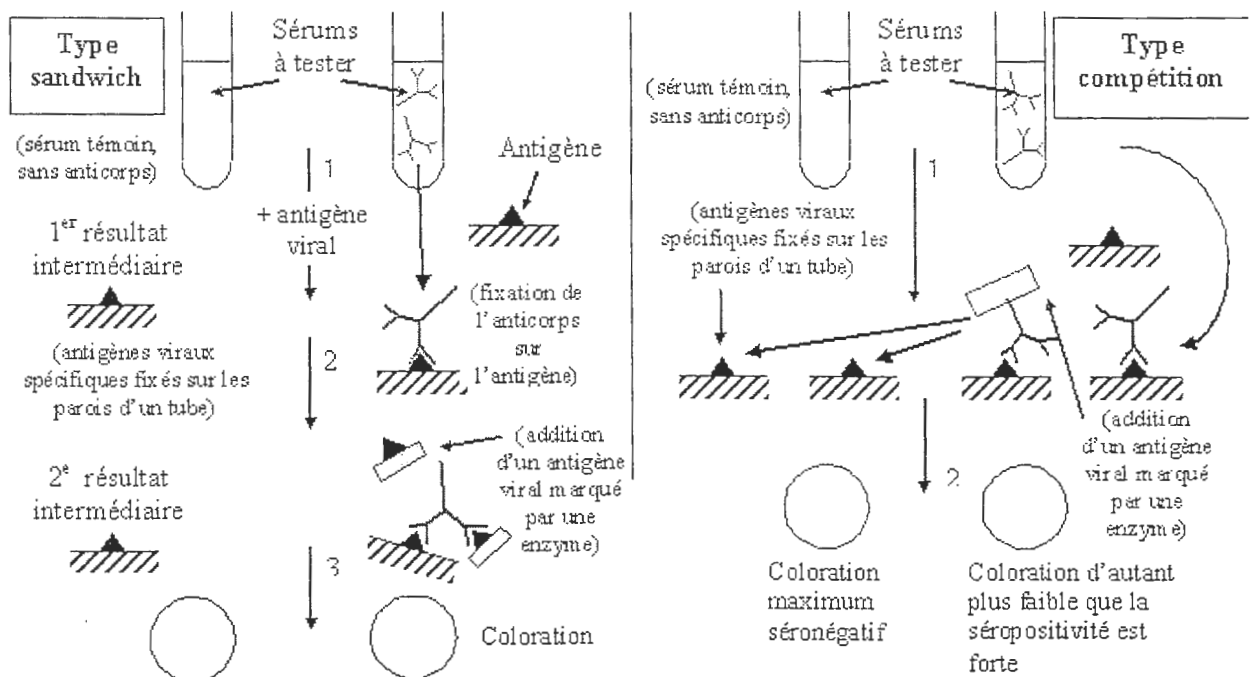


Figure 5 : Technique d'Immunomarquage : test ELISA. (Colin., et al, 2001).

c/ Interprétation du test

Tout résultat positif ou douteux devra être confirmé sur un deuxième prélèvement soit par un test direct soit, préférable dans le cadre d'un dépistage systématique, mais avec un autre réactif.

Si le deuxième prélèvement est positif, la PCR VHC pourra être réalisée sur ce deuxième sérum (Colin., et al, 2001).

II.2.2 Les tests de confirmation

II.2.2.1 Test Riba : (Recombinant immunoblot assay)

Ces tests permettent de préciser le profil des anticorps anti-VHC dirigés contre différents antigènes du VHC par une technique d'immunoblot.

Il s'agit d'une membrane de nitrocellulose sur laquelle sont déposés des peptides de synthèse représentatif du VHC et sur laquelle on fait réagir le sérum.

Les tests RIBA sont actuellement de troisième génération et testent 4 protéines (en général protéine de capside ou du core et 3 protéines non structurales).

Ces tests ont une meilleure spécificité que les tests ELISA. En pratique un test RIBA sera demandé en cas de test de dépistage ELISA douteux (Pol., et al, 1998).

Principe

Le principe de RIBA est basé sur la recherche des anticorps anti-NS3 et anti-NS5, des antigènes recombinant (C33 et NS5) produit par fusion du gène du VHC correspondant, avec le gène du super oxyde dismutase (SOD).

La présence sur chacun des bandelettes de la SOD permet de contrôler la spécificité des réactions.

Sur chaque bandelette, deux témoins d'intensité de réaction (forte coté 3+ et faible coté 1+) permettent d'apprécier la réactivité qui peut aller de 1+ à 4+ (Conroncé., et al, 1997).

Interprétation du test

Trois types de résultats sont possibles :

Négatif – indéterminé – positif.

-Riba négative

La négativité d'un test Riba correspond soit à l'absence de réactivité, soit à une ou plusieurs réactivités inférieures à 1+.

-Riba indéterminé

Est considéré comme tout résultat correspondant à une réactivité isolée, ou à une activité anti-SOD associée à une ou plusieurs réactivités (Giuberti., et al, 1992).

-Riba positif

Une sérologie est considérée Riba positif si des anticorps sont dirigés contre au moins deux spécificité antigénique d'intensité au moins égale à 1+ (Lok., et al, 1997).

II.2.2.2 L'immunotransfert

C'est une technique immunologique utilisée au laboratoire de microbiologie clinique, cette technique comprend une électrophorèse en gel de polyacrylamide d'un échantillon protéique, suivie du transfert des protéines séparées sur une membrane de nitrocellulose, les bandes protéiques sont alors visualisées en traitant les membranes avec des solutions d'anticorps couplé à une enzyme (Letonturier, 1998).

II.2.3 L'amplification génique PCR

La PCR est une technique d'amplification génique, c'est-à-dire qu'elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement (Lunel., et al, 1995).

Principe de la PCR :

Le principe de la PCR consiste à utiliser, de manière répétitive, l'une des propriétés des ADN polymérases : celle de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce (Primos., et al, 2004).

La réaction

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Dénaturation
- Hybridation
- Elongation

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Ces cycles de températures sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur.

1 Dénaturation

Le tube est chauffé quelques secondes à 94°C, les doubles brins d'ADN se séparent.

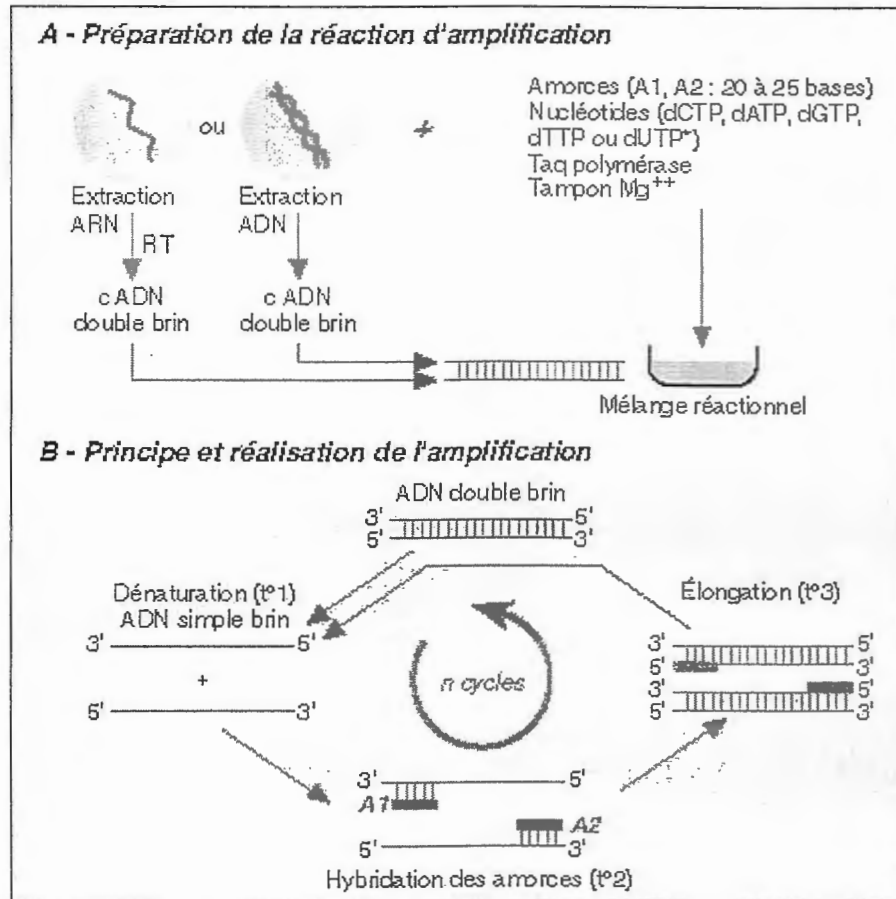
2 Hybridation

La température est rapidement abaissée à 55°C. Les amorces reconnaissent leur séquence complémentaire sur les brins d'ADN cibles. Elles s'hybrident chacune sur leur brin respectif.

3 Elongation

La température de tube est ensuite augmentée à 72°C, ce qui permet à la Taq PCR d'ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5' vers 3' (Primos.,et al, 2004).

Un nouveau brin d'ADN, dont la séquence est complémentaire de celle du brin cible, vient d'être synthétisé.



