

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Génétique

Thème :

Diagnostic sérologique et moléculaire de l'Hépatite E

Réalisé par :

Date de soutenance : 17-07-2022

* HAFSAOUI Adlane

* ZIDANE Tinhinane

Devant le jury :

Mr Mohamed Saïd R.

MCA/USDB1

President

Mme Zerouti.

MCA/USDB1

Examinatrice

Mme Salmani K.

Pharma-microbiologiste/IPA

Promotrice

Mme Arkam F.

MCB/USDB1

Co-promotrice

Promotion : 2021-2022

Remerciements

En tout premier lieu, nous tenons à remercier « Allah », le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté, la patience, la santé et la force pour accomplir et dépasser toutes les difficultés de ce travail. Nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice **Mme SELMANI.K** pour l'encadrement exemplaire qu'elle nous a accordée, également pour le suivi de notre travail et l'effort précieux que vous avez apportée. On exprime nos sincères remerciements à notre co-promotrice **Mme ARKAM.F** d'avoir acceptée gentiment d'encadrer ce travail. Nous remercions les membres de jurys pour l'intérêt porté à notre travail, On remercie vivement notre chef d'option et enseignant **Mr MOHAMED SAID**, d'avoir partagé ses connaissances avec nous et de nous avoir toujours soutenus et aidés ainsi que pour qui nous a fait l'honneur d'avoir bien voulu présider le jury, Merci **Mme ZEROUTI** pour le temps que vous avez consacré à lire et examiner notre mémoire. Nos remerciements les plus chaleureuses s'adressent à toute l'équipe du laboratoire des virus des hépatites « l'institut pasteur, annexe de sidi fredj » pour leur collaboration, et pour leur accueil.

Et enfin, nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants de la faculté de sciences de la nature et de la vie SAAD DAHLAB – BLIDA 1.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère

A l'homme le plus précieux à mes yeux, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect, mon très cher père : **Abd El Kader**, tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a épargnée aucun effort pour me rendre heureux, mon adorable mère : **Radhia**

A celui que j'adore qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles,
À mes amis de toujours en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère, je vous aime

Et à tous ceux qui m'aiment.

HAFSAOUI ADLANE

DÉDICACE

Mon premier remerciement va à Allah de m'avoir donné la capacité, la force et la patience d'aller jusqu'au bout de mon rêve Je dédie ce travail,

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde et te protège, toi mon père **Monsieur Madjid**.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ma maman **Farida** que j'aime.

Aux personnes dont j'ai bien aimée la présence dans ce jour, à mon frère, ma sœur, ma cousine Inès, la femme de mon oncle et mon amie Kenza, je dédie ce travail dont le grand plaisir leur revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidées et encouragées, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de cœur.

ZIDANE TINHINANE

Résumé :

L'hépatite E est une inflammation du foie provoquée par une infection par le virus de l'hépatite E (VHE). Chaque année, on estime qu'il se produit 20 millions d'infections par le VHE dans le monde, le virus est transmis principalement par de l'eau de boisson contaminée.

Généralement, l'infection est spontanément résolutive et guérit en l'espace de 2 à 6 semaines. Dans quelques cas, une maladie grave, appelée hépatite fulminante (insuffisance hépatique aiguë), apparaît et aboutit au décès chez certaines personnes touchées.

Le diagnostic de l'hépatite E repose habituellement sur la détection d'anticorps IgM spécifiquement dirigés contre le virus dans le sang d'un patient. Des tests rapides sont également disponibles pour un usage sur le terrain. Parmi les autres tests diagnostiques figure la RT-PCR (amplification en chaîne avec transcription inverse) pour détecter l'ARN du VHE dans le sang et/ou les selles. Un vaccin pour prévenir l'hépatite E a été mis au point et homologué en Chine, mais il n'est pas encore disponible ailleurs.

L'objectif de cette étude est de déterminer si le virus de l'hépatite E est à l'origine du tableau d'hépatite chez des patients ayant des sérologies VHA et/ou VHB et/ou VHC négatives.

Pour cela, une étude a été menée au sein de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), laboratoire virus des hépatites de Sidi Fredj de la wilaya d'Alger. L'étude a concerné 172 patients qui présentaient un tableau d'hépatite. Une sérologie pour la recherche des IgM anti-HEV et IgG anti-HEV a été réalisée suivie d'une recherche du génome virale par PCR en temps réel chez les sujets présentant une sérologie IgM positive ainsi que chez les sujets immunodéprimés.

Sur une population de 172 patients, 99 (57,55 %) était des femmes contre 73 (42,44 %) d'hommes, le Sex Ratio est de 0,73. L'âge des patients est compris entre 9 mois et 87 ans.

Les tests sérologiques ont révélé la présence d'IgM et d'IgG anti-VHE chez 32 des patients de l'étude.

Mots clés : Hépatite virale, VHE, tableau d'hépatite, hépatite aigue, PCR en temps réel

Abstract:

Hepatitis E is an inflammation of the liver caused by an infection with the hepatitis E virus (HEV). Each year, an estimated 20 million HEV infections occur worldwide and the virus is transmitted primarily through contaminated drinking water. Generally, the infection is self-limiting and cures within 2 to 6 weeks. In a few cases, a serious disease, called fulminant hepatitis (acute liver failure), appears and leads to death in some affected people.

The diagnosis of hepatitis E is usually based on the detection of IgM antibodies specifically directed against the virus in a patient's blood. Rapid tests are also available for field use. Other diagnostic tests include RT-PCR (reverse transcription chain reaction) to detect HEV RNA in the blood and/or stool. A vaccine to prevent hepatitis E has been developed and licensed in China, but it is not yet available elsewhere.

