

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة امحمد بوقرة بومرداس  
Université M'hamed Bougara de Boumerdes



Faculté des Sciences  
Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de  
MASTER

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la vie  
**Filière :** Biologie  
**Spécialité :** Biochimie appliquée

**Thème**

---

## GENOTYPAGE DE L'HEPATITE C

---

**Présenté par :** Nassima KHENDRICHE et Hafida HIDOUCHE

**Soutenue le :** 02/07/2016 **devant le jury :**

Mme OURARI A	Maître Assistante A	UMBB	Présidente
Mme HAROUZ H	Maître Assistante B	UMBB	Examinatrice
Mme KHELIFA SAIBI R	Maître Assistante	CHU	Promotrice
Mme FAZOUANE F	Professeur	UMBB	Co-promotrice

Promotion 2015/2016

# SOMMAIRE

Liste des abréviations  
Liste des tableaux  
Liste des figures

**Introduction** .....2

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

1. Epidémiologie :.....	5
1.1. Prévalence mondiale .....	5
1.2. Prévalence en Algérie .....	6
2. Modes de transmission .....	6
3. Structure et organisation génomique :.....	8
3.1. Structure .....	8
3.2. Organisation génomique :.....	8
3.2.1. Les régions non codantes (NC) .....	9
3.2.2. La région codante .....	9
3.3. Protéines virales.....	10
4. Cycle cellulaire du VHC .....	11
5. Variabilité génétique :.....	12
5.1. Génotype .....	12
5.2. Les quasi-espèces .....	13
5.3. Recombinaison génétique .....	13
6. Répartition géographiques des génotypes.....	13
7. Principales méthode de typage du VHC :.....	14
7.1. Le sérotypage par ELISA compétition .....	15
7.2. Tests moléculaire de détermination du génotype : GENOTYPAGE.....	15
8. Traitement .....	16

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

1. Prélèvements et conservation.....	18
2. Méthodes :.....	18
2.1. Génotypage du VHC par technique d'hybridation inverse .....	18
2.1.1. Le principe :.....	18
2.1.1.1. L'extraction .....	18
2.1.1.2. Amplification .....	18
2.1.1.3. Hybridation inverse.....	18
3. Protocol (voir annexe).....	23

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

1. Résultats :.....	25
1.1. Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon le sexe.....	25
1.2. Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon l'âge.....	26
1.3. Distribution globale des génotypes du VHC.....	28
1.4. Distribution des génotypes du VHC selon le sexe.....	29
1.5 Distribution des génotypes du VHC selon l'âge .....	30
1.6. Relation entre génotypes du VHC et facteur de risque .....	31
1.7. Distribution géographique des différents génotypes en Algérie.....	32
1.8. Les différents sous-types génomiques du VHC retrouvés en Algérie....	33
1.9. Distribution annuelle des différents génotypes de VHC de l'année 2009 à l'année 2016.....	35
2. Discussion.....	37

<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>
------------------------	-----------

### **Références bibliographiques**

### **Annexe**

### **Résumé**

## Remerciements

On remercie ALLAH tout puissant, de nous avoir donné, la force, le courage et la patience, durant la réalisation de ce mémoire.

Au terme de ce travail, nous aimerions adresser nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre stage et qui nous ont aidées lors de la rédaction de ce mémoire.

Tout d'abord, nous adressons nos remerciements les plus sincères au Professeur GOURARI, Chef de service de microbiologie à l'hôpital Mustapha d' Alger, pour nous avoir accueillies au sein de son laboratoire, pour son écoute, son implication, sa disponibilité et ses qualités humaines qui nous ont profondément touchées.

Je remercie également très chaleureusement, notre promotrice Docteur KHELIFA SAIBI, Maître assistante en Biologie clinique, pour nous avoir fait l'honneur de nous encadrer et pour tout le savoir qu'elle nous a transmis, pour ses conseils et ses commentaires qui ont enrichi notre travail, pour sa générosité et la grande patience dont elle a su faire preuve malgré ses charges professionnelles.

On tient à présenter toute notre gratitude, reconnaissance, et respect à notre Co-promotrice Professeur FAZOUANE, pour nous avoir encadrés. On vous remercie pour toutes les remarques et les suggestions.

On voudrait exprimer nos remerciements les plus sincères à toute l'équipe du laboratoire de l'unité de virologie et en particulier Docteur BINALI, pour leurs conseils, leur soutien et leur aide tout au long de notre stage. Ainsi nous remercions Docteur AIOUCHE et la Biologiste KOURANE, pour toute l'aide qu'elles nous ont apportées lors de la manipulation. Nous remercions également Docteur ABDELAZIZ, pour son aide, sa disponibilité et pour sa gentillesse de lire et corriger une partie de ce travail.

Je remercie Monsieur DJABALLAH ainsi que sa fille Hafida, qui nous ont aidées à trouver le lieu de stage.

Enfin, nous exprimons nos sincères remerciements aux membres de jury qui ont fait l'honneur d'être les examinateurs de ce mémoire.

Nassima KHENDRICHE et Hafida HIDOUCHI

## Dédicaces

Je tiens à dédier ce travail :

Au meilleur des pères

et à ma tendre Mère, à qui je dois ce que je suis.

Merci pour ce que vous m'avez inculqué, les sacrifices que vous avez consentis pour

moi resteront à jamais gravés dans ma mémoire. Je vous remercie sincèrement

pour votre soutien inconditionnel et constant, pour votre amour,

la confiance que vous avez placée en moi depuis mon très jeune âge, votre soutien de tout

ordre et pour vos encouragements qui ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la

poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération

et mes profonds sentiments envers eux.

A mes sœurs qui m'ont toujours soutenue et épaulée dans la vie ainsi que tout le long de ces années.

A mes frères pour leur tendresse, leur complicité et leur présence malgré la distance qui nous sépare.

A ma chère amie Sonia pour son soutien et sa présence toujours à mes côtés.

A mes proches et à mes amies, qui m'ont toujours encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Nassima KHENDRICHE

# Dédicace

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

A mon cher père HIDOUCHE Mohamed et à ma chère mère MEDBAL Malika

Que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments pour leurs sacrifices,  
soutien, patience, encouragements tout au long de ma vie .

A mes frères Boubakeur et khaled , A mes sœurs Akila et Lila

A mes beaux frères Merrouche Abd el kader et BELOUNI Saad qui m'ont encouragé

A mes nièces :Aridj ,Randa ,Meriem , Nouh ,Yanis , Ayoub

A mon oncle Rabah et sa femme BRAHIMI Rachida

A Dr MOUHOUB et son mari Dr AOUCHAR

A monsieur DERDANE Lotfi

A tout mes amies .

**HIDOUCHE Hafida**

## Liste des abréviations

<b>VHC :</b>	Virus de l'hépatite C
<b>G :</b>	Génotype
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>FIG :</b>	Figure
<b>VIH:</b>	Virus de l'immunodéficience humaine
<b>ARN:</b>	Acide ribonucléique
<b>NT:</b>	Nucléotide
<b>NC:</b>	Non codante
<b>C :</b>	Core
<b>HVR1 :</b>	Une région hypervariable 1
<b>NTPas :</b>	Nucléoside triphosphate hydrolase
<b>INF :</b>	Interféron
<b>LDL :</b>	Lipoprotéine de faible densité
<b>AC :</b>	Anticorps
<b>PCR :</b>	Réaction de polymérisation en chaîne
<b>RT-PCR :</b>	Transcription inverse de la réaction de polymérisation en chaîne
<b>RFLP:</b>	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction
<b>EDTA :</b>	Ethylène diamine tétra -acétique
<b>ADNc :</b>	Acide désoxyribonucléique complémentaire
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>CONJ CTR :</b>	Contrôle conjugué
<b>AMPL CTRL2 :</b>	Contrôle d'amplification

## Liste de tableaux

**Tableau 1 :** Ces profils correspondent selon le tableau fourni par le kit aux différents génotypes

**Tableau 2 :** Révélation de génotype 4 à faible virémie

**Tableau 3 :** Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon le sexe

**Tableau 4 :** Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon l'âge

**Tableau 5 :** Distribution globale des génotypes du VHC

**Tableau 6 :** Distribution des génotypes du VHC selon le sexe

**Tableau 7 :** Distribution des génotypes du VHC selon l'âge

**Tableau 8 :** Relation entre génotypes du VHC et mode de transmission

**Tableau 9 :** Répartition géographique des différents génotypes types en Algérie

**Tableau 10 :** Les sous-types génomiques du VHC retrouvés en Algérie

**Tableau 11 :** Distribution annuelle des différents génotypes du VHC de l'année 2009 à l'année 2016

## Liste des figures

- Figure n°1 :** Taux de prévalence du virus de l'hépatite C par pays en 2011
- Figure n°2 :** Structure du virus de l'hépatite C
- Figure n°3 :** Organisation génomique du VHC
- Figure n°4 :** Le cycle viral du virus de l'hépatite C
- Figure n°5 :** Arbre phylogénétique représentant les différents génotypes et sous-types du VHC
- Figure n°6 :** Répartition géographique des différents génotypes
- Figure n°7 :** Génome du VHC
- Figure n°8 :** Hybridation inverse principe 1
- Figure n°9 :** Hybridation inverse principe 2
- Figure n°10 :** Hybridation inverse principe 3
- Figure n°11 :** Hybridation inverse principe 4
- Figure n°12 :** Lecture des bandes
- Figure n°13 :** Exemple de d'interprétation
- Figure n°14 :** Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon le sexe
- Figure n°15 :** Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon l'âge
- Figure n°16 :** Répartition de patients ayant l'hépatite C chronique selon les facteurs de risque
- Figure n°17 :** Répartition globale des génotypes du VHC
- Figure n°18 :** Distribution des génotypes du VHC selon le sexe
- Figure n°19 :** Distribution des génotypes du VHC selon l'âge
- Figure n°20 :** Distribution des génotypes selon les facteurs de risque
- Figure n°21 :** Les différents génotypes du VHC retrouvés en Algérie
- Figure n°22 :** Les différents sous-types génomiques du VHC retrouvés en Algérie
- Figure n°23 :** Ce profil correspond selon le tableau fourni par le kit au gentye 1b
- Figure n°24 :** Distribution annuelle des différents génotypes du VHC de l'année 2009 à l'année 2016

# ***Introduction***

## Introduction.....

L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) représente un problème de santé publique mondial à l'origine d'une importante morbi-mortalité, plus de 170 millions de personnes dans le monde sont infectées par le VHC .Et depuis sa découverte en 1989(1), le virus de l'hépatite C n'a cessé de faire l'objet de recherches intensives, en raison de la prise de conscience progressive de sa gravité (2).

Le virus est rarement à l'origine d'hépatite fulminante, il entraîne essentiellement des hépatites aiguës, souvent asymptomatiques, parfois marquées par une fatigue et un ictère. Ces hépatites évoluent malheureusement dans 80% des cas vers des hépatites chroniques (3), ces dernières seront responsables de 20% des cas de cirrhose qui évolueront au bout de 20 ans vers un carcinome hépatocellulaire (cancer du foie) dans 1 à 4% des cas(4).

Les pays en voie de développement sont bien plus touchés que les pays d'Europe de l'Ouest ou d'Amérique du Nord(5). En Algérie, à notre connaissance, il n'y a pas de chiffres publiés concernant la prévalence de l'infection à VHC dans la population générale, à l'exception de l'Agence Nationale du Sang qui a publié en 2014 une prévalence de 0.45% chez les donneurs de sang(6).

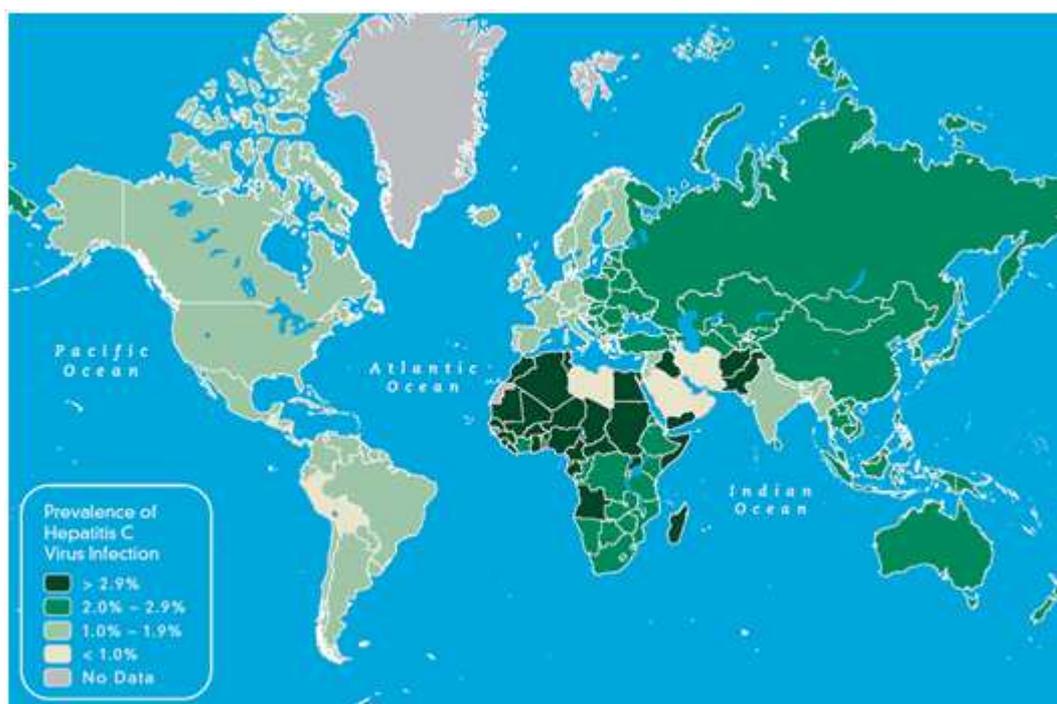
**Chapitre I :**  
**Synthèse bibliographique**

## 1. Epidémiologie :

### 1.1. Prévalence mondiale :

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2012 :

- 170 millions de personnes sont touchées par le VHC dans le monde(8)(9) ;
- Environ 150 millions d'entre elles sont infectées chroniquement par le virus de l'hépatite C (8);
- 3 à 4 millions de personnes sont infectées chaque année (8)(9)(10);
- Plus de 350 000 individus meurent chaque année de pathologies hépatiques liées à l'hépatite C (8).



**Figure n°1** : Taux de prévalence du virus de l'hépatite C par pays en 2011(8)

On distingue schématiquement plusieurs zones endémiques (selon le taux de l'infection VHC) (voir fig1) :

- Zone de forte prévalence (plus de 2.9 %) : l'Egypte de 9% jusqu'à 50% dans certaines zones rurales égyptiennes(11)(12).
- Zone de moyenne prévalence (1 à 2.9%) : Chine, USA, France
- Zone de faible prévalence (< à 1 %) : Libya, Iran , Saudi Arabia

## 1.2. Prévalence en Algérie :

En Algérie, on n'a pas de chiffre publié concernant la prévalence de l'infection à VHC dans la population générale, cependant on peut citer :

- La prévalence des anticorps anti-VHC chez les donneurs de sang en 2014 qui était de 0.45% selon l'Agence Nationale du Sang(6).