**Figur6 : Amplification enzymatique de la cible par polymérase chaîne réaction (PCR).
(Conroncé., et al ,1997).**

Transcriptase inverse et amplification par PCR

Dans les tests multiplex utilisant une réaction conventionnelle de type (RT)-PCR, les produits amplifiés sont détectés et identifiés selon leur taille après migration par électrophorèse dans un gel d'agarose(Caudai.,et al,1998 ; Cleland.,et al, 2001). La détection des produits d'une première amplification a été rendue plus efficace par l'utilisation de son des oligonucléotidiques d'hybridation associée à différentes méthodes de marquage et de détection des produits d'hybridation.

Les tests utilisant cette méthodologie sont classés en deux groupes en fonction du type de signal d'amplification produit.

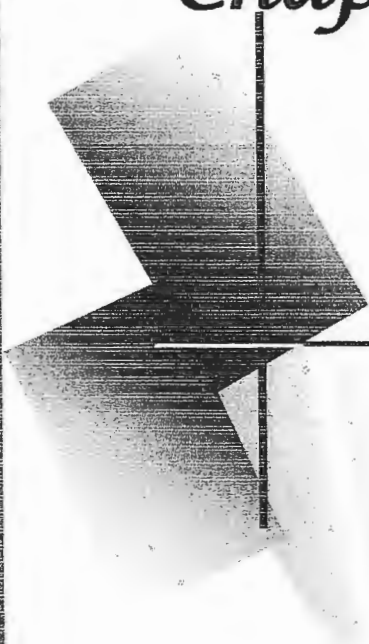
Le premier groupe comprend les tests multiplex générant un signal unique, tels que les tests utilisant des sondes oligonucléotidiques marquées à la biotine à leur extrémité 5' et un système de détection en type PCR ELISA (Adami.,et al, 2004).

Une détection fluorométrique (Abravaya., et al, 2000), des sondes des chimioluminescentes pour la détection de produit amplifiés par transcription (Candotti .,et al,2003 ; Kappelman.,et al,2005), et des sondes fluorescentes de type taqman (Sondes doublement manquées par un rapporteur en 5' et un bloqueur en 3) associées à une PCR en temps réel utilisant une ADN polymérase ayant une activité nucléasique (Meng .,et al, 2001).

Le second groupe est constitué de tests permettant la détection simultanée et l'identification immédiate d'ADN/ARN viraux amplifiés dans une réaction multiple. Les produits amplifiés peuvent être directement identifiés par une technique d'hybridation sur microsphères utilisant un cytomètre de flux (Defoot ., et al, 2000). Ce procédé implique des étapes d'amplification et de détections séparées qui s'avèrent compliquées et longues.

Chapitre III

Les traitements



Face à l'évolution potentiellement grave de l'infection à VHC, il est logique de proposer un traitement qui sera pour éviter l'évolution vers l'insuffisance hépatocellulaire et la transformation maligne, le second objectif d'un traitement antiviral efficace sera de diminuer le nombre de porteurs potentiellement contaminants et de diminuer ainsi l'incidence des nouveaux cas (Pol., et al ,1998).

Le but d'un traitement dans le cas des hépatites chroniques C est d'arrêter la multiplication du virus et mieux, d'obtenir son éradication totale. Seul cet arrêt ou cette éradication permettra de stopper l'activité de la maladie, de la stabiliser et de faire régresser les lésions hépatiques et éviter ainsi l'évolution vers la cirrhose et le cancer primitif du foie. De plus, traiter le maximum de personnes pour stopper l'épidémie (Michèle, 2001).

III.1 Les médicaments

Le traitement permettant de lutter contre l'hépatite C est :

III.1.1 L'interféron

Les interférons sont des substances glycoprotidiques produites par les cellules infectées par les virus est qui participent au mécanisme de défense. Il est donc logique d'envisager l'utilisation de substances analogues produites par génie génétique (interférons recombinant) pour le traitement de certaines infections virales.

On distingue 3 interférons : alpha, bêta et gamma : l'interféron alpha est le seul à voir actuellement des indications au cours d'infections virales, principalement les hépatites B, C et delta (Hoofangle, 1997).

Mécanisme d'action

L'interféron- α appartient à un groupe hétérogène de cytokines..., exprimées en réponse à une infection virale. Responsables de l'expression de multiples gènes possédant une activité anti-virale et proliférative.

Schématiquement (figure7). Ce système inclut d'une part des cellules que synthétisent de l'IFN en réponse à un stimulus extérieur comme une infection virale, et d'autre part des cellules qui répondent à l'IFN en établissant un état antiviral (Pestka.,et al,1987 ; Stark., et al, 1998). Les virus animaux sont en général des inducteurs de l'IFN

mais sont aussi sensibles à l'action antivirale de ceux-ci ; dans certains cas, ils peuvent coder des protéines capables de lutter contre les réponses antivirales de l'IFN.

Les interférons représentent la réponse précoce de l'hôte qui a lieu avant toute réponse immunitaire spécifique. Ils affectent de nombreux processus incluant la régulation de la croissance cellulaire, la différenciation, l'apoptose et la modulation de la réponse immune (Samuel, 2001).

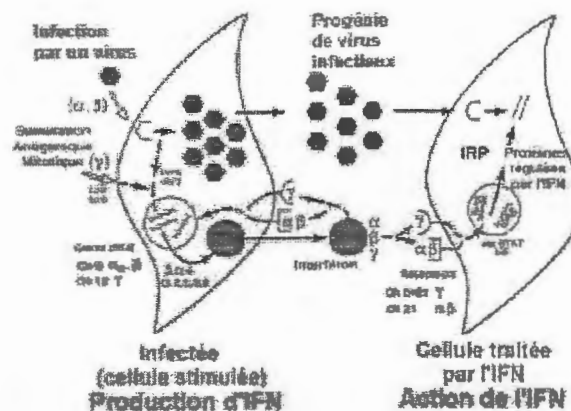


Figure 7 : Résumé schématique du système INF. (Samuel, 2001).

Efficacité

L'interféron alpha, dont l'efficacité a été mise en évidence dès 1996, reste le traitement de base de l'hépatite chronique C. sa prescription varie en fonction du degré d'infection du foie et de la santé du malade (Michèle, 2001).

L'impact à long terme de ce traitement sur la lente évolution de l'hépatite C chronique est actuellement difficile d'évaluer toute fois, il a été suggéré, que le traitement par IFN- α réduisait l'incidence de survenue d'un carcinome hépatocellulaire, ainsi que le risque de développer une décompensation chez les patients cirrhotiques (Michél, 2001).

Les contres indications à l'utilisation de l'interféron

Toxicomanie, maladie grave associée (cancer, sida non stabilisé) dépression endogène grave (le risque majeur de l'interféron est le suicide), alcoolisme, cardiopathie sévère, manifestations auto-immunes : hépatites auto-immunes et thyroïdite auto-immune, insuffisance rénale, grossesse, épilepsie mal contrôlée (Michèle, 2001).

Les effets secondaires

- Ces effets sont nombreux et varient suivant les malades :
- Des troubles grippaux et une aggravation de la fatigue ainsi que les risques de suicide (Michèle, 2001).
- Des troubles digestifs à types de nausées voire des diarrhées et des troubles thymiques.
- Des états d'asthénie (fatigue) (Pol., et al, 1998).

III.1.2 Ribavirine

La ribavirine est un antiviral à large spectre, analogue de la guanosine, possédant une haute biodisponibilité lors qu'elle est administrée par voie orale. Le mécanisme précis de son action anti-viral est coutroversée, mais l'on sait que la ribavirine est un inhibiteur de l'inosine monophosphate déshydrogénase cellulaire (Hall., et al, 1983).

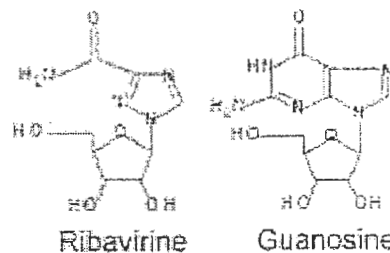


Figure8 : Structures chimiques de la ribavirine et de la guanosine. (Hall., et al, 1983).

Mécanisme d'action

L'action antivirale de ribavirine est complexe et demeure controversée. A ce jour, quatre mécanismes principaux d'action ont été proposés et sont résumés dans la (figure9).