The objective of this study is to determine if the hepatitis E virus is responsible for disturbed liver balance in patients with negative HAV and/or HBV and/or HCV serology.

For this, a study was conducted at the Institute Pasteur of Algeria (IPA), Sidi Fredj's hepatitis virus laboratory in the wilaya of Algiers. The study involved 172 patients with a hepatitis table. Serology for anti-HEV and anti-HEV IgM and anti-HEV IgG was followed by real-time PCR viral genome research in subjects with positive IgM serology as well as in immunocompromised subjects.

Out of 172 patients, 99 (57.55%) were women compared to 73 (42.44%) men, the Sex Ratio is 0.73. The age of the patients is between 9 months and 87 years. Serologic testing revealed the presence of anti-HEV IgM and IgG in 32 of the study patients, with negative PCR in these patients.

Key words: Viral hepatitis, HEV, hepatitis table, acute hepatitis, real time PCR

ملخص :

التهاب الكبد E هو التهاب في الكبد ناتج عن الإصابة بفيروس التهاب الكبد E , كل عام تحدث حوالي 20 مليون إصابة بفيروس التهاب الكبد الفيروسي في جميع أنحاء العالم ، وينتقل الفيروس بشكل رئيسي عن طريق مياه الشرب الملوثة. ، تكون العدوى ذاتية الشفاء بشكل عام وتشفى في غضون 2 إلى 6 أسابيع. في حالات قليلة تتطور الإصابة الى مرض خطير يسمى التهاب الكبد الخاطف (فشل كبدي حاد) ويؤدي إلى وفاة بعض الأفراد المصابين.

عادة ما يعتمد تشخيص التهاب الكبد E على اكتشاف الأجسام المضادة IgM الموجهة بشكل خاص ضد الفيروس في دم المريض.

الاختبارات السريعة متاحة أيضاً للاستخدام في الميدان. تشمل الاختبارات التشخيصية الأخرى تفاعل النسخ العكسي المتسلسل (RT- PCR) للكشف عن HEV RNA في الدم أو البراز. تم تطوير لقاح للوقاية من التهاب الكبد E وترخيصه في الصين ولكنه غير متوفر بعد في أي مكان آخر.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد ما إذا كان فيروس التهاب الكبد E هو سبب إصابة المرضى الذين يعانون من التهاب الكبد و تشخيصهم سلبي ضد فيروسات التهاب الكبد الأخرى HAV و / أو HBV و / أو HCV

لهذا الغرض أجريت دراسة داخل معهد باستور الجزائري مختبر فيروسات التهاب الكبد بسيدي فرج بولاية الجزائر. شملت الدراسة 172 مريضاً أصيبوا بالتهاب الكبد. تم إجراء دراسة الأمصال للبحث عن مضاد IgM IgM ومضاد HEV IgG متبوعاً ببحث عن الجينوم الفيروسي بواسطة PCR لدى المرضى الذين لديهم مصل IgM إيجابي والذين يعانون من نقص المناعة.

من بين 172 مريضاً ، كان 99 من النساء مقابل 73 من الرجال و عمر المرضى ما بين 9 شهور و 87 سنة.

كشفت الاختبارات المصلية عن وجود مضادات IgM و IgG في 32 مريضاً ، مع وجود تفاعل PCR سلبي لديهم.

الكلمات المفتاحية : التهاب الكبد الفيروسي , HEV , التهاب كبد حاد, PCR في الوقت الفعلي

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre des figures	page
Figure 1	Arbre phylogénétique des membres représentatifs de la famille des Hepeviridae	5
Figure 2	Structures du VHE non enveloppé et quasi-enveloppé	6
Figure 3	Organisation du génome de VHE et représentation schématique des différentes régions codantes pour les protéines	8
Figure 4	Cycle de réplication du VHE	12
Figure 5	Sources et voies d'infection par le virus zoonotique de l'hépatite E	13
Figure 6	Répartition mondiale de l'hépatite E	14
Figure 7	Répartition mondiale des génotypes du VHE	16
Figure 8	Evolution des paramètres biologiques lors de l'infection par le virus de l'hépatite E	19
Figure 9	Algorithme pour le diagnostic de l'infection par le VHE	22
Figure 10	Principe de la technique CMIA	27
Figure 11	Principe de l'ELISA sandwich	29
Figure 12	Principe de l'ELISA indirecte	32
Figure 13	Principe de l'extraction d'acide nucléique sur colonnes	37
Figure 14	Principe de la pcr en temps réel avec Sonde TaqMan	40
Figure 15	Répartition des patients en fonction du sexe	42
Figure 16	Distribution des patients en fonction de l'âge	43
Figure 17	Nombre de patients à sérologie positive en IgG	44
Figure 18	Nombre des patients à sérologie positive en IgM	44
Figure 19	Distribution des patients positifs en IgG anti-VHE en fonction de l'âge.	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre des tableaux	page
Tableau 1	Principaux réactifs et appareillage	26
Tableau 2	Le programme pour l'extraction sur le NEOS-96 XT	38
Tableau 3	Lecture des résultats de la PCR	41
Tableau 4	Répartition des patients positifs en sérologie anti-VHE selon le sexe	45
Tableau 5	Distribution des patients positifs en IgM anti-VHE en fonction de l'âge.	46

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac Anti HBs : Anticorps dirigés contre la protéine "s" du virus de l'hépatite B

AC : Anticorps

Ag : Antigène

ARN : Acide ribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNm SG : Acide ribonucléique sous-génomique