## 2. Modes de transmission :

Le virus de l'hépatite C est essentiellement transmissible par contact direct avec le sang contaminé(13).

- **Transfusion de Produits sanguins :** par exemple, lors:

- D'une intervention chirurgicale importante.
- D'une hémorragie importante.
- D'une anémie profonde non tolérée(14).

- **Toxicomanie :**

- L'usage de drogues par voie intraveineuse (lié au partage des seringues et du matériel de préparation).
- L'usage de drogues par voie nasale est probablement aussi un mode de contamination du fait du partage d'une même paille(14).

- **Transmission de la mère à l'enfant :**

Le risque de transmission du virus de l'hépatite C de la mère à l'enfant est estimé entre 5 % et 6 % et a lieu probablement au moment de l'accouchement. Mais ce risque augmente pour atteindre les 20 % si la mère est infectée en même temps par le VIH (virus du sida). L'allaitement maternel n'est pas contre-indiqué chez une mère porteuse du VHC (sans la présence de VIH)(14)(15).

- **Transmission par voie sexuelle :**

Le risque de transmission du VHC par voie sexuelle est très faible, qu'il s'agisse de rapports hétérosexuels ou homosexuels, le VHC a été mis en évidence dans le sang des règles des femmes infectées et il n'est pas retrouvé dans les sécrétions vaginales, ni dans les spermatozoïdes ou le sperme(14).

- **Transmission familiale :**

La transmission familiale entre sujets habitant sous le même toit est très rare et elle est le plus souvent liée au partage d'objets courants, en particulier objets de toilette (rasoir, brosse à dent, coupe ongle, pince à épiler) ou objets usuels (aiguilles de couture, outils) ayant pu être en contact avec le sang de la personne infectée par le virus C. Ce mode de transmission est favorisé par une proximité forte et des conditions d'hygiène insuffisantes(14).

- **Risque nosocomial :**

Ce mode de contamination a pu être fréquent quand certains matériels d'injection ou de chirurgie étaient non jetables, mais réutilisés après stérilisation plus ou moins adéquates. Actuellement, ce risque persiste toujours à cause de l'utilisation d'appareils à usage médical ou dentaire mal désinfectés avec non respect des règles universelles d'hygiène, par exemple :

- Dans les centres d'hémodialyse (la prévalence de l'infection VHC était de 65% en 2005 au niveau d'un hôpital algérois) .
- Lors d'endoscopies digestives, notamment avec biopsies.
- Lors de soins dentaires.
- Lors de séances d'acupuncture avec aiguilles réutilisables, ou toute autre technique utilisant du matériel non jetable(14).

- **Tatouages, piercing et scarifications/hidjama :**

Ces pratiques pourraient être à l'origine de contaminations lors de l'usage du matériel non jetable dont la stérilisation a pu être insuffisante voire inexistante(15).

- **Risque professionnel :**

La contamination professionnelle liée à une blessure accidentelle avec du matériel souillé est un mode de transmission mineur du VHC(16)(15).

L'hépatite C n'est pas propagée par les aliments ou l'eau ou encore par un simple contact tel qu'une étreinte, un baiser ou le partage de nourriture ou d'une boisson avec une personne infectée(17).

### 3. Structure et organisation génomique (Fig n°2) :

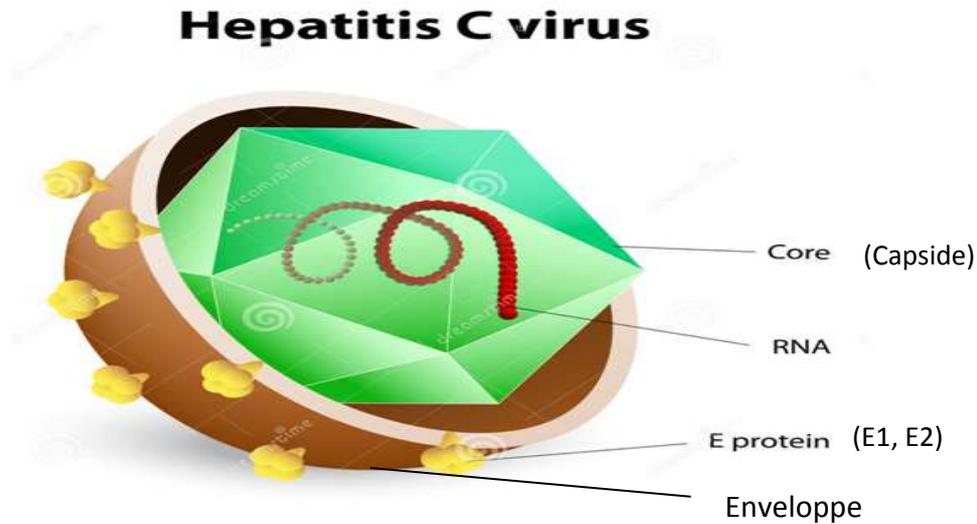


Figure n°2 : Structure du virus de l'hépatite C (18)

#### 3.1. Structure :

Le VHC appartient à la famille des *Flaviviridae*, genre *hépacivirus*. Il se caractérise par une enveloppe de 55 à 65 nm de diamètre qui entoure une capsidie icosaédrique laquelle héberge un génome d'ARN(19)(20)(21).

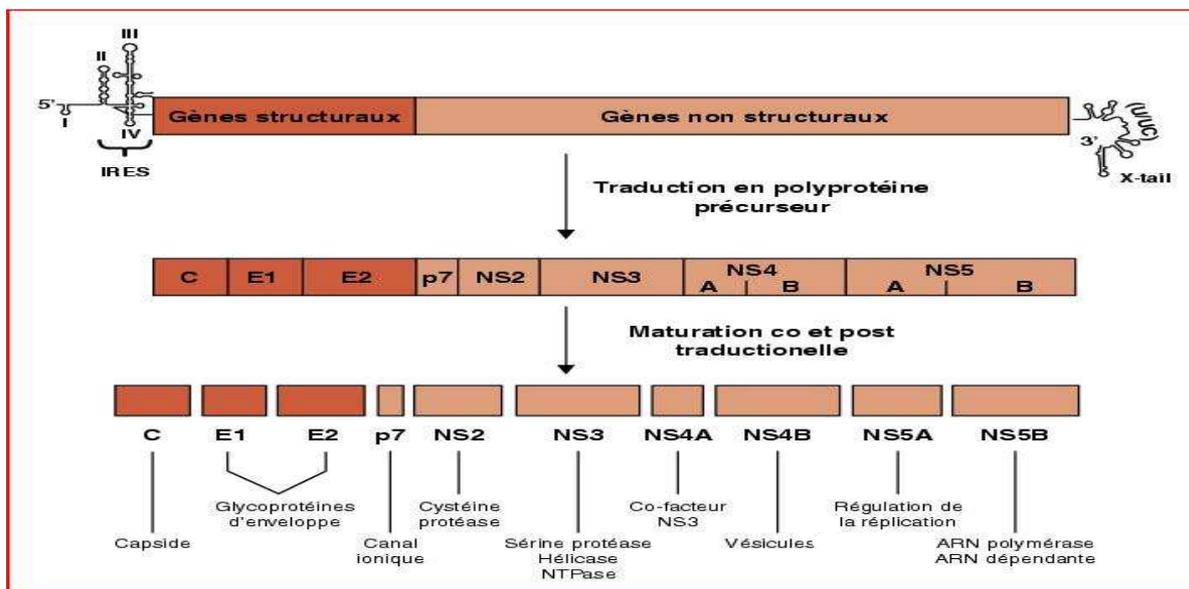
1) **L'enveloppe** : il s'agit d'une enveloppe lipidique qui entoure la nucléocapsidie (capsidie), elle provient des membranes du réticulum endoplasmique des cellules infectées et sur laquelle sont ancrées sous forme d'hétérodimères deux glycoprotéines virales E1 et E2, ces dernières permettent au virus de se fixer sur la cellule du foie (hépatocyte) avant d'y pénétrer(12)(20).

2) **La capsidie protéique** : est formée par l'oligomérisation de la protéine core, elle s'agit d'une coque constituée de protéines permettant de protéger le virus(22).

3) **Le génome** : est une molécule d'acide ribonucléique (ARN) monocaténaire de polarité positive et d'une longueur de 9500 à 12500 nucléotides (nt)(22).

#### 3.2. Organisation génomique :

Le génome du VHC comporte une région codante flanquée à ses deux extrémités 5' et 3' de régions non codantes (5)(20) (voir fig n°3).



**Figure n°3 :** Organisation génomique du VHC(23)

**3.2.1. Les régions non codantes (NC) :**

**- La région 5'NC :**

L'extrémité 5' est une région hautement conservée d'une longueur de 341 à 349 nt. Elle forme une structure secondaire et tertiaire comprenant 4 domaines majeurs (I à IV), un pseudo-noeud et une hélice. Elle joue un rôle important dans la synthèse de protéines virales par la régulation négative de la traduction des protéines virales et par l'initiation de la traduction(20).

**- La région 3'NC :**

C'est une courte séquence non traduite qui renferme une région très conservée de 98 nt qui permettrait l'initiation de la synthèse du brin complémentaire d'ARN négatif au cours de la réplication(20).

**3.2.2. La région codante :**

Cette région comporte un cadre de lecture ouvert unique, formée de plusieurs gènes qui codent pour une polyprotéine précurseur de toutes les protéines virales structurales et non structurales du VHC(20).

### 3.3. Les protéines virales :

#### ❖ Les protéines structurales :

- **La protéine de la capsid C(Core) codée par le gène C**: les molécules de protéines C natives se lient à l'ARN viral ce qui déclenche leur polymérisation indispensable à la construction de la capsid, elle interagit avec de nombreux constituants cellulaires et elle est également capable de moduler l'expression de certains gènes du cycle cellulaire(20).
- **Les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 codées par les gènes E1 et E2** : Ce sont des protéines transmembranaires, organisées en complexes hétéro dimériques non covalents ancrés dans l'enveloppe virale par leur extrémité carboxy-terminale.
  - La glycoprotéine E1 porte le peptide nécessaire à la fusion après l'endocytose de l'enveloppe virale avec la membrane de l'endosome.
  - La glycoprotéine E2 est responsable de l'attachement des particules à la cellule, elle présente à son extrémité N-terminale une région hypervariable (HVR1) qui renferme au moins un des déterminants antigéniques, cible identifiée d'anticorps(20).

#### ❖ Les protéines non structurales :

- **La protéine p7 codée par le gène p7** : cette protéine forme un canal ionique à  $Ca^{2+}$  , impliquée également dans la réplication du virus(5).
- **La protéine NS2 codée le gène NS2** : cette protéine est une métalloprotéase douée d'une activité autocatalytique dépendante du zinc qui permet la coupure de la jonction NS2-NS3(5)(20).
- **La protéine NS3 codée par le gène NS3** : c'est une protéine hydrophile présentant une triple activité enzymatique:
  - Une activité sérine protéase.
  - Une activité NTPase (phosphatase des nucléotides) et une activité hélicase(5)(20).
- **La protéine NS4A codée par le gène NS4** : elle permet l'activation et la stabilisation de la sérine protéinase NS3, l'ancrage de NS3, l'interaction avec la NS5A et la régulation de la phosphorylation de NS5A(5)(20).
- **La protéine NS4B codée par le gène NS4** : elle induit la formation de vésicules intracellulaires servant de support à la réplication du virus(24).
- **La protéine NS5A codée par le gène NS5** : elle joue un rôle important dans la régulation de la réplication et semblerait intervenir dans la résistance du virus à l'IFN $\alpha$ (5)(20) .
- **La protéine NS5B codée par le gène NS5** : elle correspond à l'ARN polymérase ARN dépendante du virus indispensable à la réplication viral(5)(20).

#### 4. Cycle cellulaire du VHC (voir fig 4):

Pour infectées les hépatocytes, le VHC passe par les étapes suivantes:

- Interaction des glycoprotéines virales de l'enveloppe avec une série de récepteurs qui sont : la tétraspanine (CD81), le récepteur BI des macrophages « scavenger » (SR-BI), les molécules d'adhésion DC-SIGN et L-SIGN et la lipoprotéine de faible densité (LDL)(25).
- Internalisation du virus par endocytose(20).
- Décapsidation et libération du génome viral dans le cytoplasme qui servira d'une part à la **réplication virale** grâce à la synthèse par l'ARN polymérase, de brins à polarité négative, appelés "brins négatifs ", complémentaires de l'ARN viral. Ces brins néosynthétisés serviront de matrice pour la synthèse de nouvelles molécules d'ARN virales à polarité positive .Et d'autre part à **la synthèse de la polyprotéine**, cette dernière subira une maturation et un clivage en protéines structurales et non structurales(26)(25).
- Encapsidation de l'ARN à polarité positive dans le réticulum endoplasmique(25).
- Formation de l'enveloppe virale par bourgeonnant dans la lumière du réticulum endoplasmique(20).
- Sécrétion de nouvelles particules virales par exocytose dans l'espace péri cellulaire par l'appareil de Golgi (27).