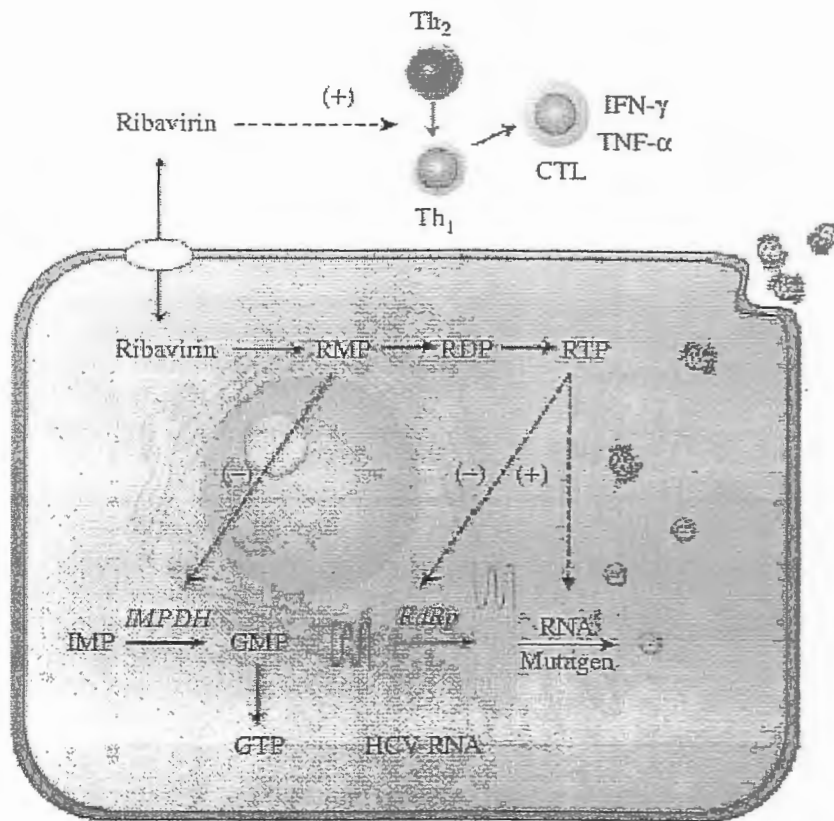


Figure 9 : Mode d'action possibles de la ribavirine dans les traitements contre VHC.
(Gish, 2005).

a/ Une action immunomodulatrice

Plusieurs travaux ont montré que, lors d'une infection par HCV, une réponse immunitaire de type TH1 favorise l'élimination du virus, tandis qu'une réponse de type TH2 favorise l'évolution en infection chronique. La ribavirine pourrait modifier la balance TH1/TH2 en favorisant une réponse TH1, augmentant ainsi l'efficacité du traitement, mais ces mécanismes sont encore mal connus (Gish, 2005).

b/ Action de la ribavirine sur l'IMPDH

La forme monophosphorylée de la ribavirine est un inhibiteur de l'IMPDH, qui contribue à la formation du GTP nécessaire à la synthèse de l'ARN viral. Cet effet ne semble cependant pas non plus être l'action majeure de la ribavirine.

c/ La ribavirine : Inhibiteur direct de la réplication du VHC

La ribavirine est phosphorylée dans les cellules ; la forme triphosphate est

incorporée par l'ARN polymérase ARN- dépendante de HCV face à des cytosines ou uridines, ce qui bloque l'élongation de l'ARN (Gish, 2005) .

Cependant, cet effet n'a été montré que pour des concentrations de ribavirine beaucoup plus fortes (50 à 150 μ M) que celles utilisées dans les traitements (environ 10 μ M) (Feld., et al, 2005). La ribavirine pourrait donc avoir un faible effet inhibiteur sur la réplication de HCV lors des traitements, mais ce n'est probablement pas le mécanisme d'action principal.

d/ Augmentation de la fréquence de mutations du génome HCV

La ribavirine augmente la fréquence de mutations lors de la réplication de HCV (in vitro). Ceci pourrait mener à la formation de particules virales non infectieuses (car contenant un génome non fonctionnel). Cependant, cette hypothèse n'a pas été confirmée in vivo chez des patients HCV (Feld., et al, 2001).

Efficacité

La rabavirine pourrait avoir 4 effets complémentaires :

- Favoriser la réponse immunitaire de type TH1.
- Inhiber l'IMPDH (inosine-monophosphate – déshydrogénase) menant à des quantités limitantes de GTP.
- Inhiber l'ARN polymérase de HCV.
- Augmenter le taux de mutations lors de la réplication du HCV (Gish, 2005 ;Lindahle.,et al,2005).

Les contres indications

- Une sensibilité connue à la ribavirine.
- La grossesse et l'allaitement.
- Une hémopathie de type thalassémie ou dréponocytose.
- Des antécédents cardio-vasculaires sévères sauf si ceux-ci sont bien corrigés.
- Une insuffisance de fonctionnement rénal chronique.
- Une clairance de la créatinine inférieure à 50 ml/mn (Michele, 2001).

Les effets secondaires

- Le principal effet secondaire de la ribavirine se caractérise par la survenue d'une anémie (diminution des globules rouges).
- Un inconfort abdominal spontanément résolutif malgré la poursuite du traitement.
- Une hyperuricémie asymptomatique (Pol., et al, 1998).

III.1.3 Les autres molécules

Le développement de la recherche pharmaceutique pour le traitement de l'infection à VIH a permis des progrès révolutionnaires pour le traitement des hépatites virales y compris l'infection VHC, certaines molécules ont été récemment développées tels que :

- Corticoïdes : jusqu'aujourd'hui, elles n'ont pas démontré d'efficacité dans le traitement des hépatites non A – non B.
- L'acyclovir : à lui aussi, été testé sans succès au cours des hépatites non A – non B, avant la découverte du VHC (Pol., et al, 1998).

III.1.4 Les associations thérapeutiques

La combinaison ribavirine-interféron conserve l'interféron à des doses souvent plus importantes (traitement par induction) et y ajoute la ribavirine. Elle se présente sous forme de gélules à 200mg.

La posologie recommandée est comprise entre 1000 et 2000mg/jour en 2 prises, soit 5 à 6 comprimés par jour selon le poids et la tolérance.

Les grands essais ont démontré une nette supériorité de la combinaison ribavirine-interféron par rapport à l'interféron en mono-thérapie, du fait, l'ensemble des résultats obtenus suggère que la combinaison améliore les chances d'obtention d'une réponse biologique (47%) ou virologique à long terme comparée à l'IFN (25%) ou ribavirine (0%) seule cette molécule permet également d'améliorer un peu le taux de réponse chez les patients non répondeurs mais surtout, elle permet nettement la diminution du nombre de rechute cytolytiques à l'arrêt du traitement.

Les autres associations proposées (acide ursodésoxy cholique – IFN) n'ont pas la preuve de leur efficacité et demandent à être confirmées (Michèle, 2001).

Efficacité

L'association de l'interféron et de la ribavirine permet une guérison dans 40 à 45% des cas.

Le cas de l'hépatite C est donc différent de celui de la plupart des maladies chroniques dont le traitement n'a pas d'efficacité que pendant la période durant laquelle il est administré : c'est par exemple, le cas du traitement de l'hypertension artérielle et du diabète quand une recherche du virus C par PCR est négative six mois après l'arrêt du traitement, ce résultat peut être considéré comme une guérison.

En effet, dans ce cas, la probabilité d'une disparition durable du virus est de 95% (Michèle, 2001).

Les contres indications

Ce sont les mêmes que celles de l'interféron auxquelles il faut ajouter : Une anémie hémolytique dans 20 à 30% des cas, l'accident athéromateux, l'insuffisance rénale et la grossesse en raison de son effet tératogène (malformations du fœtus) chez l'animal.

Effets secondaires

Ils sont similaires à ceux de la monothérapie par interféron à l'exception des nausées, de la dyspnée, du prurit, des rashes, de l'amorescie et de l'insomnie qui sont plus fréquents.

Tableau I : Effets indésirables liés au traitemen. (Michèle, 2001).

Manifestation	Ribavirine+interféron 48 semaines	Interféron seul 48 semaines
Syndrome psemdo-grippal		
* Céphalées	55%	57%
* Fatigue on asthénie	54%	55%
* Myalgies	44%	50%
* Arthralgies	25%	28%
* Fièvre	34%	35
Symptômes gastro-intestinaux		
* Anorexie	22%	16%
* Nausées	34%	23%
* Diarrhée	16%	18
Symptômes psychiatriques		
* Dépression	29%	25%
* Insomnie	35%	24%
Symptômes respirateurs		
* Toux	9%	7%
* Dyspnée	13%	8%
* Pharyngite	11%	69%
Symptômes dermatologiques		
* Alopécis	29%	30%
* Rash et prurit	21%	9%

Ils sont plus marqués que lors d'une mono-thérapie surtout chez les malades atteints de cirrhose (Michèle, 2001).

III.2 Indications thérapeutiques

III.2.1 Traitement de l'hépatite C aiguë

Des résultats encourageants du traitement de l'hépatite aiguë C par l'IFN- α en monothérapie a été récemment publiés (Jaeckel., et al, 2001). Le schéma thérapeutique optimal n'est cependant pas connu et aucune recommandation ne peut être faite (Hoofnogle, et al, 2001).

Quelles que soient la posologie et la durée du traitement, la réponse virologique doit être évaluée à la fin du traitement et 24 semaines plus tard. L'absence d'ARN viral à distance du traitement suggère la guérison de l'infection (Pol., et al ,1998).

III.2.2 Traitement de l'hépatite C chronique

Il existe trois types de traitement :

2.1. Un traitement qu'associé l'interféron à la ribavirine est toujours proposé en première intention pour deux modalités différentes.

2.1.1. IFN peg α -2b (1,5 mg/kg/semaine) par voie sous-cutanée + ribavirine (800 mg/j au dessous de 65kg, 1000 mg/j entre 65 et 85kg et 1200 mg/j au delà par voie orale.

2.1.2. IFN peg α -2a (180 mg/semaine sans adaptation au poids par voie sous-cutanée + ribavirine (800 mg/j au dessous de 65kg, 100 mg/j entre 65 et 80 kg et 1200mg/j au-delà) par voie orale (Pelly, 2004).