ASGP : Asialoglycoprotéines

ATP : Adénosine triphosphate

BiP : La protéine d'immunoglobuline

CHC : Le Carcinome Hépatocellulaire

CMIA : Chemiluminescent Microparticule Immunoassay (Dosage Immunologique par Chimiluminescence)

CMV : Cytomégalovirus

Ct : Cycle seuil

DO : Densité optique

EBV : Virus d'Epstein-Barr

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

eHEV : Virus de l'hépatite E quasi enveloppée

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Test immunoenzymatique)

ER : Réticulum endoplasmique

ET-NANBH: Enterically Transmitted Non-A, Non-B Hepatitis

Gt : Génotype

Hel : Hélicase

HSV : Virus Herpès simplex

HVR : Le domaine hypervariable

IFN : Interferon

IgG : Immunoglobulines G

IgM : Immunoglobulines M

IRES : Site interne d'entrée du ribosome

Met : Méthyltransférase

neHEV : Virus de l'hépatite E non enveloppée

NK : Les cellules tueuses naturelles

OMS : L'Organisation mondiale de la Santé

ORF : Cadre de lecture ouvert

Pb : Paire de base

PCP : Papaïne cystéine protéase

PCR : Réaction en Chaîne par Polymérase

Poly-A : Poly Adénosine

PRR : La région riche en proline

PSM : Poste Sécurité Microbiologique

QS : Quantification Standard (Standard de quantification)

RdRp : ARN polymérase ARN-dépendante

RT-PCR : Reverse Transcriptase Réaction en Chaîne par Polymérase

TAAN : Test d'amplification des acides nucléiques

Th1 : Lymphocyte T auxiliaire 1

Th2 : Lymphocyte T auxiliaire 2

TMA : Transcription mediated amplification

URL : Unité relative de lumière

UTR : La région non traduite

VHA : Virus de l'hépatite A

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

VHD : Virus de l'hépatite D

VHE : Virus de l'hépatite E

VIH : Le virus de l'immunodéficience humaine

WHO : L'Organisation mondiale de la Santé

SOMMAIRE

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

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1 Généralités	2
1.1 Les hépatites virales	2
1.2 Historique de l'hépatite E.....	3
1.3 Classification taxonomique	3
1.4 Structure du VHE	5
2. Propriétés génétiques du VHE.	6
2.1 Organisation génomique du VHE	6
2.2 Protéines codées par le génome du VHE	8
2.3 Réplication du VHE	9
2.4 Réplication extra-hépatique.	12
3. Epidémiologie du virus de l'hépatite E	12
3.1 Modes de transmission du VHE.....	12
3.2 Répartition géographique du VHE.....	13
3.3 Transmission des géotypes 1 et 2.....	14
3.4 Transmission des géotypes 3 et 4	15
4. Clinique de l'infection à VHE	16
4.1 Infection aiguë par le VHE.....	16
4.2 Infection chronique par le VHE	17
4.3 Pathogenèse et réponse antivirale	18
4.4 Manifestations extra-hépatiques	19
5. Diagnostic virologique de l'hépatite E	19
5.1 Diagnostic sérologique	20
5.2 Diagnostic moléculaire.....	21
6. Traitements et préventions de l'hépatite E	22

6.1 Traitement	22
6.2 Prévention.....	23

Chapitre II : Matériel et méthodes

1 Matériel	25
1.1 Matériel biologique.....	25
1.2 Matériels non biologique.....	25
2 Méthodes d’analyses	26
2.1 Échantillonnage	27
2.2 Tests sérologiques.....	27
2.3 Test moléculaire.....	36

Chapitre III : Résultats et discussion

1 Résultats	42
1.1 Répartition des patients selon le sexe.....	42
1.2 Répartition des patients selon les tranches d’âge.....	43
1.3 Résultats sérologiques	43
1.4 Répartition selon le sexe les patients positifs en anti corps anti- VHE.....	44
1.5 Répartition selon les tranches d’âge les patients positifs en sérologie	45
1.6 Résultats moléculaires.....	46
2 Discussion.....	47
Conclusion.....	51

Références bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION :

L'hépatite E aussi connue comme hépatite non A non B non C, est une maladie infectieuse due à un virus (VHE) dont les réservoirs sont l'homme et certaines espèces animales. Il existe quatre groupes génétiques de l'hépatite E, Les génotypes 1 et 2 sont exclusivement présents chez l'homme, alors que les génotypes 3 et 4 sont retrouvés chez l'homme et l'animal. Chez l'homme, la maladie se traduit par un tableau d'hépatite aiguë habituellement bénigne, mais pouvant cependant être à l'origine de formes graves.

L'hépatite E infecte environ 20 millions de personnes chaque année dans le monde, entraînant plus de trois millions de cas symptomatiques d'hépatite et a provoqué environ 44 000 décès en 2015 (soit 3,3 % de la mortalité due à l'hépatite virale) (**WHO**). L'hépatite E est actuellement un problème de santé publique, tant dans les pays développés que dans les pays en développement, ce virus est considéré comme l'une des principales causes d'hépatite virale aiguë dans le monde avec un risque élevé de développer une infection chronique chez les patients immunodéprimés (**González et al., 2017**). Le VHE est désormais considéré comme un agent pathogène émergent préoccupant pour la santé publique mondiale (**Webb et Dalton, 2019**). Le diagnostic virologique de l'hépatite E repose sur la détection des anticorps spécifiques dirigés contre le virus et de l'ARN viral. Il n'existe pas de traitement spécifique contre le virus de l'hépatite E. Un vaccin recombinant basé sur la protéine de capsid du virus a été développé. Ce vaccin confère une protection à long, mais sa disponibilité est actuellement restreinte à la Chine.