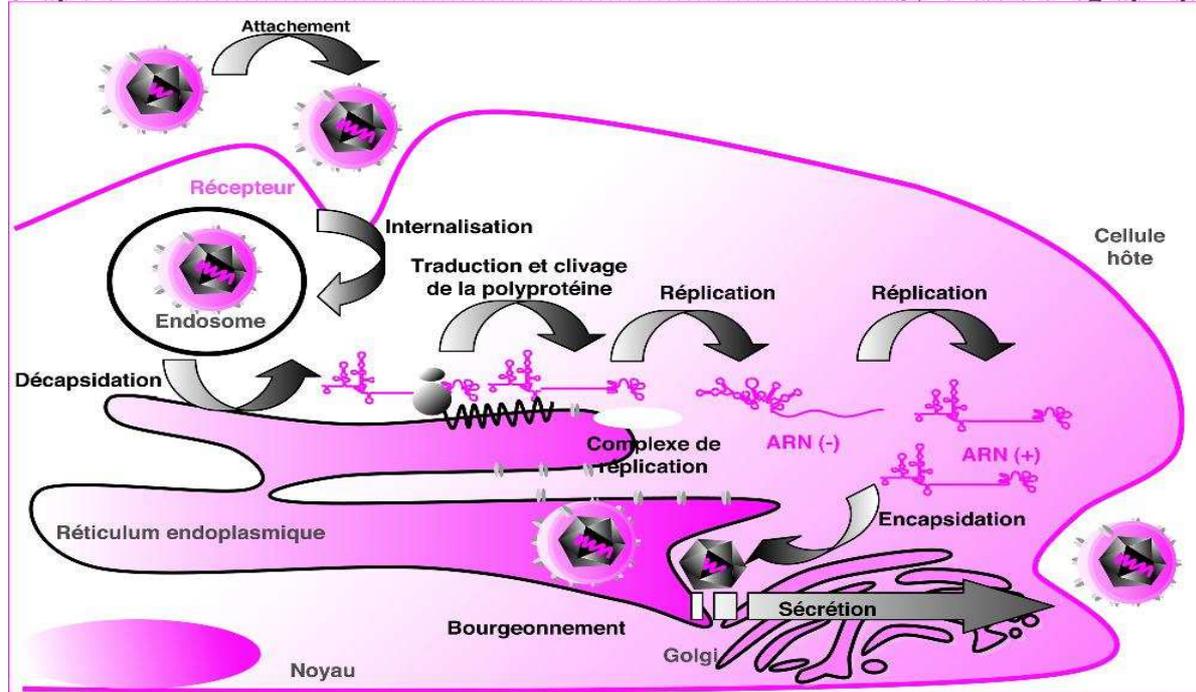


Figure n°4 : Le cycle viral du virus de l'hépatite C (28)

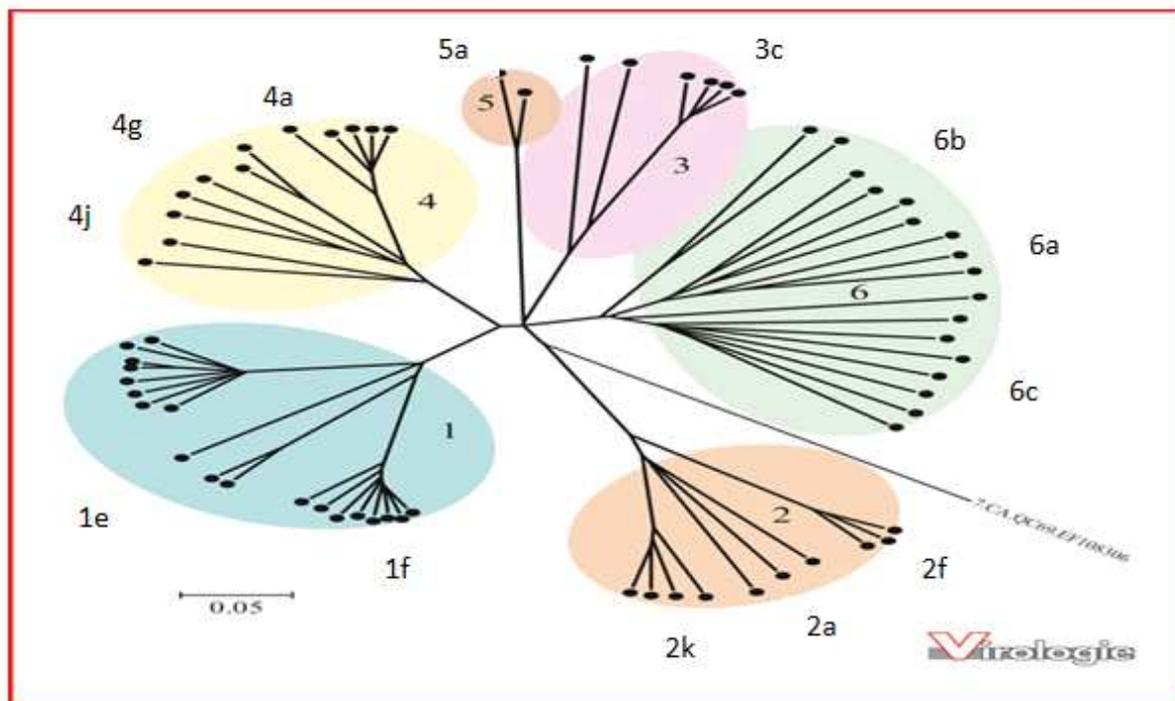
## 5. Variabilité génétique :

### 5.1. Génotype :

Un système de classification a été proposé en 1994 par *Simmonds et al*, fondé sur la seule comparaison des régions 5'NC des différents isolats, pour caractériser les génotypes. Cependant, la nomenclature a été redéfinie et simplifiée en 1998, elle repose sur l'analyse phylogénétique des régions C/E1, NS5B ou de la séquence complète du génome(29).

Le VHC montre une importante diversité génétique, conséquence du défaut d'activité correctrice de l'ARN-polymérase ARN-dépendante (introduction de substitution) et d'une absence d'activité 5'-3' exonucléasique (absence de correction d'erreur). Le taux moyen de mutations nucléotidiques varie entre  $1,4$  et  $1,9 \cdot 10^{-3}$  substitution par nucléotide et par an(30)(31).

Les variants du VHC sont ainsi classés en sept types, puis en sous-types correspondant aux sous-ensembles de virus les plus reliés phylogénétiquement au sein d'un même type. Le type est désigné par un chiffre arabe (de 1 à 7) auquel est attribué une lettre minuscule (a, b, c...) correspondant au sous-type (voir fig 5)(29)(32).



**Figure n°5 :** Arbre phylogénétique représentant les différents génotypes et sous-types du VHC (34)

### 5.2. Les quasi-espèces :

C'est la population formée de l'ensemble des variants viraux appartenant à un même génotype, résultant des mutations ponctuelles sur le génome ce qui explique l'existence à un moment donné d'un mélange complexe de molécules d'ARN. L'ensemble des variants de la quasi-espèce ne diffèrent entre eux que par quelques mutations (plus de 90 % d'homologie de séquence nucléotidique) (35).

### 5.3. Recombinaison génétique :

La découverte d'un virus chimère issue d'un événement de recombinaison homologue inter-génotypique (types 2k/1b) qui a été identifié à Saint-Petersbourg en 2002. Depuis, un nombre restreint de virus recombinants inter-génotypiques ou intra-génotypiques a été caractérisé in vivo. Le point de recombinaison est préférentiellement localisé entre les gènes non structuraux NS2 et NS3(36)(37).

## 6. Répartition géographiques des génotypes :

La répartition géographique des différents génotypes du VHC variable d'un continent à l'autre et même d'un pays à l'autre. Néanmoins, cette répartition peut être estimée schématiquement de la façon suivante (voir fig 6):

- **Génotype 1** : le génotype 1 (1a et 1b) est le plus fréquent dans le monde entier : on cite les pays de l'Asie, de l'Afrique Sub-saharienne, de Europe de l'est (38).
- **Génotype 2** : le génotype 2 (2a, 2b et 2c) est le plus courant en Amérique, en Ouest Afrique sub-saharienne et en Europe de l'Ouest(38).
- **Génotype 3** : est le plus fréquent en Asie, en Europe de l'est et en Amérique du Nord(37) .
- **Génotype 4** : est le plus courants en Egypte et en Moyen-Orient(38)(39).
- **Génotype 5** : Il se trouve majoritairement en Afrique du sud(38).
- **Génotype 6** : est le plus souvent retrouvé en Asie du sud-est(33).
- **Génotype 7** : est retrouvé dans la République démocratique du Congo (Afrique centrale) (32)(38).

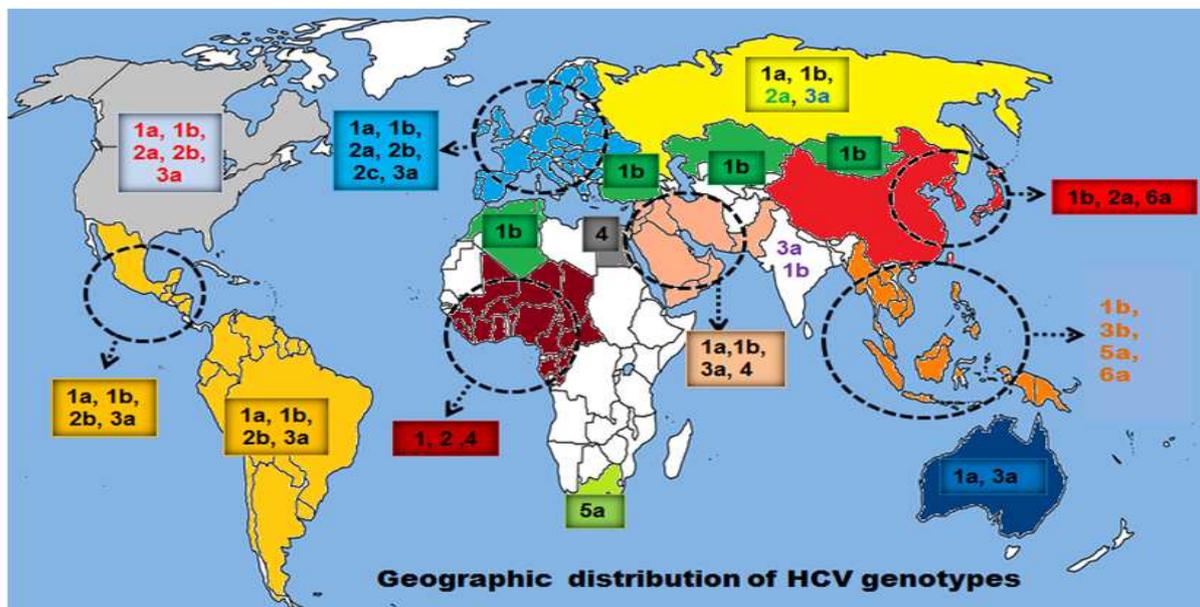


Figure n°6 : Répartition géographique des différents génotypes (38)

## 7. Principales méthode de typage du VHC :

Il existe plusieurs méthodes permettant de typer le VHC, soit à partir des AC anti-VHC (sérotypage), soit à partir de l'ARN viral (génotypage) :

### **7.1. Le sérotypage par ELISA compétition :**

Il consiste à rechercher des anticorps spécifiques des divers sérotypes VHC (1 à 6) dans le sérum ou le plasma à l'aide de peptides de la région NS4, représentatifs des différents sérotypes.

Le sérotypage ne permet pas le sous-typage car les épitopes de la protéine NS4 sont relativement conservés entre les différents sous-types d'un même type. Par ailleurs, certains sujets ne développent pas d'anticorps anti-NS4, ils sont par conséquent non sérotypable et ils représentent 20 à 25% des cas.

Cette technique présente l'avantage de pouvoir déterminer le sérotype à partir de sérums de patients non virémiques(41)(42).

### **7.2. Tests moléculaire de détermination du génotype : GENOTYPAGE**

Le génotypage du VHC permet l'étude de sa variabilité génétique. Les techniques de génotypage sont fondées sur une amplification préalable d'une partie ou de la totalité du génome viral par PCR(20).

#### **➤ Séquençage :**

Le séquençage est la technique de référence puisqu'elle consiste en une analyse de la séquence nucléotidique de la souche donnée, qui s'effectue dans différentes régions du génome viral, le plus souvent les régions NS5B, E1 et la capsid. Il sert de référence à la constitution des arbres phylogéniques permettant de classer les isolats en types et sous-types. Les séquences ainsi identifiées sont comparées aux séquences enregistrées dans les différentes banques de données(35).

#### **➤ La PCR en temps réel :**

Après une RT-PCR d'une séquence cible du génome du VHC, les génotypes sont détectés à l'aide de sondes oligonucléotidiques marquées par un fluorochrome spécifique au génotype.

#### **➤ Etude du polymorphisme de restriction :**

L'étude du polymorphisme de restriction (restriction fragment length polymorphism, RFLP) consiste à réaliser une amplification d'une région donnée du génome du VHC (le plus souvent les régions 5'NC et NS5B), suivie d'une coupure du produit d'amplification à l'aide de plusieurs enzymes de restriction, puis la séparation de ces fragments par électrophorèse. Le choix approprié des combinaisons d'enzymes permet d'obtenir des fragments de taille variable caractéristique de type ou de sous-type. Cette technique, peu onéreuse, permet de différencier dans 80 % des cas les sous-types du VHC (méthode de moins au moins utilisée)(35).

➤ **Hybridation inverse :**

Cette technique consiste en une amplification de la région 5'NC du VHC, puis en une hybridation des produits d'amplification avec des sondes nucléotidiques spécifiques des différents types et sous-types. Ces sondes sont soit immobilisées sur bandelette de nitrocellulose, soit fixées dans des puits d'une micro-plaque. L'hybridation est ensuite révélée par une méthode colorimétrique enzymatique. Cette technique, de réalisation simple est très informative pour la détermination des types et sous-types dans près de 96 % des cas(35).

**8. Traitement :**

- L'association interféron alphapégylé et ribavirine (26).
- L'antiprotéases, comme le bocéprévir et le télaprévir(4) .
- Les nouvelles molécules ;exemple : Le sofosbuvir(Sovaldi®, Gilead science) ,le daclatasvir (Daklinza®,BMS)(43),.....

Actuellement, il n'existe aucun vaccin pour l'hépatite C(44).

**Chapitre II :**  
**Matériels et méthodes**

Au cours de l'étude prospective que nous avons effectué au niveau du service de microbiologie du CHU Mustapha Bacha durant la période de Mars 2016 jusqu'à Juin 2016, nous avons testé 28 sérums de patient atteints d'hépatite C chronique.

Nous avons également effectué une étude rétrospective en analysant les résultats de géotypages effectués sur 726 sérums pendant la période de Janvier 2009 jusqu'à Mai 2015.

Nous allons donc analyser les résultats d'un total de 754 échantillons.

## **1. Prélèvements et conservation :**

Les échantillons sanguins prélevés dans des tubes EDTA vont subir une centrifugation à fin de récupérer le plasma qui sera conservé à +8° C pour quelques jours, sinon congelé à - 20°C.

## **2. Méthodes :**

### **2.1.Géotypage du VHC par technique d'hybridation inverse (INNO-LIPA HCV 2.0, Innogenetics/ Bayer HC):**

Ce test de 2<sup>ème</sup> génération amplifie deux régions du génome viral, la région **5'NC** et la région **C**. Contrairement au précédent test de 1<sup>ère</sup> génération qui n'amplifiait que la région 5'NC, celui de 2<sup>ème</sup> génération permet une meilleure discrimination entre les sous types 1a et 1b d'un coté , et permet de distinguer certains sous types du G6 ( de c à i )qui étaient souvent confondus avec le G1 d'un autre coté(45).

#### **2.1.1.Le principe :**

Dans ce test, il y a 3 opérations principales :

##### **2.1.1.1.L'extraction :**

L'extraction de l'ARN comporte quatre étapes : la lyse, la séparation, la purification et l'élution d'acide nucléique virale.

##### **2.1.1.2. Amplification :**

Amplification de l'ADNc par RT-PCR à l'aide d'amorces complémentaires, spécifiques du VHC consiste à amplifier la région 5'NC et la région C.