2.2. Si toute fois il y a des contre – indications à la ribavirine, l'interféron pégyle seul est proposés à 3 MU, 3 fois/semaine par voie sous-cutanée pour une durée de 6 mois (Pol.,et al, 1998).

2.3. Quand il existe une contre-indication à l'interféron pégylé, le patient absorbé uniquement la ribavirine à la dose 0,5 mg/kg/semaine (Micoud, 1995).

Quand il existe une infection associée (virus HIV + VCV les règles de prescription son identiques chez les personnes qui ne sont pas atteints par le virus VIH.

L'utilisation d'interféron alpha pégylé (IFN-PEG) a permis plus récemment d'obtenir un pourcentage du succès plus important. L'interféron PEG correspond au branchement d'une chaîne de polyéthylène Glycol (PEG) sur la molécule d'interféron alpha, ce qui a pour principal effet de permettre une concentration plasmatique d'IFN plus stable et plus prolongée couvrant toute la semaine entre deux administrations (Micoud, 1995).

III.3 La réponse au traitement

De nombreux travaux ont comparé des modalités thérapeutiques voisines, elles montrent que la réponse à l'interféron apparaît en général dès le premier mois de traitement mais à certains

nombre qu'on au 3^{ème} mois, c'est une réponse complète qui est observée chez les 50% des patients.

Les sujets non répondeurs sont ceux qui n'ont pas de négativation de l'ARN-VHC sous traitement et normalisation des transaminases, on parle alors d'une réponse transitoire.

Chez les patients répondeurs complet, on observe une diminution ségnificative. La présence des IgM anti-VHC parait bien corrélée à la cytolyse et à l'activité histologique.

Aussi, on peut remarquer que la réduction de la réplication virale détectée par PCR quantitative est retrouvée chez les patients répondeurs partiels ou jusqu'au nulle (Micond, 1995).

On observe une amélioration des lésions histologiques hépatiques corpélée à dose d'interféron reçue et à la réponse biologique mais que ne se limite pas aux patients ayant normalisé leur transaminases.

III.4 Surveillance sous traitement

Les transaminases sont les variables qu'ils sont faciles à contrôler de façon répétitives, sont les plus souvent utilisées pour apprécier l'efficacité thérapeutique au cours du traitement et de façon moindre les anticorps, les critères histologiques et la virémie par PCR.

Un deuxième contrôle se réalise permet de chercher des éventuels effets secondaires du traitement, de manifestations extra hépatiques diagnostiquées avant la prise en charge thérapeutique et la tolérance du traitement, les dysthyroidies observées lors des traitements suggérant une participation possible de virus dans leur apparition, ce qui implique un dépistage de complications thyroïdiennes tous les 03 mois (Pol., et al, 1998).

III.5 Prophylaxie

D'abord, il faut savoir qu'il n'y aucun risque de transmission par la salive, la toux, la sueur et le contact physique.

Les endoscopes doivent être totalement nettoyées soigneusement, les pinces a biopsie doivent être à usage unique où stérilisées à l'autoclave (Hadjam, 2003).

La présentation de la transmission du VHC chez les toxicomanes repose sur le sevrage, la substitution (Pelly, 2004).

La personne infectée pour le VHC doit prescrire l'utilisation partagée de tous objet de toilette : rasoir, brosse à dent... etc.

III.6 Perspective thérapeutique

Les axes de recherche de traitements contre VHC concernant plusieurs types de molécules : inhibiteurs d'enzymes virales, RNAi, ou encore facteurs favorisant la réponse immunitaire du patient.

III.6.1 Inhibiteurs d'enzyme de VHC

En théorie, toutes les enzymes de VHC pourraient être les cibles d'antiviraux. Deux enzymes semblent cependant plus appropriées : la sérine protéase NS3-4A et la polymérase NS5B.

III.6.1.1 Inhibiteurs de la protéase NS3

La protéine NS3-4A est une protéase hétéromérique constituée du domaine N-terminal de la protéine NS3 et du cofacteur NS4A. Elle contient en outre un atome de Zn (Lindenbach BD., Rice, CM., 2005). Cette protéine est nécessaire à la formation de complexe de réplication de l'ARN viral : en effet, elle clive la polyprotéine virale à 4 endroits avec une séquence temporelle précise (Francesco., et al, 2005). De plus, elle bloque l'activation de la réponse immunitaire innée de l'hôte (Gale., et al, 2005).

Ainsi, les inhibiteurs de NS3-4A permettraient d'une part de bloquer la réplication virale et d'autre part d'augmenter l'efficacité de la réponse anti-virale de l'hôte (Francesco., et al, 2005).

III.6.1.2 Inhibiteurs de la polymérase NS5B

Deux types d'inhibiteurs sont développés en parallèle : des analogues de nucléosides, qui bloquent la réplication de VHC, et des inhibiteurs non-nucléosidiques qui entravent le fonctionnement même de NS5B.

Analogues de nucléosides

Les analogues de nucléosides sont transformés en nucléotides par les cellules puis incorporés dans l'ARN viral en cours de synthèse, ils bloquent la synthèse de l'ARN (ce sont des terminateurs de chaînes).

Inhibiteurs non-nucléosidiques

Les inhibiteurs non-nucléosidiques sont des inhibiteurs allostériques de la NS5B qui empêchent le changement de conformation de l'enzyme nécessaire à l'initiation de la synthèse d'ARN. Les différents inhibiteurs se fixent à différents endroits de la protéine ; ou peut donc

envisager une approche thérapeutique combinée qui diminuerait le risque d'apparition de résistance (Francesco., et al, 2005).

III.6.1.3 Autres inhibiteurs

Il serait intéressant de développer des inhibiteurs ciblant d'autres protéines virales comme le canal ionique p7, la cystéine protéase NS2-3 ou encore d'hélicase NS3. Aucun inhibiteur de ces protéines n'a été testé jusque maintenant (Francesco., et al, 2005).

III.6.2 Inhibiteurs de l'ARN viral

Une autre approche thérapeutique possible consiste en l'inhibiteur direct de l'ARN viral par ARN interférence. Dans ce cas le facteur déterminant pour l'efficacité du traitement sera l'efficacité de transfection des cellules par le ARNi in vivo. La méthode de transfection la plus efficace pour atteindre les cellules du foie semble être une administration systémique du ARNi (Francesco., et al, 2005).

Le premier essai clinique devrait débuter courant 2006 avec le produit BLT-VHC, combinaison de 3 ARNi ciblant de séquences différentes.

III.7 Vaccination

Il y a une décennie, la mise au point d'un vaccin contre le virus de l'hépatite C était considérée comme une possibilité éloignée. Trois principaux facteurs en étaient responsables :

La forte propension du VHC à donner des infections chroniques persistantes (Alter., et al, 2000); plusieurs cas humains ou de chimpanzés convalescents et néanmoins réinfectés (Iai., et al, 1994) considérable hétérogénéité génétique du virus (Simmonds, 2004).

Une publication récente a permis de réaliser la preuve de concept d'une telle perspective (Folgori., et al, 2006). Pour la première fois il a été montré qu'un vaccin contre le VHC était capable d'induire une réponse T protégeant le chimpanzé d'une hépatite aiguë induite par un virus hétérologue.

Dans cette étude, la suppression de la virémie aiguë chez des chimpanzés vaccinés est le résultat du développement massif de lymphocytes TCD8+ aux niveaux périphériques et intra-hépatiques qui réagissent de façon croisée avec le vaccin et les épitopes du virus. Un suivi de 18 mois a été réalisé chez des chimpanzés vaccinés ou contrôlés ; un segment d'ADN codant les régions non-structurales (de NS3 à NS5B) d'un génotype 1b a été utilisé comme vaccin génétique en utilisant un vecteur adénoviral déficient pour la réplication. Les auteurs précisent que les régions ciblées sont conservées à 98% dans les génotypes 1 (8% des infections au niveau mondial) ce qui présage d'un potentiel important pour cette stratégie.

Deux perspectives de vaccins sont alors envisageables dans un délai raisonnable :

- Un vaccin préventif capable de maximiser les réponses cellulaires et humorales en cherchant une protection par des anticorps neutralisants cross réactifs par un cocktail d'immunogènes dérivés des différentes souches du VHC.
- Un vaccin thérapeutique qui permettrait de stimuler les réponses immunitaires des patients déjà infectés, s'ajoutant aux traitements actuels et futurs qui jamais ne seront pas optimaux du fait de l'émergence de mutants résistants.

Dans les deux cas, beaucoup d'essais sont en cours.

Le problème aujourd'hui est en fait de trouver des populations à risque pour le VHC pour montrer l'efficacité de ces vaccins.

Dans l'optique de la mise au point d'un vaccin, les agents stimulateurs de l'immunité (adjuvants, alun et à base d'huile) sont des composants centraux en augmentant à la fois la magnitude et la durée de la réponse immunitaire.

III.8 L'Approche Antisens

A Généralités :

La stratégie antisens vise à moduler sélectivement l'expression des gènes, cellulaires ou viraux, par action directe sur les acides nucléiques. Elle repose sur l'utilisation de courtes oligodésoxynucléotides synthétiques (ODN), capables de s'hybrider spécifiquement à une séquence nucléotidique. En tondue au sens large, elle englobe l'interférence ARN, les ribozymes et les aptamètres, c'est-à-dire toutes les approches qui se basent sur la reconnaissance d'une séquence nucléotidique pour fonder leur action.