Notre étude a été menée sur des patients présentant un tableau d'hépatite et qui étaient négatifs aux tests sérologiques de l'hépatite A, B et C. L'objectif de notre travail est de déterminer si le virus de l'hépatite E est à l'origine du tableau d'hépatite chez ces patients. Le diagnostic virologique de cette infection a été effectué par techniques immuno-enzymatique ELISA pour la recherche des IgM anti-VHE, tandis que la détection de l'ARN viral a été réalisée par PCR en temps réel.

I.1. Généralités

I.1.1. Les hépatites virales

Les hépatites sont des lésions inflammatoires du foie dont les causes sont multiples, infectieuses, médicamenteuses, auto-immunes ou autres. Les atteintes hépatiques d'origine virale sont les plus fréquentes, souvent asymptomatiques, liées soit à une action cytopathologique directe du virus causal, soit le plus souvent à la réaction immunitaire dirigée contre les cellules hépatiques infectées (**Les virus des hépatites**).

De nombreux virus sont capables d'entraîner des lésions hépatiques, en particulier Cytomégalovirus (CMV), le virus d'Epstein -Barr (EBV), virus Herpes simple (HSV), le virus de la fièvre jaune. Les cinq virus des hépatites A, B, C, Delta et E ont véritablement un tropisme hépatique quasi-exclusif et sont reconnus comme responsables de ce que l'on appelle communément "hépatites virales". Les hépatites virales, bien que dues à des virus appartenant à des familles bien différentes, s'individualisent surtout par leur mode de transmission, leur évolution et la présence ou non d'un vaccin (**Les virus des hépatites**).

Des particularités épidémiologiques permettent aujourd'hui de regrouper les hépatites virales dans deux ensembles distincts :

- Les hépatites à transmission parentérale, imputables au virus de l'hépatite B (VHB), au virus défectif de l'hépatite delta (VHD) et au virus de l'hépatite C (VHC) (**Zarrin et Akhondi, 2022**)
- Les hépatites à transmission féco-orale, dues au virus de l'hépatite A (VHA) et au virus de l'hépatite E (VHE). Ce sont les deux principaux responsables des hépatites aiguës dans le monde, capables de provoquer des cas sporadiques et des épidémies, le VHA dans les pays industrialisés et le VHE dans les pays en voie de développement. (**Buisson et al., 1994**)

Sur le plan Clinique les hépatites A et E sont responsables d'hépatites aiguës pouvant être graves « hépatite fulminante » notamment chez la femme enceinte en fin de grossesse pour l'hépatite E. L'hépatite A ne passe jamais à la chronicité, alors que l'hépatite E peut être l'origine d'une infection chronique chez les sujets immunodéprimés et atteints de pathologie hépatiques (**Kenney et Meng, 2019 ; Koenig et al., 2017**).

Alors que les hépatites à transmission parentérale B, C et Delta, sont responsables d'infections aiguës qui peuvent évoluer vers la chronicité et se compliquer éventuellement après plusieurs années d'évolution de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire (CHC) (**Basit et al., 2022 ; Masood et John, 2022; Tripathi et Mousa, 2022**).

I.1.2. Historique de l'hépatite E

L'hépatite E a été initialement désignée comme une maladie de l'hépatite non A, non B à transmission entérique (ET-NANBH) en raison des symptômes cliniques similaires à celles de l'hépatite A et B chez les patients, mais l'agent causal était d'abord inconnu (**Balayart et al., 1983**).

L'histoire de l'hépatite E commence en 1978 dans la vallée du Cachemire, en Inde, avec la description d'une vaste épidémie d'hépatite (52 000 cas identifiés, 1 700 décès). Le Dr M.S. Kourou, gastroentérologue, fut d'emblée frappé par la sévérité chez les femmes enceintes, dont le service d'urgence de son hôpital était plein. Il publiera ses observations dans l'*American Journal of Médecine* en 1980 en évoquant d'emblée l'existence d'un autre virus des hépatites, distinct des hépatites A et B et des hépatites non A et non B post-transfusionnelles (**Khuroo, 1980 ; Parlati et al., 2017**).

C'est en 1983 qu'une équipe de chercheurs moscovites identifie l'agent pathogène à l'occasion d'une épidémie dans un camp militaire basé en Afghanistan. L'histoire raconte que le Dr M.S. Balayan a ingéré les selles de 9 patients, qu'il a développé une hépatite 36 jours après l'ingestion, et qu'il a observé des particules sphériques de 27 à 30 nm dans ses selles, 28, 43, 44 et 45 jours après inoculation. Il a fallu 7 ans pour cloner le VHE à partir d'extraits biliaires de singes infectés, le virus étant peu présent dans les selles. On ne cesse depuis, de découvrir de nouveaux aspects de ce virus, qui, on le sait aujourd'hui, concerne quasiment toutes les espèces de cette planète (**Khuroo, 2011; Parlati et al., 2017**).

I.1.3. Classification taxonomique

Les souches de VHE sont classées en deux genres : Orthohepevirus et Piscihepevirus, dans la famille des Hepeviridae (**Purdy et al., 2017**).

❖ Le Piscihepevirus n'a été isolé que chez des salmonidés d'Amérique du Nord (**Meng, 2010**).