##### **2.1.1.3.Hybridation inverse :**

Après l'extraction et l'amplification de l'ARN virale,l'hybridation permettra de révéler les différents géotypes en utilisant les amorces biotinylées, on obtient de l'ADN double brin biotinylé. Celui-ci sera dénaturé pour pouvoir l'hybrider avec des sondes nucléotidiques spécifiques des différents types et sous-types du VHC. Celles-ci sont fixées sur une bandelette de nitrocellulose. Cette technique permet non seulement de typer mais également de sous-typer le VHC.

Les différentes étapes d'hybridation inverse sont illustrées dans les figures suivantes :

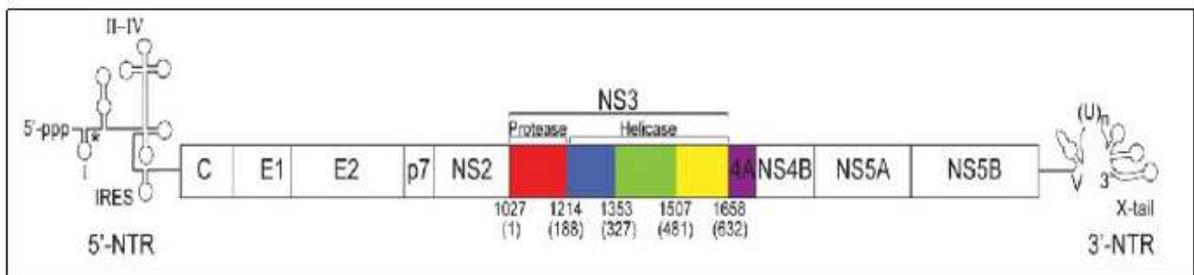


Figure n°7 : Génome du VHC(46)

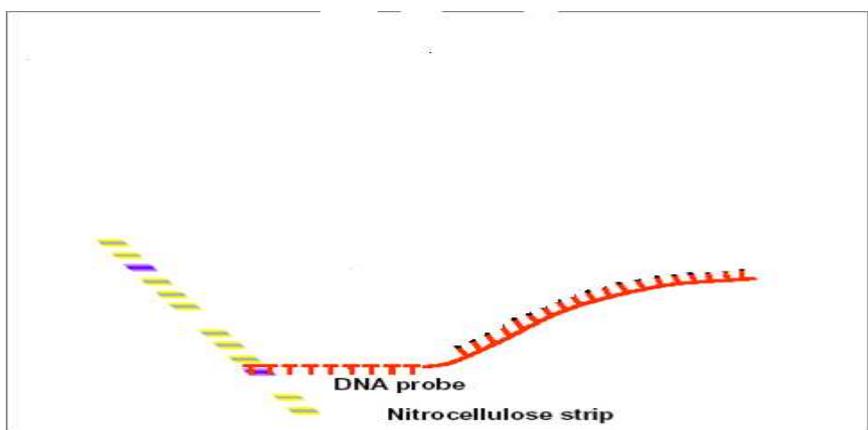


Figure n°8 : Hybridation inverse principe 1 : des sondes oligonucleotidiques spécifiques des différents types du VHC et relatives aux régions 5'NC et C sont fixées sur la bandelette de nitrocellulose.

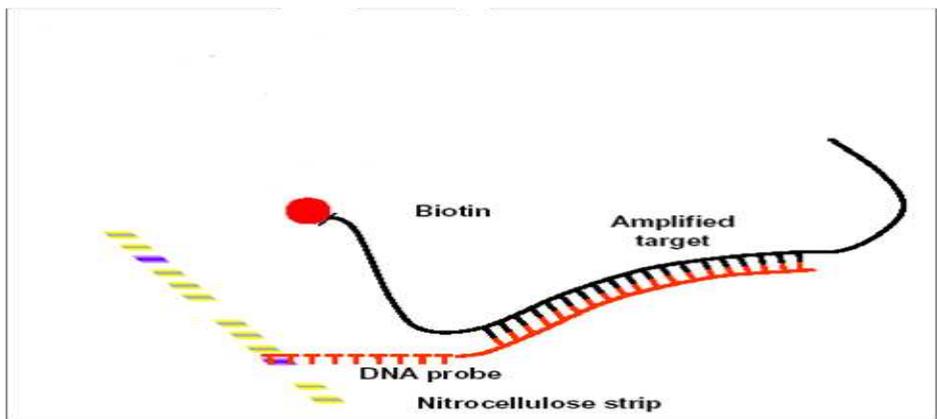
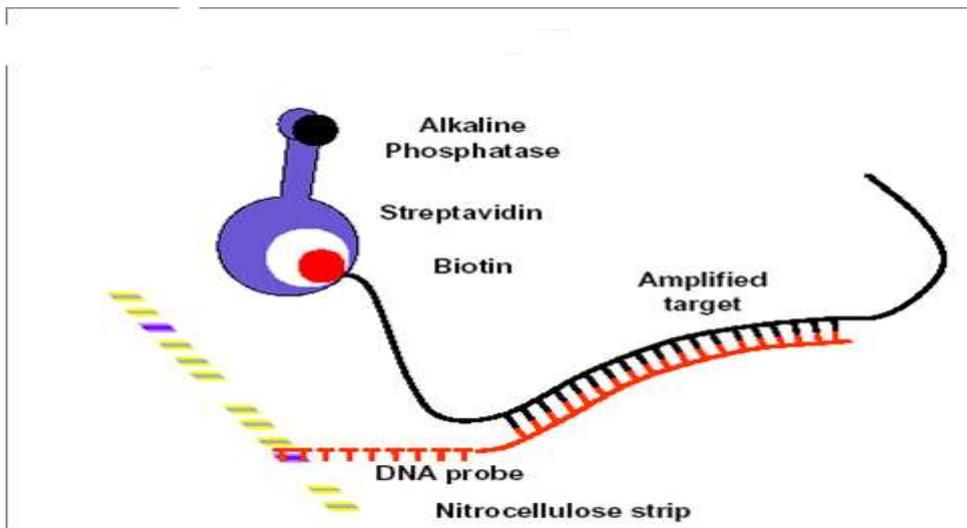
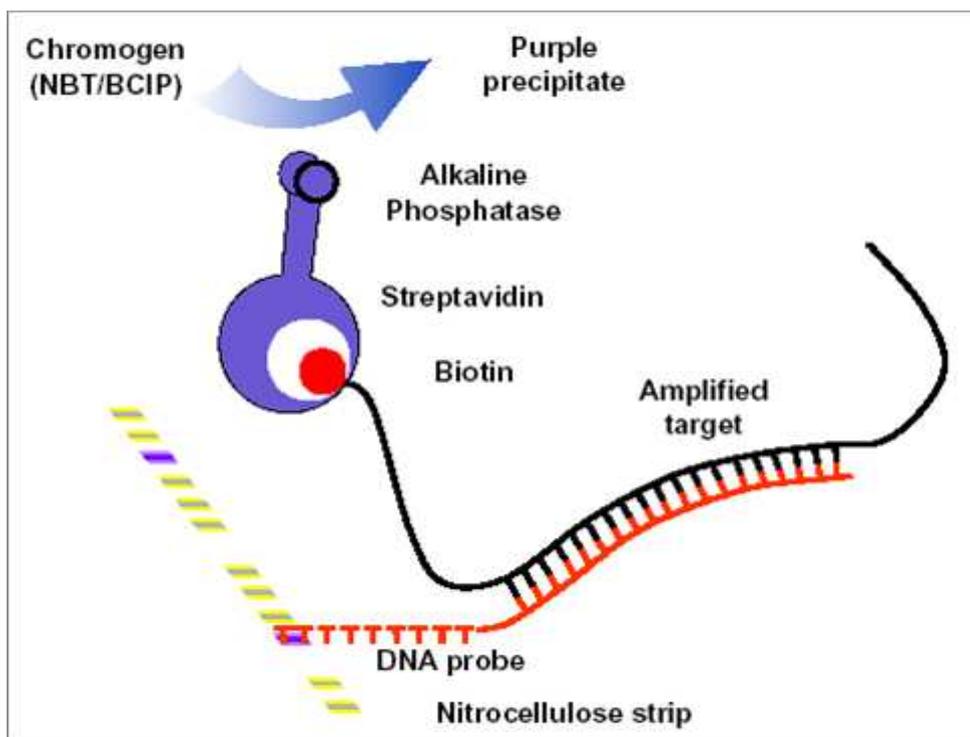


Figure n°9 : Hybridation inverse principe 2 :le produit d'amplification(ADN) biotinylé est dénaturé vient s'hybrider au niveau des sondes complémentaires.



**Figure n°10 :** Hybridation inverse principe 3 : après une étape de lavage qui élimine l'ADN non fixés aux sondes, il y a liaison de la streptavidine marquée par la phosphatase alcaline(conjugué) à la biotine de l'hybride.



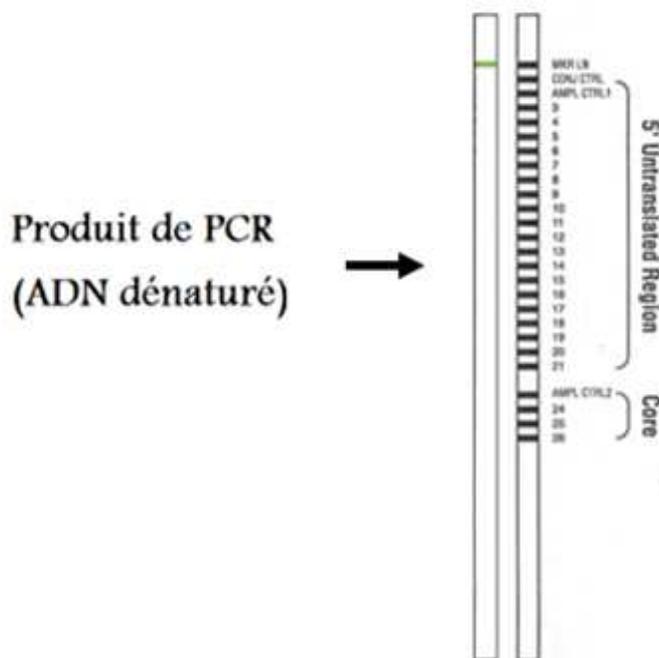
**Figure n°11 :** Hybridation inverse principe 4 : après étape de lavage, on ajoute un chromogène BCIP/NBT(substrat)qui va réagir avec la phosphatase alcaline pour former un précipité de couleur violette/marron, qui entraine la formation d'une série de bandes visibles sur la bandelette.

❖ **Lecture et interprétation :**

L'hybridation ADN-sonde est révélée par une réaction colorée sous forme de bandes. Chaque profil de bandes obtenu correspond à un type et/ou sous-type particulier du VHC .

**- Lecture :**

Après validation des contrôles,l'identification des bandes révélées se fait par comparaison à l'abaque (voir fig 12).



**Figure n°12 :** Lecture des bandes

A droite l'abaque utilisée comme référence pour la lecture des résultats. A gauche la bandelette utilisée pour l'échantillon ou le témoin et sur laquelle sont fixées les sondes oligonucleotidiques spécifiques des différents génotypes VHC.En haut, la ligne de contrôle conjugué(CONJ CTRL) sert de contrôle à la réaction colorée . Le contrôle d'amplification(AMPL CTRL 1) à la ligne 2 contient des sondes universelles qui s'hybrident au produit de PCR de la region5'NC. Le contrôle d'amplification(AMPL CTRL 2) à la ligne 23 contient des sondes universelles qui s'hybrident au produit de PCR de la région C.

**Exemple des différents génotypes :**

**Tableau 1 :** Ces profils correspondent selon le tableau fourni par le kit aux différents génotypes

G1	
G2	
G3	
G4	
G5	

**3. Protocol (voir annexe).**

**Chapitre III :**  
**Résultats et discussion**

**1. Résultats :**

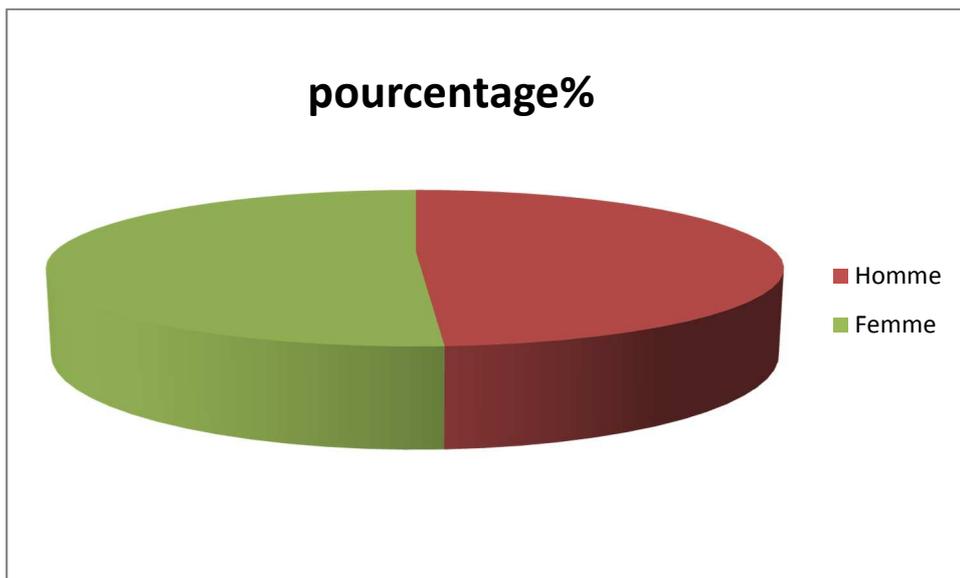
Nous allons présenter les résultats de l’analyse des 754 échantillons

**1.2 Répartition des patients atteints d’hépatite C chronique selon le sexe (N=754) :**

Les 754 patient atteints d’hépatite C chronique, faisant l’objet de cette étude sont répartis en 368 sujets de sexe masculin, et 386 sujets de sexe féminin. Ces données sont illustrées dans le tableau suivant.