1 Principe

Schématiquement, les ODN ont une action sur ARNm, par fixation d'une séquence antisens, comme illustré par (la Figure10).

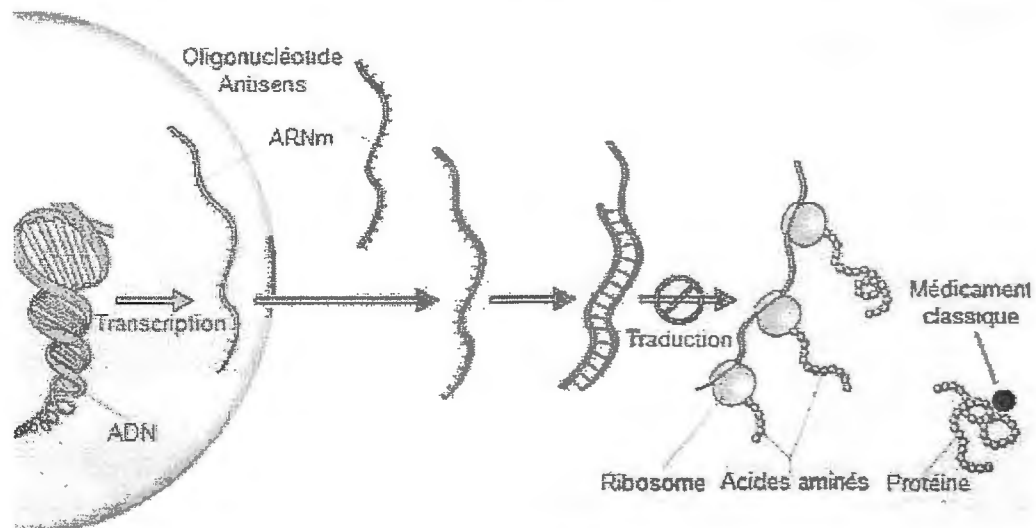


Figure10 : Schéma de l'action d'un antisens. (Crooke,1999).

L'objectif est donc d'empêcher qu'un ARN, viral ou cellulaire, soit traduit en protéines responsables de la maladie. A la différence d'un « médicament classique » qui essaye de corriger une protéine défectueuse ou indésirable, l'idée fondatrice d'une stratégie antisens est de faire en sorte que cette protéine n'existe plus.

2 Mécanismes d'action

La figure précédente est en fait très schématique. Dans la réalité, les ODN agissent à plusieurs niveaux via plusieurs mécanismes.

Potentiellement, ces molécules peuvent moduler le transfert d'information du gène à la protéine à toutes les étapes, comme illustré par (la Figure 11).

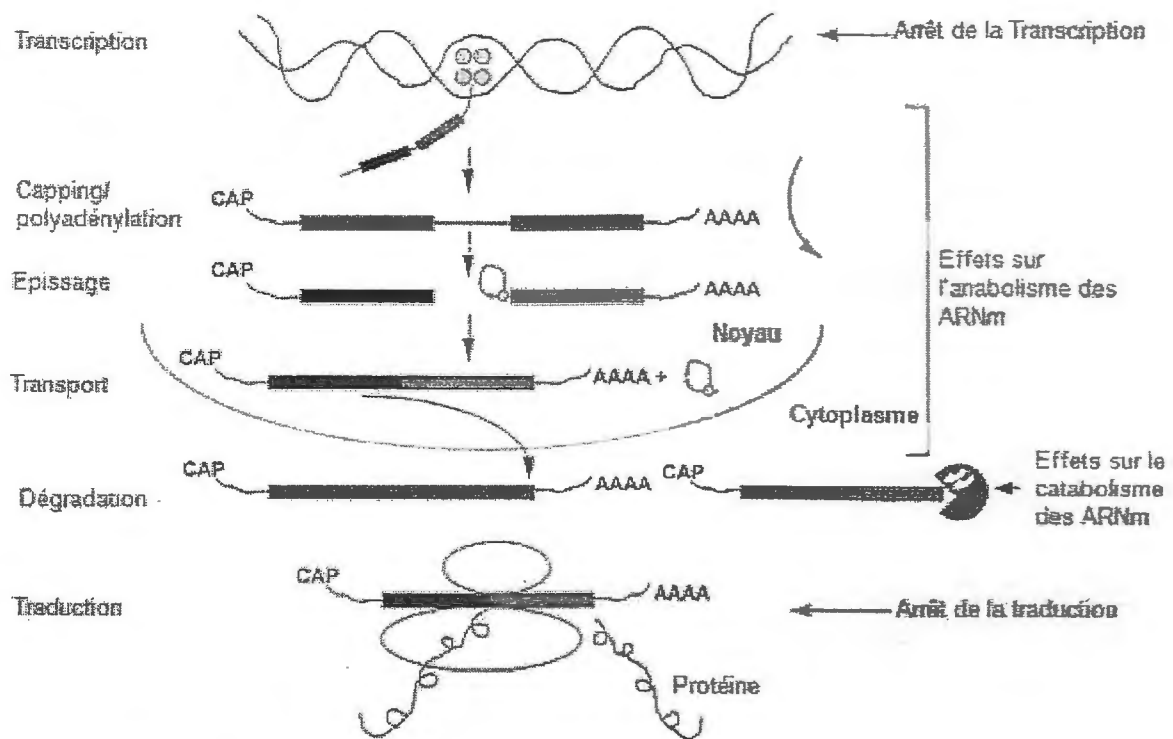


Figure 11 : Du gène à la protéine cible des ODN. (Crooke, 1999).

En pratique, l'action des ODN va se faire par coupure de l'ARN par la RNase-H dans la plupart des cas. De nombreux autres mécanismes de blocage ont été décrits et peuvent être regroupés en deux catégories : action des ODN seulement par occupation de transcrite et action par occupation entraînant la déstabilisation du transcrite (Crooke, 1999).

2.1 Activation de la RNASE-H

La ribonucléase (RNase-H) est présente dans toutes les cellules de mammifères. Elle régule naturellement les niveaux de 85 à 95% des ARN dans les cellules. Elle reconnaît également les hybrides ADN/ARN et hydrolyse spécifiquement les liaisons phosphodiester de la partie ARN. Cette activité enzymatique est présente principalement dans le noyau puisqu'elle est nécessaire à l'alimentation des amorces ARN utilisées lors de la répliation de l'ADN.

Son activité est très sensible à la nature chimique des modifications que comportent les ODN. Seuls les désoxyribonucléotides naturels et leurs analogues comportant des phosphorothioates sont capables d'induire une coupure de l'ARN cible.

Les ODN de première génération sont donc basés sur cette propriété de la RNase-H. Malgré les avantages de cette enzyme, il existe de nombreuses autres possibilités d'action antisens indépendante de la RNase-H (Crooke, 2004).

B Application au VHC approche antisens

Dans le cas du VHC, beaucoup d'alternatives thérapeutiques sont actuellement en essais cliniques. Il est cependant très probable qu'à terme, l'apparition de résistances freine leur utilisation. Il est donc important d'explorer de nouvelles options pour la thérapie VHC, en particulier celles qui pourraient s'affranchir des résistances comme les approches de type antisens dont nous venons de dresser un aperçu.

Des ODN antisens, des ribozymes, aptamères et siRNA sont en développement (Figure12).

On peut distinguer deux catégories d'inhibition : une inhibition avec blocage de la traduction (en orange) et une inhibition avec clivage de l'ARN (en bleu).

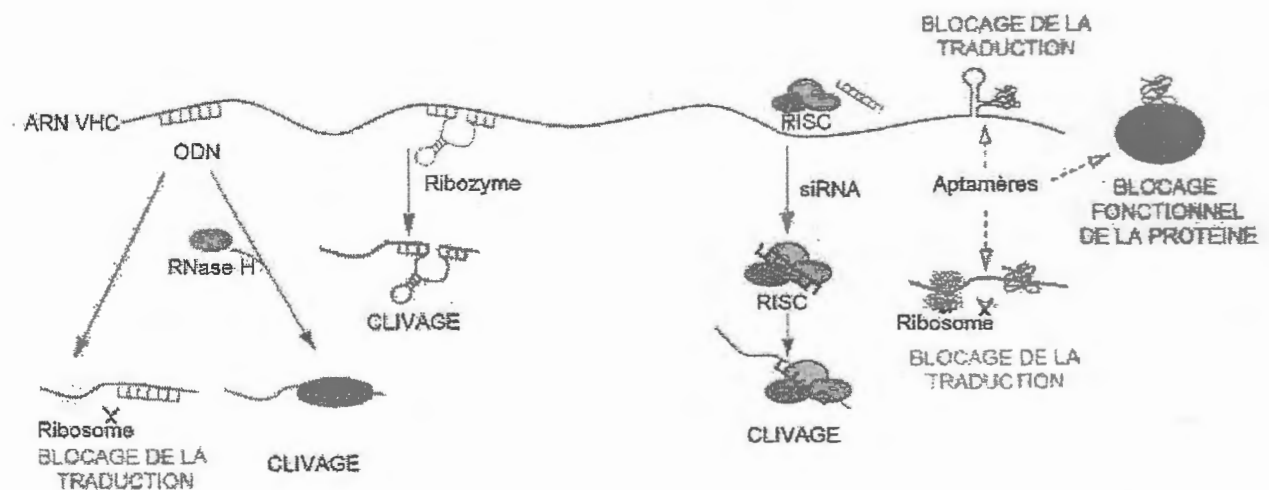


Figure12 : Mécanisme principaux d'action des stratégies antisens sur le VHC.(Trepanier., et al ,2006).