- ❖ Le genre Orthohepevirus contient quatre espèces, à savoir A, B, C et D, qui infectent les humains et les animaux. Jusqu'à présent (**Meng, 2010**).
 - L'orthohepevirus A se compose du génotype 1–4 plus anciennement connu et du génotype 5–8 nouvellement reconnu, ces génotypes sont classiquement définis par une divergence supérieure à 20% de la séquence nucléotidique dans la région ORF2 (**Meng, 2010**).
 - Les génotypes 1 et 2 sont strictement humains (**Meng, 2010**).
 - Les génotypes 3 et 4 sont zoonotiques et ont été détectés dans un large éventail d'hôtes, y compris le singe, le porc, le mouton, la vache, le sanglier, le cerf, le lapin et la mangouste (**Lin et al., 2021**).
 - Les génotypes 5 et 6 n'infectent que les sangliers (**Smith et al., 2014**).
 - Les génotypes 7 et 8 sont isolés chez les chameaux, avec un seul cas d'infection humaine au génotype 7 (**Lee et al., 2016; Sridhar et al., 2017**).
 - L'orthohepevirus B est constitué de VHE aviaire (**Smith et al., 2014**).
 - L'orthohepevirus C est constitué du VHE du rat et du furet (**Smith et al., 2014**).
 - L'orthohepevirus D ne contient que le VHE de la chauve-souris (**Smith et al., 2014**).

Les quatre premiers génotypes 1–4 ont été divisés en différents sous-types après l'analyse phylogénétique de nombreux isolats de VHE. Ainsi, Gt1 a été divisé en 5 sous-types, Gt2 en deux sous-types, alors que Gt3 et Gt4 montrent une plus grande diversité et ont été divisés en 10 et 7 sous-types, respectivement (**Pérez-Gracia et al., 2014**) (**Figure 1**).

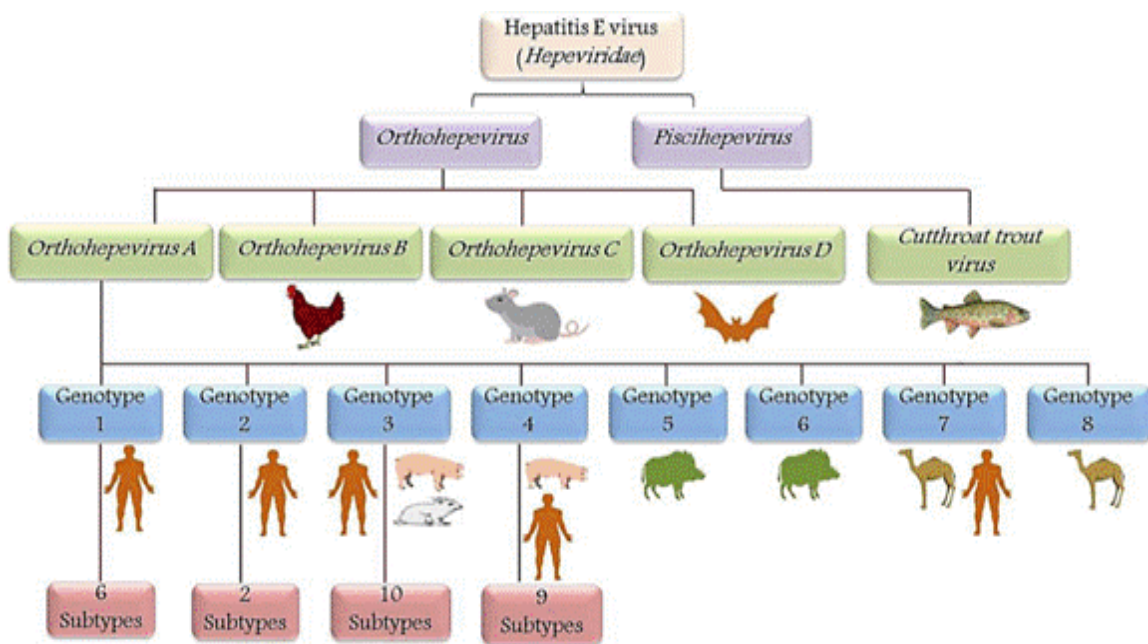


Figure 1 : Arbre phylogénétique des membres représentatifs de la famille des Hepeviridae (Thakur et al., 2020)

I.1.4. Structure du VHE

Le VHE est un petit virus non enveloppé d'environ 30-34 nm de diamètre, possédant une capsidie à symétrie icosaédrique et un génome à ARN simple brin, linéaire à polarité positive comportant une coiffe ainsi qu'une queue de poly-adénosine (poly-A) à ses deux extrémités, et comprenant environ 7500 nucléotides (Kenney et Meng, 2019).

Les virions du VHE existent sous deux formes chez l'hôte infecté, les particules non enveloppées (neHEV) et des particules quasi enveloppées (eHEV) (Nagashima et al., 2017) (Figure 2).

Les virions sécrétés dans les matières fécales sont des particules sphériques non enveloppées d'environ 27 à 34 nm de diamètre. Cependant, les virions sécrétés dans le sang circulant et le surnageant des cultures cellulaires infectées sont quasi-enveloppés car ils sont recouverts d'une enveloppe lipidique (Takahashi et al., 2008).

Bien que les particules neHEV soient plus infectieuses, les particules de HEV sont résistantes à la neutralisation des anticorps contre la protéine de capsid virale (**Chapuy-Regaud et al., 2017**).