**Tableau 3 :** Répartition des patients atteints d’hépatite C chronique selon le sexe (N=754)

Le sexe (2009-2016)	Nombre des patients	Pourcentage %
Homme	368	49
Femme	386	51
Total	754	100



**Figure n°14 :** Répartition des patients atteints d’hépatite C chronique selon le sexe

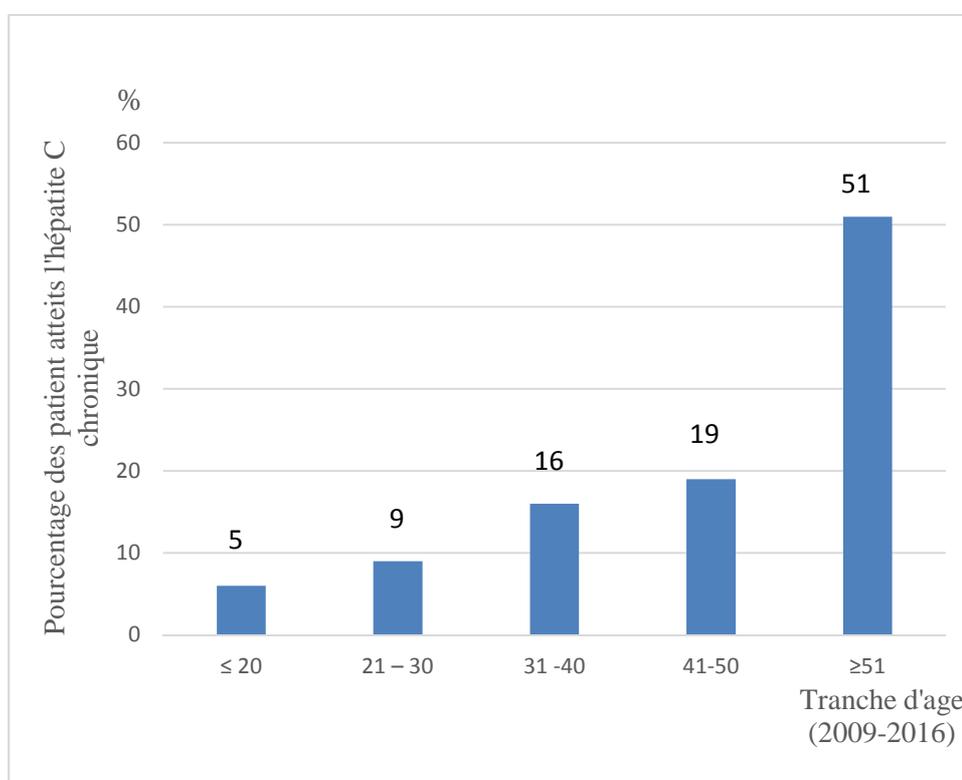
Les résultats obtenus montrent qu’il n’y a pas de prédominance de sexe.

**1.2. Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon l'âge :**

**Tableau 4 :** Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon l'âge (N=754)

L'âge moyen des patients est de 49 ans.

Les tranches d'âge (2009-2016)	Nombre des patients	Pourcentage%
≤ 20	41	5
21 – 30	70	9
31 -40	117	16
41-50	141	19
≥51	385	51
Total	754	100



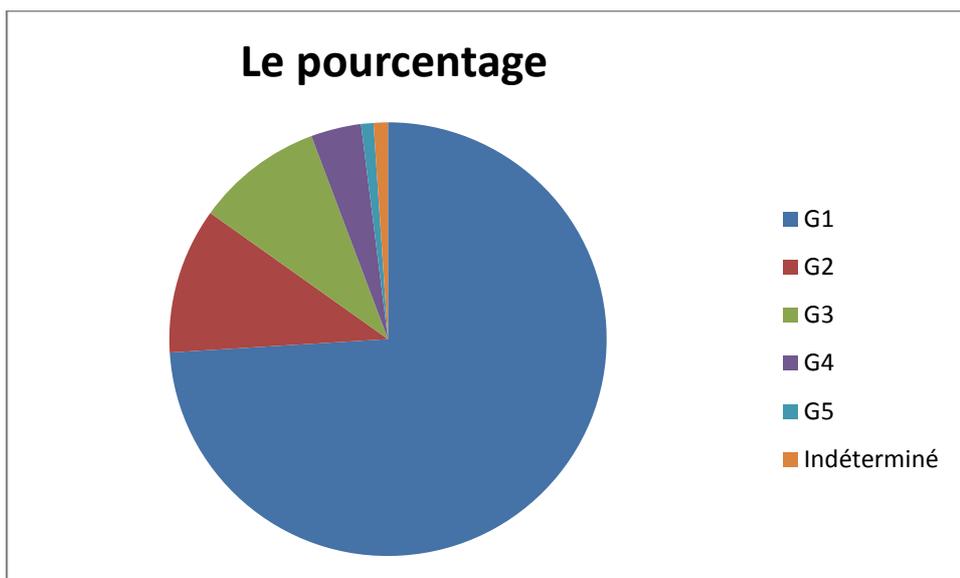
**Figure n°15 :** Répartition des patients atteints d'hépatite C chronique selon l'âge

Les résultats obtenus montrent que la tranche d'âge (≥51 ans) est la plus touchée avec un taux de 51%.

**1.3. Distribution globale des génotypes du VHC (N=754) :**

**Tableau 6:** Distribution globale des génotypes du VHC

Génotype	G1	G2	G3	G4	G5	Indéterminé	Total
Le nombre	557	82	71	29	7	8	754
Le pourcentage%	73,87	10,87	9,42	3,84	0,92	1,06	100



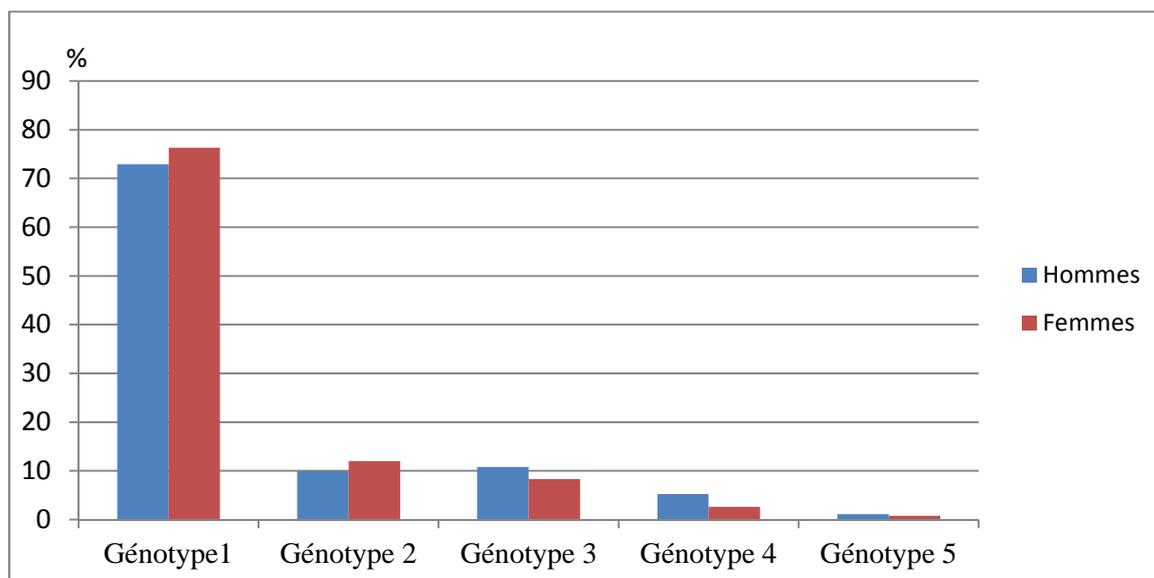
**Figure n°17 :** Répartition globale des génotypes du VHC

Parmi les échantillons testés, on a retrouvé tout les génotypes du VHC sauf le génotype 6, avec une nette prédominance du génotype 1, suivi des génotypes 2 et 3. Donc les trois principaux génotypes retrouvés en Algérie sont les G1, G2 et G3.

**1.4. Distribution des génotypes du VHC selon le sexe :**

**Tableau 7 :** Distribution des génotypes du VHC selon le sexe (N=754)

Génotypes	Hommes		Femmes	
	n	%	n	%
Génotype1	264	72 ,92	293	76,30
Génotype 2	36	9 ,94	46	11,97
Génotype 3	39	10 ,77	32	8,33
Génotype 4	19	5,24	10	2,60
Génotype 5	4	1,10	3	0,78
Total	362	100	384	100



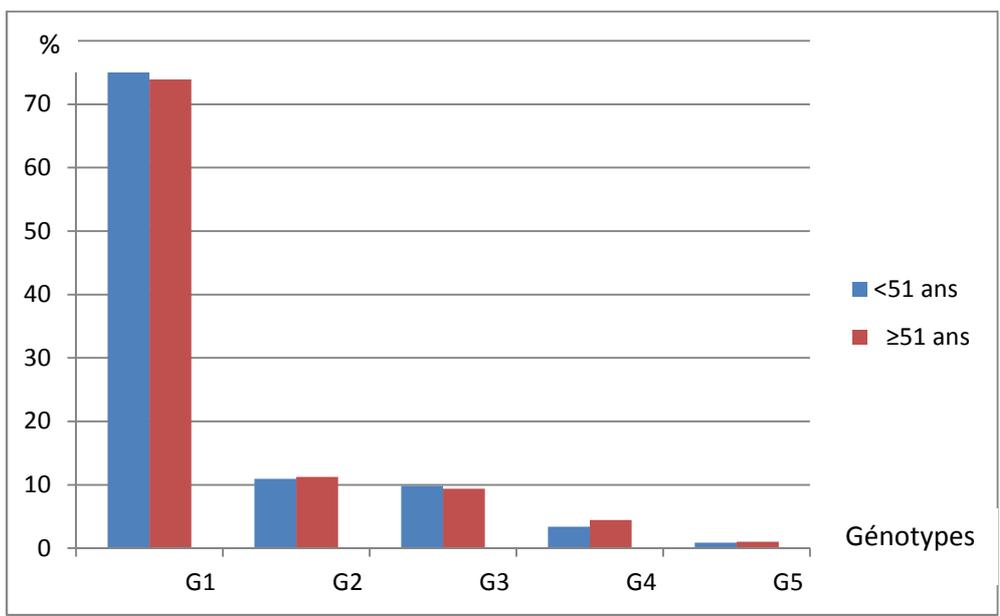
**Figure n°18 :** Distribution des génotypes du VHC selon le sexe

Les résultats obtenus montrent que le sexe n’a pas d’influence sur la distribution des génotypes donc quel que soit le sexe le génotype 1 est prédominant.

**1.6 Distribution des génotypes du VHC selon l'âge :**

**Tableau 8 :** Distribution des génotypes du VHC selon l'âge (N=754)

L'âge Le génotype	< 51 ans		≥ 51 ans	
	N	%	N	%
G1	267	75	283	73,89
G2	39	10,95	43	11,22
G3	35	9,83	36	9,39
G4	12	3,37	17	4,43
G5	3	0,85	4	1,04
Total	356	100	383	100



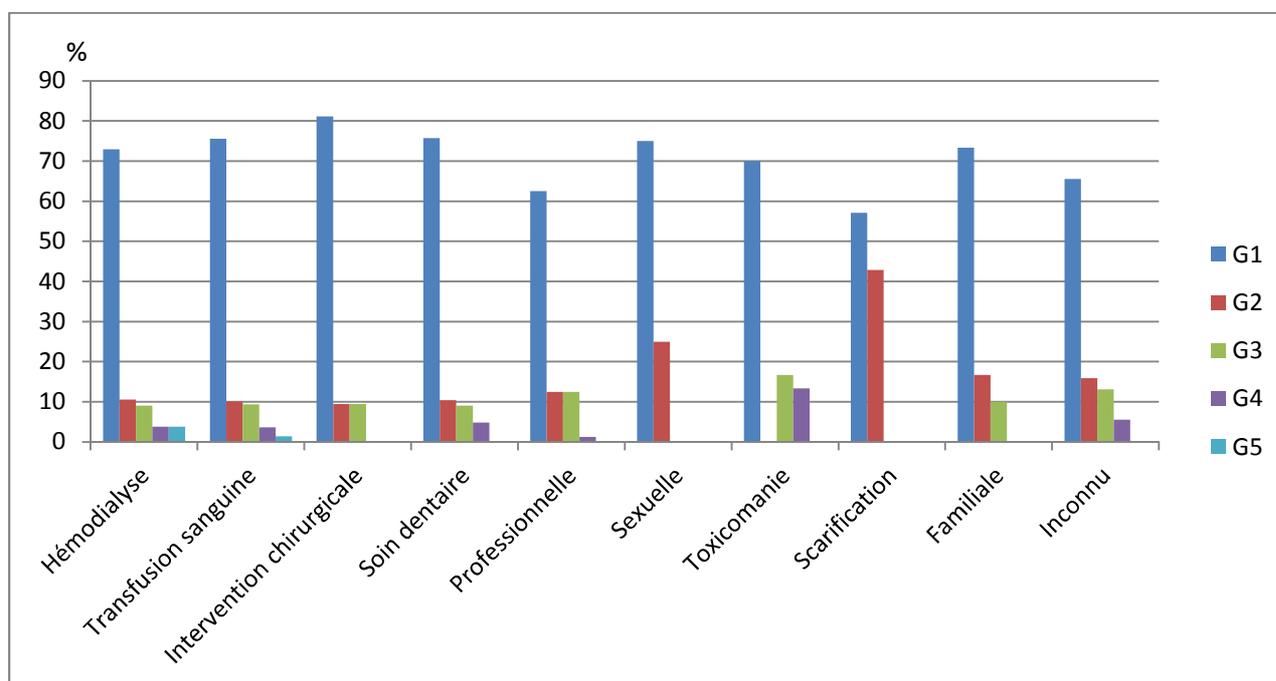
**Figure n°19 :** Distribution des génotypes selon l'âge

Les génotypes (1 à 5) sont les plus fréquents chez la tranche d'âge supérieur ou égale à 51 ans.

**1.7. Relation entre génotypes du VHC et facteur de risque :**

**Tableau 9:** Relation entre génotypes du VHC et mode de transmission (N=754)

Génotypes Mode de transmission	G1		G2		G3		G4		G5		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Hémodialyse	97	72,93	14	10,53	12	9,02	5	3,76	5	3,76	133	100
Transfusion sanguine	105	75,54	14	10,07	13	9,35	5	3,60	2	1,44	139	100
Intervention chirurgicale	86	81,14	10	9,43	10	9,43	0	0	0	0	106	100
Soin dentaire	109	75,69	15	10,42	13	9,03	7	4,86	0	0	144	100
Professionnelle	5	62,5	1	12,5	1	12,5	1	1,25	0	0	8	100
Sexuelle	3	75	1	25	0	0	0	0	0	0	4	100
Toxicomanie	21	70	0	0	5	16,67	4	13,33	0	0	30	100
Scarification	4	57,14	3	42,86	0	0	0	0	0	0	7	100
Familiale	22	73,33	5	16,67	3	10	0	0	0	0	30	100
Inconnu	95	65,51	23	15,86	19	13,10	8	5,51	0	0	145	100



**Figure n°20 :** Distribution des génotypes selon les facteurs de risque

Les résultats obtenus montrent que le type G1 est le plus fréquent chez les sujets ayant une hépatite C par transmission nosocomiale.