1 Inhibition avec blocage de la traduction

Une première possibilité serait de bloquer la traduction, soit par fixation d'ODN antisens sur l'ARN, soit par blocage des protéines virales ou du transcrit ARN par des aptamères.

1.1 Phosphorothioates et dérivés

L'inhibition de la réplication de VHC par des ODN antisens peut en théorie éliminer le virus de la cellule puisque son cycle de réplication dépend entièrement de l'ARN (Moradpour., et al, 2004). Le fait par contre que la réplication du VHC se produise dans le cytoplasme et que la RNase-H soit localisée majoritairement dans le noyau conduit à envisager une action des antisens non pas via la RNase-H mais par blocage stérique de la traduction.

La région qui contient une partie riche en pyrimidines et la région du codon initiateur AUG dans le domaine IV ont également été ciblées (Alt, et al, 1999 ; Zhang .,et al,1999). D'autres cibles ont été envisagées, mais avec des résultats en général moins bons, en particulier la séquence codant la protéine de capsid, la séquence codant NS3, et la région X en 3' UTR (Smith.,et al, 2002).

1.2 RNA aptamère

Les aptamères utilisent la capacité des ODN antisens à se lier à des protéines et sont basés sur les ribozymes. Ce sont des molécules d'ARN ou d'ADN structurées et qui forment des « poches » dans lesquelles se fixe des ligands spécifiques (Gold., et al, 1995). Plusieurs études ont été menées avec des aptamères dirigés contre des protéines ou l'ARN dans de nombreuses maladies, dont le VHC. Des études ont montré qu'ils pouvaient reconnaître et se lier à la polymérase NS5B, à la protéines NS3, aux régions UTR et inhiber les fonctions enzymatiques ou bloquer la réplication in vitro et en culture de cellules (Gold.,et al, 1995).

2 Inhibition avec clivage

Une autre approche pourrait consister à aller cliver l'ARN du VHC, ce qui rendrait impossible la traduction et entraînerait sa dégradation par les nucléases. Deux possibilités sont alors envisageables : les ribozymes et les siRNA (Cech., et al, 1981).

2.1 Ribozymes

Les ribozymes ce sont des molécules d'ARN qui peuvent se lier à l'ADN de manière antisens spécifiquement à une séquence et qui possèdent des propriétés catalytiques permettant le clivage d'ARN (Cech.,et al,1981). Leurs capacités à catalyser la coupure d'un brin d'ARN avec seulement un enchaînement ou encore à catalyser la

formation d'une liaison peptidique dans les ribosomes permettent d'envisager leur utilisation comme agents thérapeutiques (Cashni., et al, 2002).

L'avantage des ribozymes par rapport aux ODN antisens est qu'ils peuvent cliver par eux même le transcrit, sans RNase-H qui, de toute façon, est très peu présente dans le cytoplasme. La plupart des ribozymes développés ciblent les régions 5' UTR et 3' UTR. Des séquences reconnues par certains ribozymes étant présentes dans la séquence de la protéine de capsid et dans des régions conservées de l'ARN brin positif et brin négatif pourraient également être envisagées comme cibles pour réduire l'ARN viral.

En 2001, un ribozymes (Hepatozyme TM-Ribozyme pharma) à été le premier anti-VHC a terminer une phase II d'essais cliniques (Kashani., et al, 2002).

Ce ribozyme qui cible la région 5' UTR était bien toléré chez les individus sains et a démontré un effet bénéfique chez 10% des patients. A cette époque, ces résultats paraissaient encourageants et certains parlaient déjà d'une association avec l'IFN- α . Cependant ces espoirs ont vite été dissipés avec un cas d'animal devenu aveugle après traitement avec la molécule, cette technologie à été testée in vitro et en culture de cellules contre le VHC.

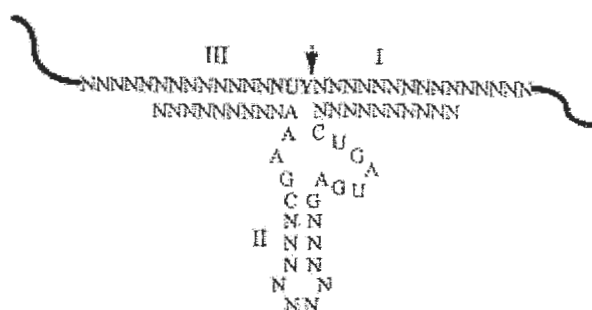


Figure13 : Structure d'un ribozyme. (Phylactou, 2000).

2.2 Si-RNA

L'interférence ARN (ARNi) est considérée par beaucoup comme la troisième génération d'antisens, s'il est indéniable que les avancées promises et/ou réalisées grâce à cette méthode sont importantes et qu'elles ont insufflées une nouvelle dynamique et crédibilité aux approches antisens (Dorsett., et al, 2004), c'est une discipline encore très jeune.

L'approche siRNA est une approche qui séduit beaucoup d'équipes travaillant sur le VHC. La capacité de ces molécules à éliminer l'ARN du VHC en culture cellulaire a



Discussion

Discussion

Bien que les travaux épidémiologiques chez les personnes infectés soient nombreux, l'analyse histologique y rarement effectuée, dans les différents situations d'immunosuppression, la prévalence des marqueurs viraux accrue, on retiendra que l'immunosuppression s'accompagne usuellement d'une multiplication virale persistante, par ailleurs, lors de la multiplication virale, elle est généralement plus importante sur le plan quantitatif que dans la population immunocompétente.

Aujourd'hui, malgré l'application de sévères décisions, le risque d'atteinte hépatite C n'exclut pas une origine transfusionnelle pour trois raisons :

1. La fiabilité et la sensibilité des tests de dépistages : à l'absence des tests détectables l'ARN du VHC dans le sérum suspecté, les tests sérologiques sont arbitrés sa contamination ou pas par le VHC, ces tests qui diffèrent à sa sensibilité, donne par l'un résultat positif et l'autre résultat négatif sur le même échantillon.
2. certains sujets véricques ne sont pas détectés par les tests de dépistage d'anticorps, particulièrement ceux dont la virémie est d'un niveau faible.
3. ainsi, le risque est lié principalement à la non détection par les tests de dépistage des sujets en phase pré-séroconversion, durant les 3 mois suivant la première rencontre de l'organisme par le virus puisque cette date est difficile à préciser.

En effet, à l'aide de test ELISA 3^{ème} génération, on a pu déceler l'existence des anticorps anti-VHC dans le sérum des patients, ce qui signifie que leur organismes sont à l'état de défense contre le VHC rencontre et connaître par le système immunitaire comme un agent étranger.

L'exploration des différentes fonctions hépatiques est très utile comme un test de confirmation pour toutes les hépatites virales puisque l'organe cible pour ces virus est le foie (hépatocyte).

Les transaminases sont localisées essentiellement dans le foie mais également on les trouve dans le sang par un taux bien définie entre 18-49 u/I et aucune modification signifie une déséquilibre au fonction hépatique ou une lyse des hépatocytes qui libèrent ces enzymes. Cette enzyme, par le phénomène de diffusion elles passent dans le sang.

Actuellement, bien qu'en attente d'un usage chimique de nouvelles molécules en développement, l'IFN- α demeure un composant majeur du traitement de l'hépatite C. Son usage restera d'ailleurs probablement obligatoire en combinaisons avec de nouveaux

inhibiteurs du VHC en prévision de l'apparition de résistances. Cependant, les interférons ne sont pas efficaces dans tous les cas et l'on observe de nombreux cas de patients non-répondeurs ou qui échappent la bithérapie actuelle.

Alors que l'utilisation clinique de nouvelles molécules anti-VHC en phases de développement avancées se précise, la mise au point d'approches originales et complémentaires est nécessaire pour le futur, notamment pour lutter et prévenir l'émergence rapide de mutants résistants aux traitements. En effet, les nouveaux agents anti-VHC qui ciblent la polymérase virale ou les protéases favorisent l'émergence rapide de mutants résistants.

Le potentiel d'une stratégie antisens dirigée contre l'IRES du VHC est ainsi confirmé comme une approche alternative pour le traitement des patients non-répondeurs à la thérapie par interféron ou aux futures combinaisons qui incluent les inhibiteurs de polymérase et de protéase.

L'inhibition de la région IRES du VHC a déjà décrite *in vitro* avec une large gamme de molécules ; incluant notamment des ribozymes, les siRNA et des oligonucléotides. La capacité de ces molécules à inhiber la réplication du VHC en culture de cellules ou *in vivo* a également été démontrée, avec toutefois des résultats et une sélectivité médiocres.

En rapport avec le VHC, il est toutefois nécessaire aujourd'hui d'anticiper l'avenir. En effet, si l'expérience des traitements à base d'antiviraux contre le VIH ou le VHB a montré que ces molécules étaient efficaces, elle montre également que ces traitements ne sont pas suffisants pour éliminer le virus.