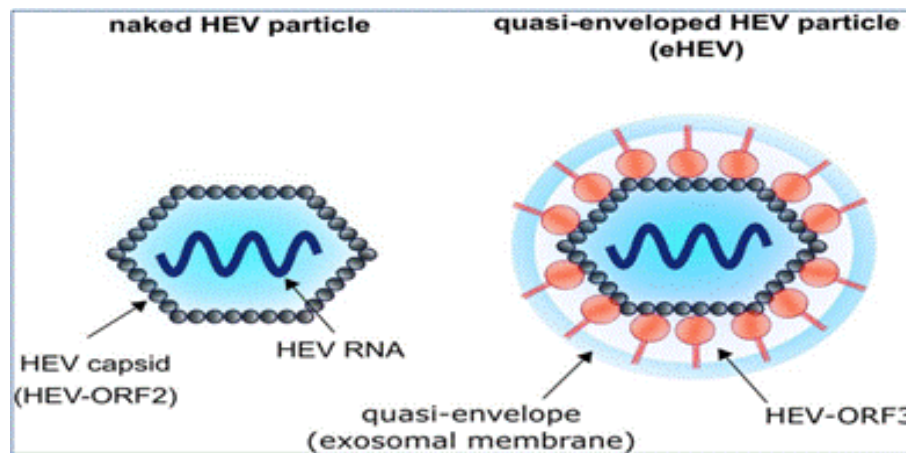


Figure 2 : Structures du VHE non enveloppé (neHEV) et quasi-enveloppé (eHEV) (**Himmelsbach et al., 2018**)

I.2. Propriétés génétiques du VHE

I.2.1. Organisation génomique du VHE

Le génome du VHE de mammifère est un ARN monocaténaire de polarité positive d'environ 7 200 nucléotides de longueur, tandis que le génome du VHE aviaire a une longueur d'environ 6 650 nucléotides (**Huang et al., 2004**).

L'ARN du VHE possède une coiffe de 7-méthylguanosine en 5' suivie d'une courte région 5' non codante, de trois principaux cadres de lecture ouverts « *Open Reading Frame* » ([ORF] : ORF1, ORF2 et ORF3) et d'une région non codante en 3' (**Zhang et al., 2001**).

ORF1 code pour la polyprotéine virale non structurale qui possède sept domaines : le domaine méthyltransférase (Met) ; le domaine Y ; le domaine papaine cystéine protéase (PCP) ; le domaine hypervariable (HVR) ; le macrodomaine X ; le domaine hélicase (Hel) et le domaine ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp) (**Surjit et al., 2004**).

L'élément structural de l'ARN dans la région en amont de l'ORF1 se lie à la protéine de capsid et que l'on pense être le signal d'encapsidation de l'ARN (**Surjit et al., 2004**).

Le chevauchement des domaines X et hélicase (Hel) dans gt1VHE est un petit ORF4 décalé qui est contrôlé par une structure d'ARN de type IRES (site interne d'entrée du ribosome) qui dirige la traduction de l'ORF4 sous stress du réticulum endoplasmique (ER). Les protéines ORF2 et ORF3 sont synthétisées à partir d'un ARN sous-génomique bicistronique de 2,2 kb (ARNm SG) (Graff *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2007).

Il existe une région de jonction entre ORF1 et ORF3 contenant des éléments actifs en cis censés contrôler l'expression d'un ARN messager bicistronique sous-génomique (ARNm) (Graff *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2007) .

La séquence et la structure tige-boucle dans la région de jonction jouent un rôle important dans la réplication du VHE (Cao *et al.*, 2010) (Figure 3)

- L'ARNm bicistronique code pour la protéine multifonctionnelle ORF3 (vp13) et la protéine de capsid ORF2.
- ORF3 chevauche sensiblement la séquence codante 5' d'ORF2 dans un cadre de lecture séparé, mais ni ORF3 ni ORF2 ne chevauche ORF1.
- ORF2 suit le 3'UTR, qui se termine par une queue polyadénylée en 3'.
- Un élément 3' cis -actif se trouve dans le 3'UTR, qui chevauche la séquence carboxy-terminale de l'ORF2, et est nécessaire à la réplication de l'ARN viral
- L'élément 3' cis -actif se liant au domaine de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) de la polyprotéine ORF1 (Kenney et Meng, 2019)

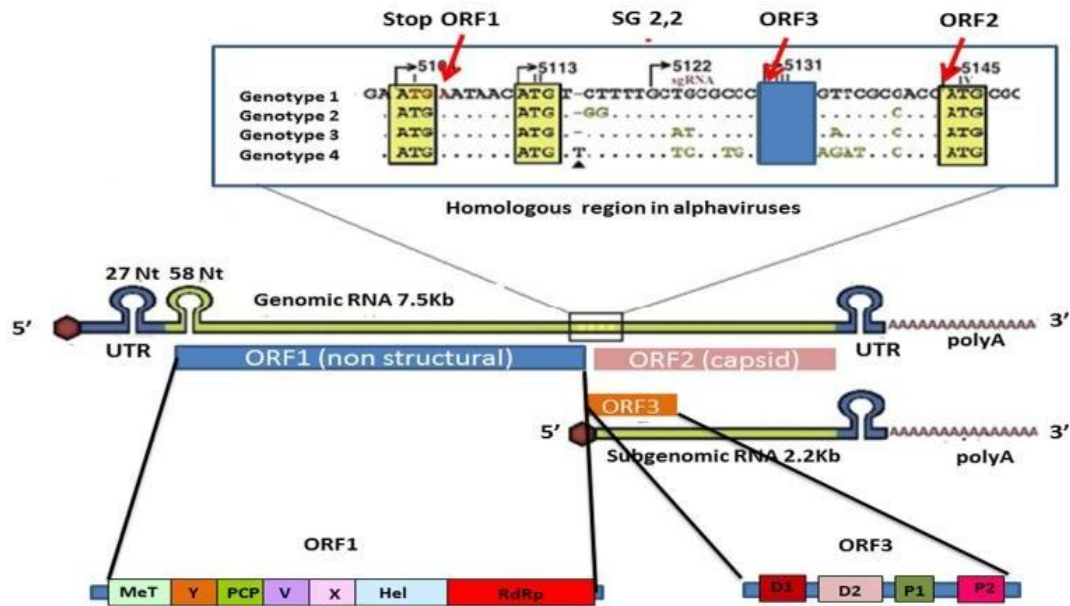


Figure 3 : Organisation du génome de VHE et représentation schématique des différentes régions codantes pour les protéines (Pérez-Gracia *et al.*, 2014)