**1.8. Distribution géographique des différents géotypes en Algérie : (N=754)**

Les 754 patients atteints d'infection chronique par le VHC sont originaires :

69,49% des wilayas de centre (Alger, Boumerdes, Media, Bouira, Tiziouzou, Tipaza)

18, 3% des wilayas de l'est (Batna, Bejaia, Khenchla, Sétif, Mila, Tébessa ,Djidjel)

6,36% de l'ouest de pays (Chlef, Khemismiliana, Ain defla, Oran, sidi belabbes, Mascara ,Media)

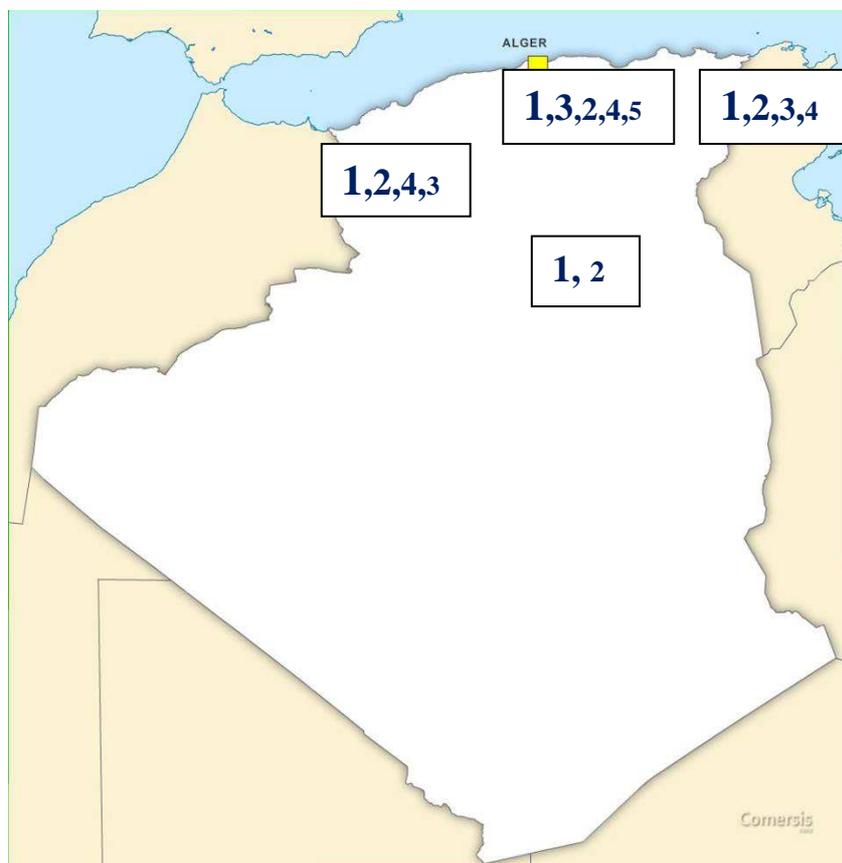
5 ,57% du sud de pays et des hauts plateaux (Djelfa, Boussada, Laghouat, Bechar, Hassi Messaoud ,Tamanrasset)

**Tableau 10** : Répartition géographique des différents géotypes en Algérie : (N=754)

Région Géotype	Centre		Est		Ouest		Sud	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
G1	355	71,28	118	87,40	35	74,47	32	80
G2	48	9,64	12	8,89	9	19,15	8	20
G3	65	13,05	3	2,23	1	2,13	0	0
G4	23	4,62	2	1,48	2	4,25	0	0
G5	7	1,41	0	0	0	0	0	0
Total	498	100	135	100	47	100	40	100

Nos patients sont originaires pour la plupart, de la région centre du pays. Au niveau de celle-ci, on constate la prédominance du G1 suivi du G3, puis des G2, G4, G5 situation comparable à celle qu'on retrouve dans de nombreuses régions du monde, par contre aucun G6 n'a été dépisté.

Cette constatation est à confirmer avec un échantillon plus représentatif.

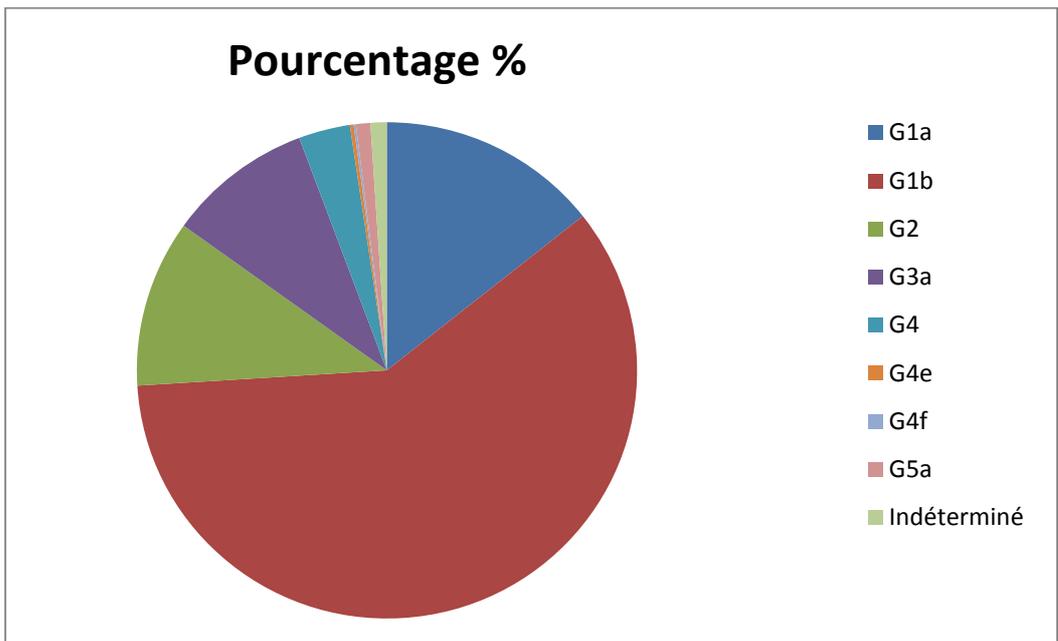


**Figure n°21** : Les différents génotypes du VHC retrouvés en Algérie

**1.9. Les différents sous-types génomiques du VHC retrouvés en Algérie :**  
(identifiés par hybridation inverse) :

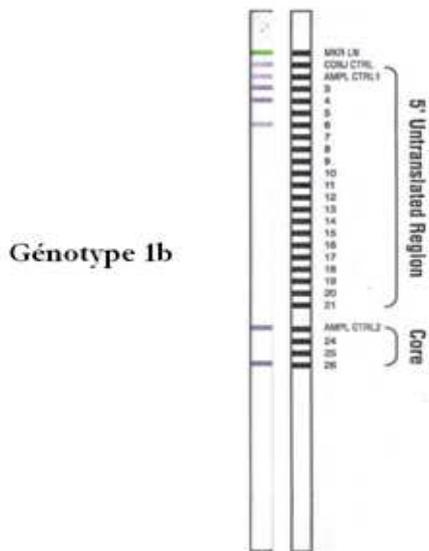
**Tableau 11** : Les sous-types génomiques du VHC retrouvés en Algérie (N=754)

Sous types	Nombre de patient	Pourcentage %
G1a	108	14,32
G1b	450	59,68
G2	82	10,87
G3a	71	9,41
G4	25	3,31
G4e	2	0,26
G4f	1	0,14
G5a	7	0,92
Indéterminé	8	1,06
Total	754	100



**Figure n°22 :** Les différents sous-types génomiques du VHC retrouvés en Algérie

On note la large prédominance du sous type 1b par rapport au sous type 1a en Algérie.

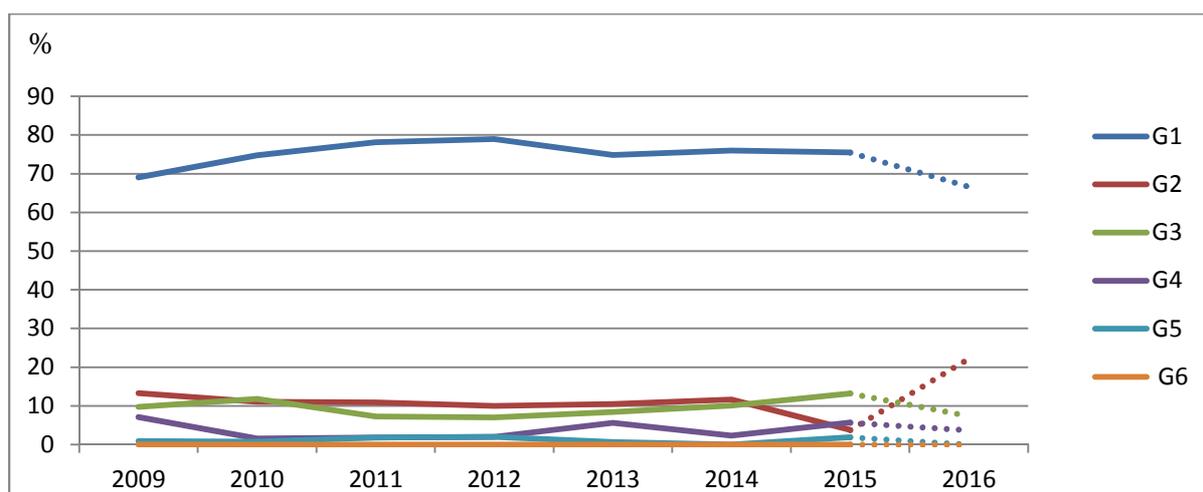


**Figure n°23 :** ce profil correspond selon le tableau fourni par le kit au gentye 1b.

**1.10. Distribution annuelle des différents génotypes du VHC de l'année 2009 à l'année 2016 (N=754) :**

**Tableau 12 :** Distribution annuelle des différents génotypes du VHC de l'année 2009 à l'année 2016

Génotype Année	G1		G2		G3		G4		G5		G6	Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	%	
Janvier 2009	78	69,03	15	13,27	11	9,74	8	7,07	1	0,88	0	113
2010	95	74,8	14	11,03	15	11,82	2	1,57	1	0,78	0	127
2011	43	78,18	6	10,91	4	7,27	1	1,82	1	1,82	0	55
2012	79	79	10	10	7	7	2	2	2	2	0	100
2013	106	74,12	15	10,49	12	8,39	9	6,29	1	0,70	0	143
2014	98	75,97	14	10,93	13	10,07	3	2,33	0	0	0	128
2015	40	75,47	2	3,76	7	13,22	3	5,66	1	1,89	0	53
Juin 2016	18	66,66	6	22,22	2	7,40	1	3,70	0	0	0	27



**Figure n°24 :** Distribution annuelle des différents génotypes du VHC de l'année 2009 à 2016

On n'a pas de différence du profil de distribution des génotypes en comparant les différentes années de la période d'observation (2009 – 2014). L'évolution de la répartition des génotypes montre une tendance similaire, avec de légères variations d'année en année.

## 2. Discussion :

Il ressort de notre étude que la prévalence de l'infection par le VHC augmente avec l'âge et notamment chez les sujets de la cinquantaine. En effet, dans notre série, la classe d'âge la plus touchée est celle des sujets de **plus de 50 ans** avec une fréquence de **51%**.

En outre, les résultats de notre travail laissent suspecter que le mode de transmission le plus probable du VHC serait la transmission **nosocomiale** car la notion de soins médicaux est retrouvée dans **72,27%** des cas (Hémodialyse, Transfusion sanguine, Intervention chirurgicale, Soins dentaires).

**La toxicomanie** n'est présente que dans **4.24 %** des cas .

D'autre part, dans **16,44%** des cas **aucun facteur de risque** n'est retrouvé et le mode de transmission reste inconnu.

Des différences géographiques sont observées au niveau de la répartition des géotypes du virus de l'hépatite C.

On constate dans notre échantillon, la nette prédominance du **G1b**, suivi des autres types : 1a, 2, 3a, 4, 5a, 4e et 4f , par contre aucun G6 n'a été dépisté. Cette répartition est comparable à celle qu'on retrouve dans de nombreuses régions du monde.

En Europe de l'Ouest, les géotypes les plus fréquemment rencontrés sont les 1b, 3a, 1a et le 2. Le **G1b** a tendance à être plus fréquent en Europe du Sud. En France, le **G1b** est le plus répandu (**41 %**) suivi du G3a (22 %), du G1a (16 %), du G2 (11 %). Les G4 (4 %) et les géotypes 5 ou 6 (1 %) sont plus rares. Le G1b est plus fréquent chez les femmes de **plus de 50 ans** et chez les malades ayant un antécédent de transfusion sanguine. Le G3a est plus retrouvé chez les malades ayant un antécédent de toxicomanie.

En Afrique, **G4** est fréquemment observé en Afrique de l'Est (particulièrement en Égypte). En Libye, ce sont G1 et G 4 qui sont les plus fréquents.

Nos résultats concordent surtout avec ceux de nos voisins tunisiens. En effet selon *Radhouane Debbeche et al*, il a été montré une prédominance du G1 : **1b (79%)** et 1a (5 %), suivi par les G2 (10 %), 3a (3 %) et 4a (1 %). Les géotypes 5 et 6 n'ont pas été retrouvés. (47)

La répartition générale des génotypes du VHC permet de constater que le **G 1** est nettement prédominant dans toutes les régions du pays. Ce génotype est associé à une mauvaise réponse au traitement antiviral classique par rapport aux G 2 et G3 dont la bonne réponse à ce traitement est évaluée aux environs de 80%(48).

La prédominance du **G1b** : 59,68% par rapport au G1a : 14,32% est un avantage dans le cas de l'utilisation de traitement sans interféron car le sous type 1a nécessite l'ajout de ribavirine.

Actuellement le typage du VHC se fait en routine essentiellement par deux tests : hybridation inverse et PCR en temps réel.

Par ailleurs, la fréquence du G3a est estimée à 9,41%, elle est particulièrement élevée dans la région centre du pays avec un taux de 13%. Certaines nouvelles molécules sont moins efficaces chez les patients infectés par le G3 et requièrent un plus long schéma thérapeutique(51) (52) (48).

Tous les génotypes sont retrouvés sauf les génotypes 6 et 7.

Le G 7 n'a pas été retrouvé dans notre étude car il est soit de profil indéterminé soit confondu avec le G 2. A noter que sa présence en Algérie n'a pas été encore signalé.

# ***Conclusion***

## Conclusion.....

La technique d'hybridation inverse nous a permis de connaître les différents génotypes circulants en Algérie.

En effet, le G1 (1b) qui est prédominant dans notre échantillon et qui est le plus fréquent en Algérie, est heureusement devenu un génotype bon répondeur aux nouveaux traitements. Ce génotype est suivi par le G3 au centre du pays et par le G2 dans les autres régions.