Conclusion

Conclusion

De part sa prévalence élevée et une sécurité transfusionnelle encore non optimale, l'infection par le VHC dans les pays en voie de développement constituent un problème très préoccupant. Le virus de l'hépatite C représente donc toujours un problème majeur de santé publique.

Le diagnostic sérologique de l'infection VHC se diffère d'un test à un autre suivant les tests de dépistage utilisés. Aujourd'hui, une variété considérable des tests est commercialisée, elle se base sur le principe réactionnel immuno-enzymatique (ELISA) et RIBA. Les méthodes les plus élaborées permettent l'isolement du virus (PCR) sont rarement envisagées pour des situations économiques.

Cette étude a montré que l'IFN- α se caractérise par une activité inhibitrice sur la réplication de l'ARN du VHC plus puissante que celle des autres. Cette activité antivirale est associée à une induction plus importante des voies de transduction du signal et a permis d'éliminer le VHC des cellules après une administration prolongée.

La bithérapie actuelle, une combinaison entre un interféron alpha-pégulé et la ribavirine n'est efficace que dans 50% des cas et est un traitement difficile à supporter. De nombreuses autres molécules sont en développement clinique, notamment des anti-protéases et des anti-polymérases. Les données des premiers essais cliniques montrent que ces molécules sont efficaces mais qu'elles favorisent l'apparition de résistances, comme observé dans les traitements contre le VHC et le VIH. Il est donc nécessaire d'améliorer la bithérapie actuelle et d'étudier de nouvelles perspectives thérapeutiques capables les approches multi thérapeutiques futures.

Annexe

Abréviations utilisées

- 5' UTR : régions 5' non traduite
- AC anti-VHC : Anticorps anti-virus d'hépatite C
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- Ag HBs : Antigène d'hépatite B de surface
- ALAT : Alanine aminotransférase
- ARN : Acide Ribonucléique
- ASAT : Aspartate aminotransférase
- ELISA : Enzyme – linked immuno sorbent assy.
- IMPDH : Inosine monophosphate déshydrogénase
- INF alpha : Interféron alpha
- INF-PEg : Interféron polyéthylène Glycol
- IRES: Internal Ribosome Entry site
- ODN : Oligadésoxynucléotides
- PCR : Polymérase Chain réaction
- PNA : Peptide Nucleic Acide
- RE : Réticulum Endoplasmique
- RIBA : Recombinant Immunoblot Assay
- ShRNA: Small hairpin RNA (ARN en “petite épingle”)
- SiRNA: Small interféring ARN (petite ARN interférent)
- SOD: superoxyde dismutase
- TGP : Transaminase glutamo-pyruvate
- Tm : Température de fusion
- VHC : Virus d'hépatite C
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Glossaires

Anticorps : Protéines produites par le corps en présence de nouvelles protéines (Antigènes) qu'il ne connaissait pas auparavant.

Antigène : Protéine, qui fait souvent partie d'un virus, que le corps reconnaît comme Nouvelle.

Anti-VHC : Anticorps du VHC qui fait son apparition face à une infection par le VHC.

ARN : acide ribonucléique.

ARN-du VHC : matériel génétique du virus qui coordonne la reproduction du virus et la synthèse des protéines.

Asthénie : (gr. Force) affaiblissement générale de l'organisme ; fatigue.

Carcinome : (gr. Karkinoma, tumeur cancéreuse). Cause développée à partir d'un tissu épithélial.

Cirrhose : maladie résultant d'une atteinte hépatique permanente ou du développement de cicatrices atrophiques dans le foie.

Dépistage : action de dépister découvrir une latente grâce à des examens médicaux.

Diagnostic : (gr. Diagnôsis, connaissance) identification la nature et la cause de l'infection dont un patient est atteinte.

Fibrose : scarification du foie, moins grave que la cirrhose.

Hémodialyse : épuration extra rénale du sang effectué grâce à un appareil extérieur au corps, le rein artificiel.

Hépatite aigue : inflammation du foie qui se résorbe dans les six mois suivant son apparition.

Incidence : taux d'occurrence de nouvelles infections dans une population pendant une période donnée.

Prévalence : nombre de cas présents dans une population à un moment donné.

Transfusion : (lat. transfusion) injection, dans une veine d'un malade, de sang ou d'un produit dérivé préalablement prélevé sur un ou plusieurs donneurs ou sur le malade de lui-même.



Bibliographies

Bibliographie

- Abravaya, K., Esping, C., Hoenle, R, 2000. Performance of a multiplex qualitative PCR LCx assay for detection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) group M subtypes, group O, and HIV-2. *J Clin Microbiol.*, 38, 716-23.
- Adami. V., Falasca, E., Dorotea, L, 2004. Qualitative multiplex RT-PCR for simultaneous detection of hepatitis C virus and human immunodeficiency virus in plasma samples. *Clin. Microbiol Infect.*, 10, 1075-80.
- Alt, Eisenhardt, S., Serwe, M., Renz, R., Engels and Caselmann, 1999. Comparative inhibitory potential of differently modified antisense oligodeoxynucleotides on hepatitis C virus translation. *Eur J clin Invest*, 29, 868-876.
- Altern, HJ., seeff, LB, 2002. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long – term outcome. *Semin Liver Dis.*, 20, 17-35.
- Alter, MJ., Margolis, HS,1992. The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. *NEJM* 1J Med., 327. 1899-1905.
- Belataf, M., Boukrine, F, 2002. Les hépatites virales. *Dépot légal*. (2^{ème} édition.)
- Bezzaoucha, 2004. Office des publications universitaires. (Edition 1.)
- Bricont, F., Grimpul, E, 1998. Guide de virologie médicale.
- Branch, AD., Stump, F., Gutierrez, Eng and Walewski, 2005. The hepatitis C virus alternate reading frame and its family of Novel products: The Alternate Reading Frame protein / F-protein, the Double – frame shift protein, and others. *Seminars in Liver Disease*, 25, 105-117.
- Cech, TR., Zang, AJ., and Grabowski, PJ, 1981. In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of tetrahymena: involvement of a guanosine nucleotide in the excision of the intervening sequence. *Cell*, 27.
- Choo, QS., Knog., Weiner, A, 1980. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non A, non B viral hepatitis genome. *Science*(eds.)
- Colin, C., Lanoir, D., Touzet, S, 2001. Sensitivity and specificity of third generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *F viral hepat*, 8, 87-95.

- Couraoncé, AK., Arim, F., Elghouzzi, MH, 1997. Comparaison de la sensibilité de cinq tests de confirmation des anticorps anti-VHC. *Spectra Biologie*, 16, 39-45.
- Crooke, ST, 1999. Molecular mechanisms of action antisens drugs. *Giochim Biophys Acta.*, 1489, 31-44.
- David, M, 1999. Immunologie – Aide mémoire illustré de Boech..
- Dorstt, Y and Tuschl, T, 2004. SiRNAs: application in functional genomics and potential as therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.*, 3,318 – 329.
- Enomoto, N., Sakuma, I., Asahina, Y, 1995. Comparison of full – length sequences of interferon – sensivity to interferon is conferred by amino acid substitutions in the NS5A region. *J clin In Vest*, 96, 224-230.
- Epelly, 2004. Maladies infectieuses et tropicales. CMIT (19 éd.)
- Eygment, J., Alouf, I., montaguir, 1998. *Traité de Microbiologie clinique*. Piccin (éds.)
- Feld, JJ., Hoofnagle, JH, 2005. Mechanism of action of interferon and rebavirin in treatment of hepatitis C. *Nature.*, 18, and 436 (7053): 967-72.
- Folgori, A., Capone, S., Ruggeri, L., Meola, A., Sporeno, E., Ercole, BB., Pezzanera, M., Tafir., Arcuri, M., and Fatori, 2006. AT-Cell HCV vaccine electing effective immunity against heterologous virus challenge in chimpanzees. *Nature Machine*, 12., 190-197.
- Francesco, R., Migliaccio, G, 2005. Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. *Nature.*, 18; 436 (7053): 953-60.
- Fried, MW., Schillman, ML., Reddy, KR, 2002.peginterferon alfer – 20 plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. – *Mengl – J Med.*, 347, 975-82.
- Gale, MFR., Foy, EM, 2005. Evasion of intercellular host defence by hepatitis C virus. *Nature*, 18, 436 (7053): 939-45.
- Gale, MJJ., Korth, MJ.,Tang, NM, 1997. Evidence that hepatitis C virus resistance to interferon is mediated through repression of the PKR protein. *Virology*, 230, 217-227.
- Gish, RG, 2005. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *J Antimicrob chemother* (éds.)
- Giuberti, T., Ferrari, C., Marchelli, S, 1992. Long – term follow up of anti-hepatitis C virus antibodies in patients with acute non A non B hepatitis and different outcome of liver disease. *Liver*, 12, 94-9.