I.2.2. Protéines codées par le génome du VHE

I.2.2.1. ORF1

ORF1 est le plus grand cadre de lecture ouvert du génome du VHE avec environ 5082 nucléotides qui peuvent être traduites directement à partir du génome viral pour produire une polyprotéine non structurale d'environ 1693 à 1700 acides aminés.

Ses principaux domaines enzymatiques fonctionnels comprennent : la méthyltransférase (Met), la protéase à cystéine de type papaine (PCP), la région hypervariable (HVR) ou la région riche en proline (PRR), une hélicase, une ARN polymérase dépendante de l'ARN pour sa réplication (RdRp) et deux autres régions dont le rôle reste inconnu (domaine Y et X) (Emerson *et al.*, 2001; Sridhar *et al.*, 2017; Tsarev *et al.*, 1992) .

I.2.2.2. ORF2

Dans le génotype 1 du VHE, l'ORF2 a une longueur de 1983 nucléotides, commençant 37 nucléotides en aval du codon d'arrêt ORF1 et chevauchant tous sauf 14 nucléotides de

ORF3. Le codon d'arrêt pour l'ORF2 se trouve 65 nucléotides en amont de la queue poly (A) (Reyes et al., 1993).

L'ORF2 code pour la protéine de capsid virale, qui est le principal composant structural du virion. Cette protéine est immunogène induisant la synthèse des anticorps neutralisants et ciblant les épitopes conformationnels dans le domaine P (Kenney et Meng, 2019; Reyes et al., 1993).

I.2.2.3. ORF3

L'ORF3 a une longueur de 340 nucléotides, c'est le plus petit ORF du génome du VHE, il commence 24 nucléotides en aval du codon d'arrêt ORF1 et chevauche ORF2 d'environ 300 nucléotides dans un cadre de lecture différent (Graff et al., 2006; Kenney et al., 2019).

L'ORF3 code une phosphoprotéine qui se compose de deux domaines (D1 et D2 à son extrémité N-terminale) qui sont hautement hydrophobes (Kenney et Meng, 2019). Il possède également deux domaines riches en proline P1 et P2 (Kannan et al., 2009).

I.2.2.4. ORF4

Un nouveau cadre de lecture, l'ORF4 est entièrement positionné dans la séquence codante ORF1 dans un cadre de lecture alternatif a été identifié uniquement dans les souches de VHE gt1 (Nair et al., 2016). La traduction de l'ORF4 dépend d'un élément de type IRES dans les nucléotides 2701–2787 et est activée en réponse au stress cellulaire du RE.

La protéine ORF4 interagit avec plusieurs protéines virales formant un complexe de réplication virale constitué des protéines virales RdRp, hélicase et X. La protéine ORF4 semble stimuler l'activité virale RdRp, améliorant ainsi la réplication virale (Kenney et Meng, 2019)

I.2.3. Réplication du VHE

Les systèmes pour cultiver le VHE in vitro n'ont été développés que récemment, et le mécanisme de réplication virale continue d'être hypothétique. L'analyse du génome a été

réalisée, par analogie avec d'autres virus connus, ainsi le cycle de réplication du VHE a été proposé (González et al., 2022).

I.2.3.1. Pénétration de VHE :

Peu d'informations sont connues sur le mécanisme d'entrée du VHE dans la cellule, et le récepteur est à ce jour indéterminé, mais il a été montré que des facteurs de l'hôte sont impliqués dans l'entrée des HEV nus dans la cellule, comme le protéoglycane héparane sulfate, qui participent à la liaison cellulaire de plusieurs virus quasi enveloppés et non enveloppés (González et al., 2022).

Le GRP78, connu sous le nom de chaperon moléculaire de liaison de la protéine d'immunoglobuline (BiP) dans le réticulum endoplasmique, est également impliqué dans l'entrée du virus dans la cellule (González et al., 2022).

Les asialoglycoprotéines (ASGP) sont des récepteurs du galactose trouvé principalement à la surface des hépatocytes et de l'ATP5B (sous-unité 5 β de l'ATP synthase) bien qu'il s'agisse d'une protéine mitochondriale, une fraction est exprimée à la surface des cellules et est impliquée dans les infections virales. La liaison à la surface cellulaire et l'entrée dans la cellule hôte sont les moments initiaux et fondamentaux du cycle de l'infection virale (González et al., 2022).

Le HEV et l'eHEV utilisent des mécanismes différents pour entrer dans la cellule. L'entrée du eHEV dépendrait de la dégradation de sa membrane dans le lysosome.

Le virus pénètre dans la cellule par endocytose médiée par les récepteurs dépendant de la clathrine et dépendant de la dynamine, une GTPase qui médié la fusion membranaire pendant l'endocytose et permet la dégradation des lipides de l'enveloppe des lysosomes (González et al., 2022)

I.2.3.2. Réplication, assemblage et maturation du VHE :

Après endocytose, le génome viral est libéré dans le cytoplasme et le sens positif de l'ARN du VHE est traduit par des facteurs hôtes dans la polyprotéine ORF1 d'ORF1, qui contient l'ARN polymérase (RdRp) dépendante de l'ARN, le RdRp transcrit ensuite l'ARN viral complémentaire de sens négatif de pleine longueur, qui sert de matrice pour la transcription complète de l'ARN de sens positif et d'un ARN sous génomique de 2,2 kb.