Grace aux nouvelles molécules thérapeutiques une grande note d'espoir est apportée car pratiquement tous les génotypes répondent bien au traitement 90%, à l'exception de G3 qui semble être légèrement moins bon répondeur dont la prévalence en Algérie est de 9,41%.

## **Bibliographie :**

- 1- Mohd Hanafiah K ., Groeger J et al., 2013.Global epidemiology of Hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*, 57:1333-42.
- 2- Jean D., 2006. Hépatite C : Contribution à la prise en charge de l'hépatite aiguë et à l'évaluation du profil épidémiologique des porteurs chroniques du virus. Université de Liège . Faculté de Médecine, 183 p.
- 3- Pawlotsky J.M ., 2003. Flaviviridae-Virus de l'hépatite C et virus GB-C. In : *Traité de virologiemédicale*. Paris : Editions ESTEM, 699 p .
- 4- Claire F., Bernard W., 2012. L'hépatite C chronique... une maladie curable ! *Le Médecin du Québec*, vol. 47, n°4.
- 5- Amaury M., 2007. Développement de nouvelles approches antivirales du virus de l'hépatite C basées sur l'utilisation d'interférons alpha variants et d'antisens de type Peptide Nucleic Acids. *Immunologie*, Université Claude Bernard - Lyon I, p24-211.
- 6- Agence national du sang ., 2014.Rapport d'activité de la transfusion sanguine ,p 52-53. (<http://www.ans.dz/images/PDF/bilan%20ANS%202014.pdf>).
- 7- Nousbaum J.B., 1997.Les sous-types génomiques du virus de l'hépatite C : épidémiologie, diagnostic et conséquences cliniques. Service d'hépto-gastroentérologie, CHU de la Cavale blanche, Cedex .
- 8- <https://www.hepatites-info-service.org/?Hepatite-C-Chiffres>.
- 9- Lewis S.H., Dirksen S.H et al., 2011 . Soins infirmiers Tome3 .Edition française. Canada , 500 p.
- 10- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/fr/index.html> .
- 11- Shepard C.W., Finelli L. et al., 2005. Global epidemiology of hepatitis C virus infection, vol. 5, n°9, p 558-567.
- 12- <http://hepatoweb.com/hepatite-C-epidemiologie.php>.
- 13- Payne E ., Totten S. et al., 2014. Surveillance de l'hépatite C au Canada, 40-19.
- 14- Institut national de prévention et l'éducation pour la santé(France) ., 2007 .Hépatite C :dépistage au traitement. INPES, 73p.

- 15- <http://hepatoweb.com/hepatite-C-transmission.php>.
- 16- Evelyne M .,2007 . Les virus .Edition : le cavalier Bleu, 96p.
- 17- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/fr/>.
- 18- <http://fr.dreamstime.com/illustration-stock-virus-de-l-hpatite-c-image43487650>.
- 19- Penin F.,Dubuisson J.et al., 2004. Structural biology of hepatitis C virus .Hepatology, vol. 39, n°1, p.5-19.
- 20- Zeba T.A.M., 2009 .Coïnfection du virus de l'hépatite C (VHC) et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) chez les femmes enceintes au centre médical Saint-Camille de Ouagadougou. Univerité de Ouagadougou : Unité de Formation et de Recherche Sciences de la Vie et de la Terre , 60 p .
- 21- Bartenschlager R., Lohmann V.,2000. Replication of hapatitis C virus ,81 :131-1648.
- 22- <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/23451/ch01.html>.
- 23- Khelifa R.,2008. Distribution des génotypes de l'hépatite C en Algérie : Expérience de l'hopital Mustapha.
- 24- Guévin C., 2012. Développement d'un modèle murin permettant la réplication du virus de l'hépatite C in vivo et étude sur l'autophage. Université du Québec INRS-Institut Armand-Frappier. P 9- 210.
- 25- Chavaliez S.,Pawlotsky J.M.,2007. Hepatitis C virus : Virology, diagnosis and management of antiviral therapy. World J Gastroenterol ; 13(17) : 2461-2466.Roche M .
- 26- Roche M.,2013.Étude du polymorphisme de la protéase NS3 du virus de l'hépatite C de génotype 1 par séquençage direct, avant initiation et après échec de la trithérapie antivirale, comprenant une antiprotéase (bocéprévir ou télaprévir) chez 28 patients suivis au CHU d'Angers. Université angers de Cedex : UFR Sciences pharmaceutiques et ingénierie de la santé, 99 p.
- 27 – Ashfaq U. A., Javed T .et al., 2011. An overview of HCV Molecular biology, replication and immune responses . Virology journalN, vol. 8, n°161, p. 1-10.
- 28- Schvoerer E., Thumann C., Abraham J.D., Stoll-Keller F . , 2003. Le virus de l'hépatite C et les cellules du système immunitaire.Virologie .John Libbey EUROTTEXT. Université Louis Pasteur,Strasbourg , vol 7 n°5, p.339-51.  
([http://www.jle.com/fr/revues/vir/e-docs/le\\_virus\\_de\\_lhepatite\\_c\\_et\\_les\\_cellules\\_du\\_systeme\\_immunitaire\\_\\_261597/article.phtml?tab=images](http://www.jle.com/fr/revues/vir/e-docs/le_virus_de_lhepatite_c_et_les_cellules_du_systeme_immunitaire__261597/article.phtml?tab=images)).

- 29- Simmonds P., J.Bukh . et al ., 2005. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes . *Hepatology* ,vol. 42, n°4, p.962-973.
- 30-Ogata N., Alter H.J., Miller R.H., Purcell R.H. Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991,188: 3392-6.
- 31- Okamoto H., Kojima M., Okada S .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.
32. Donald G., Murphy.,a Erwin Sablon.,b Jasmine Chamberland.et al ., 1992 . Hepatitis C Virus Genotype 7, a New Genotype Originating from Central Africa. *Journal of clinical microbiologie. Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal, Québec, Canada*, vol 53 Number 3.
- 33- Zein N.N., 2000. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev*; 13: 223-35.
- 34- Henquell C ., A Abergel A ., Bailly J-L. , Peigue-Lafeuille H., 2011 . Le virus de l'hépatite C de génotype 5 : un virus rare, une histoire épidémiologique méconnue .*Virologie .John Libbey EUROTEXT.Paris* , n°5, p 286-95 .
- ([http://www.jle.com/fr/revues/vir/e-docs/le\\_virus\\_de\\_lhepatite\\_c\\_de\\_genotype\\_5\\_un\\_virus\\_rare\\_une\\_histoire\\_epidemiologique\\_meconnue\\_290365/article.phtml?tab=images](http://www.jle.com/fr/revues/vir/e-docs/le_virus_de_lhepatite_c_de_genotype_5_un_virus_rare_une_histoire_epidemiologique_meconnue_290365/article.phtml?tab=images)).
- 35- Asselah T .,Martinot M ., Boyer et Marcellin P . , 2000 Variabilité génétique du virus de l'hépatite C : implications cliniques .Edition :Masson, Paris,vol 24, N° 2 ,p. 175.
- 36- Gaudy C ., Goudeau A .,2005.La diversité du virus de l'hépatite C : méthodes d'étude, implication dans la pathogenèse et la résistance au traitement . Université François Rabelais, Cedex 1,vol 9 ,n°5,p 343-55.
- 37- Legrand-Abrevanel F ., Izopet J .,2008 . Recombinaison génétique et virus de l'hépatite C , *Virologie*, 12 (1) : 7-14.
- 38- <http://www.hepatites.net/index.php?name=PNphpBB2&file=viewtopic&t=23722>.
- 39- Goffard A.,2012 . Infections par le virus de l'hépatite C. Université Lille 2 droit et santé ,Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques.Lille, 13p.
- 40- Abdelaziz N ., Gourari S ., Khelifa R., et al ., 2015 .Répartition des génotypes du virus de l'hépatite C en Algérie.CHU Mustapha Bacha , Alger .
- 41- Leruez-Ville Q. T et. Nguyen P ., Cocco S., Nouyou M., Ferriere F . and Deny P.,1998. Large-scale analysis of hepatitis C virus serological typing assay: effectiveness and limits. *J. Med. Virol.* 55:18–23.
- 42- Pawlotsky J. M., Prescott L., Simmonds P., Pellet C., Laurent Puig P., Labonne C., Darthuy F. , Remire J., Duval J. , Buffet C.,Etienne J. P., Dhumeaux D., Dussaix E.,1997.Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. *J. Clin. Microbiol.* 35:1734–1739.

43- <http://hepatoweb.com/hepatite-C-traitement.php>.

44- <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/hepatites-virales>.

45- Noppornpanth S. E., Sablon K. De Nys, T., Lien X., Brouwer J., Van Brussel M., Smits S. L., Y. Poovorawan S. L., Osterhaus A. D., Haagmans B. L., 2006. Genotyping hepatitis C viruses from South East Asia using a novel line probe assay that simultaneously detects 5'UTR and core regions. *J. Clin. Microbiol.* 44:3969–3974 .

46- Raney K.D., Sharma S. D., Moustafa I. M. et al., 2010. « Hepatitis C Virus Non-structural Protein 3 (HCV NS3): A Multifunctional Antiviral Target ». *The journal of biological chemistry*, vol. 285, n°30, p. 22725-22731.

47- Debbeche R., Said Y., Ben Temime H., El Jery K., Bouzaïdi S., Salem M., Najjar T., 2013. Epidémiologie de l'hépatite C en Tunisie. *La Tunisie Médicale*, vol 91 ( n°02 ) : 86-91.

48- Pawlotsky J.M., Aghemo G.A., Back D., Dusheiko D., Fornis X., Puoti M., Sarrazin C.H., 2015. Recommandations de l'EASL sur le traitement de l'hépatite C 2015. *Journal of Hepatology*, vol. 63 199-236.

49- Chevaliez P.S., Alias M.B., Brillet R., Pawlotsky J.M., 2008. Hepatitis C Virus (HCV) Genotype 1 Subtype Identification in New HCV Drug Development and Future Clinical. French National Reference Center for Viral Hepatitis B, C and delta, Department of Virology, Hôpital Henri Mondor, Université Paris12, Créteil, France.

50- Verbeeck J., Mark J., Stanley., Shieh J., Celis L., Huyck E., Wollants E., Morimoto J., Farrior A., Sablon E., Hennig M.J., Schaper C., Johnson P., Ranst M.V., Brussel M.V., 2008. Evaluation of Versant Hepatitis C Virus Genotype Assay (LiPA) 2.0 - *Clinique Microbiologie*. 46(6): 1901–1906.

51- Andonov A., Lin L., McGuinness L., Krajden M., 2014. Répartition des génotypes du virus de l'hépatite C parmi les nouveaux cas d'infection par le virus de l'hépatite C en Colombie-Britannique (2000-2013)-Relevé des maladies transmissibles au Canada (RMTC), vol 40-19.

52- Dhumeaux D et l'équipe de l'ANRS et de l'AFEF., 2008. Prise en charge des personnes infectées par les virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C –Rapport de recommandation - Éditions EDK/Groupe EDP Sciences.

52- EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C., 2015. European Association for the Study of the Liver – *journal of hepatology*.

## **Annexe**

### **Génotypage du VHC par technique d'hybridation inverse**

- **Etapes du test** :comporte trois étapes :

A/ extraction de l'ARN du VHC

B/ amplification génique

C/ hybridation inverse

#### **A/ Extraction de l'ARN viral par utilisation du kit « AMPLICOR HCV»**

##### **QIAamp®ViralRNA Mini Kit50:**

###### **❖ Réactifs fournis dans le kit :**

- Buffer AW1, wash buffer 1 (19ml concentrate).
- Buffer Aw2 , wash buffer 2 (13ml concentrate).
- Buffer AVL Viral lysis buffer ( 31ml).
- Buffer AVE Elution buffer ( 2.0ml).
- Carrier RNA (310µg).
- Tubes de 2ml.
- QiAamp Mini Spin column.

###### **❖ Réactifs non fournis dans le kit :**

- Ethanol 96 – 100°

###### **❖ Matériels requis :**

- Hotte à flux laminaire.
- Micro pipettes réglables à différents volumes.
- Embouts à filtre (1ml , 200µl, 50µl, 20µl).
- Eppendorf de 1,5ml ou 2ml .

- Micro centrifugeuse à 16 000 X g.
- Vortex.
- Minuterie.
- Gants sans talc.

❖ **Réactifs à préparer :**

- Vérifier l'absence de précipité dans le tampon AVL , incuber à 80° si nécessaire.
- Diluer le « **carrier-ARN-tampon AVE** » (aliquote congelé à 20°) dans le tampon **AVL** en fonction du nombre d'échantillon à extraire (Mélanger par retournement 10 fois, ne pas vortexer).

**NB:** lors de la première utilisation du kit :

- Carrier RNA est reconstitué avec 310µl de tampon AVE.
- Les tampons AW1 et AW2 sont dilués avec respectivement 25 et 30 ml d'Ethanol 96-100°.

❖ **Procédure :**

- 1- Mettre **560 µL** de tampon **AVL-Carrier RNA** dans un Eppendorf de 1.5 ml .
- 2- Ajouter **140 µl** de l'échantillon à traité.
- Vortexer pendant **15 secondes**.
- 3- Incuber à température ambiante pendant **10 minutes**.
- 4- Centrifuger brièvement.
- 5- Ajouter **560 µl** d'Ethanol.
- Vortexer pendant **15 secondes**.
- Centrifuger brièvement.
- 6- Appliquer soigneusement **630 µl** du mélange de l'étape **5** à la colonne QIA Amp Mini (placée dans un tube collecteur de 2 ml)sans mouiller les bords et sans toucher le filtre avec l'embout .Bien fermer le bouchon pour éviter la contamination croisée pendant la centrifugation.
- Centrifuger à 6000 g pendant **1min**.
- Placer la colonne dans un tube collecteur propre de 2ml et jeter le tube contenant le filtrat. Si la solution n'est pas entièrement passée à travers la membrane centrifuger encore une fois.
- 7- Ouvrir la colonne avec précaution et répéter l'étape **6**.
- 8- Ouvrir la colonne avec précaution et ajouter **500 µl** du tampon **AW1**.
- Fermer et centrifuger à 6000g pendant **1min**.

- Placer la colonne dans un tube collecteur propre de 2 ml et jeter le tube contenant le filtrat.
- 9- Ouvrir la colonne avec précaution et ajouter **500 µl** du tampon **AW2**.
- Fermer et centrifuger à 20 000 g pendant **3 min**.
- 10- Placer la colonne dans un Eppendorf de 1.5 et jeter le tube contenant le filtrat.
- Centrifuger à 20 000g pendant **1min**.
- 11- Placer la colonne dans un Eppendorf de 1.5 et jeter le tube contenant le filtrat.
- Ouvrir la colonne avec précaution et ajouter **60 µl** du tampon **AVE**.
- Fermer et incuber à température ambiante pendant **1 min**.
- Centrifuger à 6000g pendant **1min**.
- Récupérer l'Eppendorf contenant l'éluât et le conserver à -20° ou -80°.