-
- Gold, L., Polishy, B., Uhlenbech, O., and Yarus, M, 1995. Diversity of oligonucleotide functions. *Annu. Rev. Biochem.*, 64, 763-797.
 - Hadjam, R, 2003. Guide Médical de la famille. Encyclopidia (éds.)
 - Hall, CB., Walsh, EE., Hruska, JF., Betts, RF ., Hall, WJ, 1983. Ribavirin treatment of experimental respiratory syncytial viral infection A controlled double – blind study in young adults- .*Jama*, 249, 2666-2670.
 - Hoofnagle, FJ, 2001. Therapy for acute hepatitis C. *NEngl JMed.*, 345, 1495-7.
 - Jaechel, E., Conberg, M, 2001. Treatment of acute hepatitis C interferon alfa. 2b. *NEngl J Med.*, 345, 1452-7.
 - Kanda, T., Steele, R., Ray, R., and Ray, RB, 2006. Small interfering RNA targeted to hepatitis C virus 5' nontranslated region Exerts potent antiviral effect. *J viral.*
 - Kashani, Sabet, 2002. Ribozyme therapeutics jinverting dermatol symp proc. 7, 76-78.
 - Koppelman, HGM., Assal, A., Chudy, M, 2005.Multicenter performance evolution of a trans cription – mediated amplification assay for screening of human immunodeficiency virus – 1 RNA, hepatitis C virus RNA, and hepatitis B virus DNA in blood donations. *Transfusion*, 45., 1258-66.
 - Lai, ME., Mazzoleni, AP., Argiolu, F., Virgilis, S., Balestrieri, A., Purcell, RH., Cao,A., and Farci ,1994. Hepatitis C virus in multiple episodes of acute hepatitis in polytransfused halassaemic children. *Lancet*, 343., 388 – 390.
 - Larousse de la santé, 1999.
 - Letontiorier, P, 1998. Immunologie générale. Masson (13^{ème} edition.)
 - Lindahl, K., Stahle, L, 2005. High-dose riboirine in combination with standard dos peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.*, 41 (2)., 275. 9.
 - Lindenbach, BD., and Rice, 2005.Mnravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature*, 436, 933-938.
 - Lob, ASF., Gunaratham, NT, 1997. Diagnostic of hepatitis C. *Hepatology.*, 26 1., 485-565.
 - Lunel, F., Mariotti, M., Gesta, P, 1995. Comparative study of conventional and novel strategies for the detection of hepatitis C virus RNA in serum: amplicor, branched – DNA, NA SBA and in house PCR; Maag, Castro, et al, 2001. Hepatitis

- C virus RNA. Depend RNA polymerase (NS5B) as a mediator of the antiviral activity of ribavirin. *J Biolchem.*, 7; 276 (49)., 46094-8.
- Meng, Q., Wong, C., Casano, B., Rangachari, A, 2001. Automated multiplex assay system for simultaneous detection of hepatitis B virus DNA, hepatitis C virus RNA and human immunodeficiency virus type 1RNA. *Jclin Microbiol.*,39.,1378-84.
 - Merçellin, P, 1996. hépato-gastro-enterologie impact internat.
 - Michéle, G, 2001. Au nom des maladies contaminées par le virus de l'hépatite C. Frison –Roche (éds.)
 - Micoud, M, 1995. Médecine et maladie infectieuse.
 - Pestka, S., Langer, JA., Zoom, KC., and Samuel, 1987. Interferons and their actions. *Anum Rev biochem*, 56, 727-777.
 - Phylactou, 2000. Ribozyme and peptide – nucleic acid- based gene therapy. *Adv Drug De Liv Rev.*, 44, 97-108.
 - Pol, S et Fontaine, H, 1998. Hépatites virales. *encycl – med. Chir (elsevier parie) Maladies infectieuses. Pédiatrie.*, 4-310 – C – 10.
 - Primos., Twyman., Old, 2004. *Gemie Génétique. De Boecs (éds.)*
 - Pulendran, B, 2004. Modulation vaccine responses with dendritic cells and toll libe receptors. *Immunological Reviews.* 199, 227-250.
 - Randall, G and Rice, CM, 2004. Interfering with hepatitis C virus RNA replication. *Virus Res.*, 102, 19-25.
 - Rappuoli, R, 2004. From Pasteur to genomics: progress and challenges in infections diseases. *Nature Medicine*, 10, 1177-1185.
 - Samual, CE, 2001. Antiviral actions of nterferons. *Clin.*
 - Simmonds, P, 2004. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus – 15 years on. *J Gen virol.*, 85, 3173-3188.
 - Stark, JJ., Dillman, RO., Schulof, R., Wiemam, MC., Barth, NM., Honeycutt,PJ and Soori, G, 1998. Interferon alpha and chemohormonal therapy for patients with advanced melanoma: final results of a phase I-II study of the Cancer biotherapy research group and the Mid-atlantic oncology program. *Cancer.*, 82., 1677-1681.
 - Thio, CL., Nolt, KR., Astemborshi, 2000. Screening for hepatitis C virus in human immunodeficiency virus infected individuals. *J clin Microbial.*, 38., 575-7
 - Tillois, P, 1997. Hépatites virales, dépistage, prévention, traitement.

- Trepanier, T., Tanner, JE., and Alfieri, 2006. Oligonucleotide – based therapeutic option against hepatitis C virus infection. *Antivir ther*, 11, 273-287.
- Vriclinb, H., Poel, CL., Reesink, HW, 1995. Look – back study of infectivity of anti-HCV ELISA positive blood components. *Lancet.*, 345: 95-96.
- Yanagie, M, Kanekos, Umoura, M, 1991. hepatitis C virus in fulminant hepatic failure (lettere). *Nengl J Med.*, 324., 1895-1896.
- Zhang, H, 1999. Antisense oligonucleotide inhibition of hepatitis C virus (HCV) gene expression in livers of mice infected with an HCV vaccinia virus recombinant. *Antimicrob.*, 43., 347-353.

Les sites :

- http://www.unige.ch/cyberdocuments/theses2003/lochers/these_body.htm.
- <http://www.sante.gouv.fr/htm/pointsur/hepatitec/chap034.htm>.
- <http://www.john-libbey-eurotext.fr/fr/revues/biorech/abc/e-docs/00/00C4/01/article...>
- <http://www.benitec.com/prdownloads/hepatitis%20clinical%20candidate%20050905%20.pdf>.
- <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/hépatiteC-atm>.

<u>Nom et prénom :</u>	<u>Date de soutenance :</u>
<ul style="list-style-type: none"> ➤ GHACHOUCHE Djanet ➤ DJAAKOUR Rabiaa ➤ SAIFI Randa 	18.06.2007

Titre : Hépatite C : Diagnostic et traitement

Nature du diplôme : Diplôme d'Etude Supérieurs (D.E.S)
Option : Microbiologie

Résumé :

L'hépatite virale C est l'une des principaux problèmes mondiaux et le plus dangereux par sa propagation silencieuse et la rapidité d'évolution vers la chronicité (cirrhose et cancer du foie, le traitement (interféron) existe avec un taux de réponse inattendue, mais on peut utiliser d'autres thérapies (Ribavirine, la bithérapie et la stratégie antisens), le vaccin reste l'espoir étendue.

Le dépistage des anticorps sériques anti-VHC responsables de l'infection reste la solution du premier ordre dans la lutte contre cette maladie.

Notre but de cette étude sera donc de monter l'intérêt de dépistage des Ac anti-VHC par la PCR qui reste le test le plus répandu qui (après le test ELISA et RIBA) permet d'apprécier et de suivre des principales victimes de cette maladie.

Les mots clés : Hépatites C, diagnostic, dépistage, VHC, immunosuppression.

Summary :

Viral hepatitis C is one the most dangerous problems is the word; wich has a silent propagation and a quick evolution towards chronicity (cirrhosis and liver cancer). A treatment exists (interferon), the later unaccepted responses, but they can used other therapy (Ribivirine, combination therapy, strategy antisens). The vaccine remains the only wish.

The detection of anti HCV (hepatitis C virus, wich is responsible of the disease) antibodies remains the best solution to fight against this disease.

The purpose of our study is to show the interest of detection of anti HCV antibodies by PCR test (after ELISA and RIBA test), wich is the widely used test that allows the valuation and the control of the principle victims of the disease.

Key words: Hepatitis C, diagnosis, the detection, HCV, suppression immunity.

الملخص:

إلتهاب الكبد الفيروسي ج أحد المشاكل العالمية وأخطرها بسبب انتشاره الهادئ وسرعة تطوره إلى الحالة المزمنة منها إلى (تشمع الكبد، وسرطان الكبد)، العلاج (أنترفيرون) موجود بنسبة استجابة غير متوقعة لكن يمكن استعمال علاج آخر (ريبافيرين، العلاج المزدوج، anti-sens)، أما التلقيح ضد المرض فهو الأمل المنتظر.

الكشف عن الأجسام المضادة المصلية ضد الفيروس ج المسؤول عن العدوى يبقى الحل ذو الاختيار الأول للدفاع ضد هذا المرض.

هدفنا من هذه الدراسة سوف يكون إذن توضيح أهمية الكشف عن الأجسام المضادة للفيروس ج بواسطة تقنية PCR (بعد استعمال تقنية ELISA و RIBA) التي تبقى التقنية الأكثر انتشارا والتي تسمح بتقييم ومتابعة أهم ضحايا هذا المرض.

الكلمات المفتاحية: التهاب الكبد ج، التشخيص، الكشف، فيروس الالتهاب الكبدي ج، مناعة مفقودة.