## **B/ Amplification génique (RT-PCR) par utilisation du kit « HCV Amplification 2.0 Kit (LiPA) » de SIEMENS:**

### **❖ Réactifs fournis dans le kit :**

La trousse contient les réactifs en quantité suffisante pour amplifier l'ARN de 40 échantillons ou contrôles.

- ENZ MIX : contient les transcriptases inverses Sensiscript et Omniscript, la polymérase HotStarTaq et l'uracile-N-glycosylase. A conserver entre -25° et -15°C.
- AMP MIX : contient les oligonucléotides de synthèse dans un tampon avec le cocktail de dNTP/dUTP et MgCl<sub>2</sub>. A conserver entre -25° et -15°C.

### **❖ Matériel requis :**

- Hotte à ADN.
- Thermocycleur.
- Tubes Eppendorf 1.5-2 ml.
- Vortex.
- Micropipettes à différents volumes.
- Tube de PCR de 0.2 ml et portoirs.
- Embouts à filtre.
- Gants sans talc.

- Congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

- Glace.

❖ **Précautions avant la réalisation de la RT-PCR :**

- a. Vérifier que le thermocycleur est calibré avant l'emploi.
- b. Ne pas amener l'ENZ MIX à température ambiante, le sortir du congélateur juste avant l'emploi et le remettre immédiatement après.
- c. Amener l'AMP MIX à température ambiante environ 30 minutes avant l'emploi et le remettre au congélateur immédiatement après.
- d. Conserver les réactifs sur la glace en préparant la solution-mère de mélange réactionnel de RT-PCR.

❖ **Procédure :**

1- Préparer la solution mère de mélange réactionnel de RT-PCR (ENZ MIX + AMP MIX) dans un tube Ependorff .

- Faire sortir l'ENZ MIX du congélateur et le mettre immédiatement dans de la glace.

- Pour amplifier un échantillon, mélanger  $4\ \mu\text{l}$  d'ENZ MIX avec  $26\ \mu\text{l}$  d'AMP MIX, pour  $x$  échantillons, il faut  $4 \times \mu\text{l}$  d'ENZ MIX et  $26 \times \mu\text{l}$  d'AMP MIX (Prévoir toujours un volume supplémentaire). Spinner l'ENZ puis le remettre au congélateur immédiatement.

- Mélanger brièvement en aspirant puis en rejetant le liquide avec la micropipette.

- Vortexer brièvement.

2- Mettre  $30\ \mu\text{l}$  de la solution mère de mélange réactionnel, obtenue ci-dessus, à chaque tube de réaction (tube PCR).

3- Vortexer l'ARN extrait, puis ajouter  $20\ \mu\text{l}$  à chaque tube de réaction (contenant déjà  $30\ \mu\text{l}$  de la solution mère de mélange réactionnel).

4- Placer les tubes à température ambiante pendant  $10\pm 1$  minutes avant amplification pour permettre la dégradation de tout ADN contaminant.

5- mettre les tubes PCR dans le thermocycleur en utilisant le profil thermique suivant, avec la vitesse de montée par rampe en mode max :

ETAPE	Température	Durée
a-Transcription inverse	50 +/- 0.5 °C	30 minutes
b- étape initiale d'activation de la PCR	95 +/- 0.5 °C	15 minutes
c- dénaturation	95 +/- 0.5 °C	30 secondes
d- hybridation	50 +/- 0.5 °C	30 secondes
e- extension	72 +/- 0.5 °C	15 secondes
f- répéter les étapes c à e 39 fois (40 cycles au total)		
g-extension/élongation finales	72 +/- 0.5 °C	2 minutes
h- maintien	4 +/- 0.5 °C	A utiliser dans les 2 heures ou conserver immédiatement à -20 +/- 5 °C.

6-Enlever les tubes du thermocycleur et conserver les amplicons à -20 +/- 5 °C ou procéder immédiatement au test de génotypage.

**Bien entendu, pour toute analyse PCR, il faut prendre les précautions appropriées pour éviter les contaminations croisées.**

### **C-Hybridation inverse par utilisation du Kit « HCV Genotype 2.0 Assay (LiPA) » de SIEMENS :**

#### **❖ Réactifs fournis dans le Kit :**

La trousse contient les réactifs et le matériel en quantité suffisante pour effectuer 40 tests ,y compris les échantillons et les contrôles.

- Bandelettes : membrane s de nitrocellulose recouvertes de sondes oligonucleotidiques spécifiques des différents génotypes du VHC.
- Conjugué concentré 100X (CONJ 100X).
- Diluant du conjugué (CONJ DIL).
- Solution de dénaturation (DENAT SOLN).
- Solution d'hybridation et de lavage stringente (HYB\_SW SOLN).
- Solution de rinçage concentrée (RINSE SOLN 5X) .
- Tampon substrat (SUBS BUF).

- Substrat (SUBS BCIP\_NBT 100X).
- Plateaux Supportant chacun 8 barquettes qui servent à l'incubation des barquettes.
- Carte de lecture pour identifier les bandes positives sur une bandelette.
- Fiches de compte rendu des données.
- Tableau d'interprétation.

❖ **Matériel requis :**

- Bain-marie avec plate-forme d'agitation (température et nombre de tours mn réglables).
- Agitateur oscillant ayant un angle inférieure ou égale à 13°.
- Dispositif d'aspiration.
- Minuterie.
- Micropipettes réglables (de 1ul à 20ul à 200ul et 200ul à 1000ul).
- Multi pipette.
- Pointes.
- Eprouvette graduée (100ml).
- Tubes de 10ml et de 20ml.
- Eau distillée ou désionisée.A21.
- Gants.
- Pincés.
- Crayon.
- Papier absorbant.

La procédure du test comporte quatre étapes principales :

- a- Dénaturation des échantillons
- b- Hybridation proprement dite
- c- Lavage des bandelettes .
- d- Réaction colorée

### **a- Dénaturation des échantillons :**

- Equilibrer la température du bain marie à agitation à 50 +OU – à 0.5 °C ; et régler le bain marie à 72 tr/mn.
- Vérifier que l'eau du bain marie recouvre le 1/3 inférieur d'une barquette témoin.
- Sortir les bandelettes (avec des pinces) et la DENAT SOLN, les laisser à température ambiante 35 minutes (sur une surface propre).
- Placer la HYB/SW SOLN dans le bain marie (de 37 à 50°C) environ 35minutes jusqu'à dissolution de tous les cristaux.
- Ecrire au crayon à papier un numéro d'identification au dessus de la ligne de repère verte de chaque bandelette.
- Inclure une bandelette pour le contrôle négatif.
- Pour chaque bandelette, placer une barquette dans le plateau.
- Déposer 10µl de DENAT SOLN dans le coin supérieur de chaque barquette et refermer le flacon rapidement.
- Ajouter 10µl d'échantillon (le produit d'amplification par RT-PCR) ou de contrôle dans chaque barquette . Mélanger soigneusement en aspirant puis en rejetant le liquide avec la micropipette.
- Laisser la dénaturation s'effectuer à température ambiante pendant 5 minutes.

### **b-Hybridation des échantillons :**

- 1- Ajouter 2ml de HYB/SOLN dans barquette.
- 2- Faire osciller délicatement la barquette pour mélanger les réactifs.
- 3- Immerger chaque bandelette marquée avec la ligne de repère orientée vers le haut dans la barquette correspondante.
- 4- Placer le plateau contenant les barquettes dans le bain marie à agitation, à 50 + ou – 0.5 °C et à 72 tr/mn.
- 5- Incuber le plateau pendant 60 + ou – 2 minutes et vérifier que chaque bandelette demeure complètement immergée et peut se déplacer librement.
- 6- 10 minutes avant la fin de l'incubation, ramener à température ambiante le RINSE SOLN 5X, le CONJ 100X et son diluant ainsi que le SUBS BCIP/NBT 100X et son SUBS BUF.
- 7- A la fin de l'incubation enlever le plateau du bain marie.

### **c- Lavage des bandelettes :**

Maintenir le plateau selon un petit angle afin que le liquide s'accumule à l'extrémité d'une barquette, au dessus de la ligne de repère de la bandelette, pour faciliter l'aspiration.

- 1- Aspirer la solution de la barquette a l'aide d'une pointe raccordée à un système d'aspiration.
- 2- Ajouter 2 ml d'HYBR/SW SOLN dans chaque barquette.
- 3- Osciller le plateau pendant 60 secondes à température ambiante.
- 4- Aspirer la solution.
- 5- Répéter le lavage (étape 2 à 4).
- 6- Ajouter 2 ml d'HYB/SW SOLN dans chaque barquette et placer le plateau dans le bain marie à agitation, réglé à 50 + ou – 0.5 °C et à 72 tr/mn.
- 7- Incuber pendant 30 + ou – 2 minutes.
- 8- Préparer 8 ml de solution de rinçage diluée pour chaque barquette (plus 2 ml supplémentaire), en diluant la RINS SOLN 5X au 1/5<sup>e</sup> dans de l'eau distillée.
- 9- Préparer 2 ml de conjugué dilué pour chaque barquette (plus 2 ml supplémentaire), en diluant le CONJ 100X au 1/100<sup>e</sup> dans du CONJ DIL ; même dilution pour le SUBS BCIP/NBT 100X dans du SUBS BUF.
- 10- Garder le substrat dilué à l'abri de la lumière.
- 11- Remettre les différents réactifs à + 4°C, sauf le SUBS BUF.
- 12- Enlever le plateau du bain marie à la fin de l'incubation.

### **d- Réaction colorée :**

- 1- Aspirer la solution de la barquette.
- 2- Ajouter 2 ml de solution de rinçage diluée dans chaque barquette et faire osciller le plateau 90 secondes à température ambiante.
- 3- Aspirer la solution.
- 4- Répéter les étapes 2 et 3.
- 5- Ajouter 2 ml de conjugué dilué dans chaque barquette et placer le plateau sur agitateur oscillant réglé à 42 tr/mn, à température ambiante.
- 6- Incuber 30 + ou – 2 minutes.
- 7- A la fin de l'incubation, aspirer la solution dans chaque barquette.
- 8- Ajouter 2 ml de solution de rinçage diluée dans chaque barquette et faire osciller le plateau 90 secondes à température ambiante.
- 9- Aspirer la solution.
- 10- Répéter les étapes 8 et 9.
- 11- Ajouter 2 ml de SUBS BUF dans chaque barquette et faire osciller le plateau 90 secondes à température ambiante.

- 12- Aspirer la solution dans chaque barquette.
- 13- Ajouter 2 ml de substrat dilué dans chaque barquette et placer le plateau sur l'agitateur à température ambiante.
- 14- Incuber pendant 30 + ou – 2 minutes.
- 15- Fin d'incubation, aspirer la solution.
- 16- Ajouter 2 ml d'eau distillée dans chaque barquette.
- 17- Agiter pendant 3 à 4 minutes.
- 18- Aspirer l'eau.
- 19- Répéter les étapes 16 à 18.
- 20- A l'aide de pinces, enlever chaque bandelette de sa barquette et la faire sécher entre 2 feuilles de papier absorbant.
- 21- Lire les résultats.
- 22- Conserver les bandelettes à l'abri de la lumière.

## **RESUME :**

L'infection par le virus d'hépatite C (VHC) est un problème majeur de santé publique. Elle est caractérisée par une fréquence élevée de passage à la chronicité, le risque de survenue de cirrhose et l'association au carcinome hépatocellulaire. La transmission du VHC est essentiellement nosocomiale. Le VHC présente une grande variabilité génétique avec la distinction de génotypes (1à7) et de quasi-espèces, ce qui rend difficile la réalisation d'un vaccin. Pour typer le VHC il existe plusieurs méthodes, soit à partir des AC anti-VHC (sérotypage), soit à partir de l'ARN viral (génotypage), en fonction de ces génotypes on distinguera des bons et des mauvais répondeurs aux traitements qui ont subi une évolution rapide dans le temps pour aboutir à des molécules de dernières générations de plus en plus efficace. D'après notre étude nous avons pu constater que le génotype 1(1b) le plus fréquent en Algérie est considéré comme mauvais répondeur aux traitement et prédominant dans notre échantillon .

**Mots clés :** Virus de l'hépatite C, chronicité, variabilité génétique, génotypes, quasi-espèces, sérotypage, génotypage.

## **SUMMARY :**

Hepatitis C virus infection is a major problem of public health, it is characterized by a high frequency of change to chronicity, cirrhosis risk, and hepatocellular carcinoma. The HCV transmission is essentially a hospital acquired infection. The HCV has an important genetic variability with genotypes distinction (1 to 7) and quasispecies, which makes so hard the production of a vaccine. There are many methods to type the HCV either from the AC anti-HCV (serotyping) or from viral ARN ( genotyping), according to these genotypes we distinguish good and bad treatment responders, who have undergone a quick evolution, to end in the latest molecules most efficient. According to our study we found that the genotype 1 (1b) which is most frequent in Algeria is considered as a bad responder to tratment and it is predominant in our sample

**Key words :** Hepatitis C virus, chronicity, genetic variability, quasispecies, serotyping, genotyping.

## **ملخص :**

تعد الإصابة بفيروس التهاب الكبد ج (C) من أهم المشاكل التي تواجه الصحة العامة، وتتميز بوتيرة عالية التحول إلى الإلزام وخطر الإصابة بالتشميع وسرطان خلايا الكبد. ينتقل فيروس التهاب الكبد عن طريق عدوى المستشفيات. ولفيروس التهاب الكبد مقدرة كبيرة على تغيير مادته الوراثية مع أنماط جينية متميزة (من 1 إلى 7) وانتواعية (أي تشكل تطوري لنوع جديد) مما يجعل التوصل إلى لقاح أمرا صعب. ومن أجل تحديد نوع الفيروس هناك عدة طرق إما عن طريق الأجسام المضادة (المضادات المناعية) ضد فيروس التهاب الكبد (النمط المصلي) أو عن طريق فيروس حمض نووي ريبوزي (تحديد النمط الجيني) واستنادا للأنماط الجينية يمكننا أن نميز بين الاستجابات الجيدة والضعيفة للعلاجات والتي تكون قد شهدت تطورا سريع خلال الزمن من أجل التوصل إلى أحدث الجزيئات لعلاج أكثر فعالية. وقد لاحظنا اعتمادا على الدراسة التي أنجزناها أن النمط الجيني 1(1ب) يعد الأكثر شيوعا بالجزائر وله استجابة ضعيفة للعلاجات وهو السائد في عينتنا.

**كلمات مفتاحية :** فيروس التهاب الكبد - الإلزام - تغيير المادة الوراثية - الأنماط الجينية - تحديد النمط المصلي - تحديد النمط الجيني - انتواعي.