Quand cette ARN sous-génomique est traduit, les protéines ORF2 et ORF3 sont produites (**González et al., 2022**).

La protéine ORF 2 s'assemble avec les ARN (+) génomiques pour former des virions ; ces virions seraient ensuite sécrétés grâce à l'activité viroporine de l'ORF3. Au cours de ce processus, le virion du VHE peut être libéré sous forme de virion « quasi enveloppé » (eHEV) dans les membranes des exosomes vers la circulation sanguine ou passer avec sa couverture lipidique à travers les voies biliaires, où il se dégrade et est libéré sous sa forme « Nue » dans les selles (**González et al., 2022**).

Lorsque le eHEV est libéré, il pénètre dans la circulation sanguine, sa forme quasi enveloppée le protège en neutralisant les anticorps contre pORF2 et pORF3 (**González et al., 2022**).

Selon Pérez-Gracia et al. (2014), les phases du cycle de réplication du VHE sont les suivantes (**Figure 4**) :

- (a) Concentration des particules virales à la surface des cellules cibles,
- (b) Fixation du VHE à un récepteur et endocytose,
- (c) Traduction à partir de ORF1,
- (d) Synthèse des brins sens négatifs,
- (e) Synthèse de l'ARN sous-génomique au sens positif,
- (f) L'ARN sous-génomique au sens positif est traduit en ORF2
- (g) Initiation de l'assemblage des nouveaux virions par ORF2,
- (h) Transport des virions vers la membrane cellulaire,
- (i) Libération en dehors de la cellule hépatique.

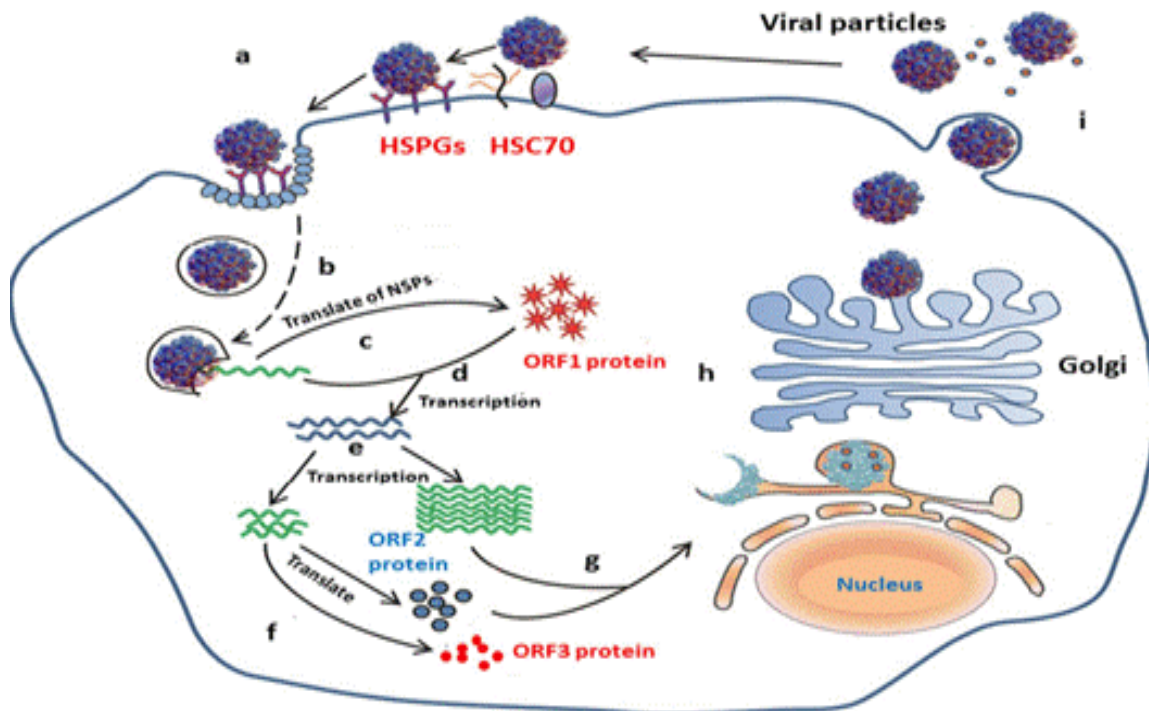


Figure 4 : Cycle de répliation du VHE (Pérez-Gracia et al., 2014)

I.2.4. Réplication extra hépatique

La cellule cible du VHE par excellence est l'hépatocyte ; cependant, la répliation extra hépatique du virus a été démontrée (González et al., 2022).

Parmi les manifestations extra hépatiques associées à l'infection due au VHE, on retrouve des manifestations neurologiques, comme le syndrome de Guillain-Barré, l'amyotrophie névralgique, l'encéphalite, la myélite, la myosite, la névrite vestibulaire, la neuropathie périphérique, la paralysie de Bell et la mononévrite multiple, l'anémie aplasique, thyroïdite aiguë, glomérulonéphrites manifestant par une glomérulonéphrite membraneuse proliférante et une cryoglobulinémie; anémie et pancréatite aiguë (González et al., 2022).

Cependant, la pathogénie de ces événements est inconnue et d'autres études sont nécessaires pour permettre de définir ces associations (González et al., 2022).

I.3. Epidémiologie du Virus de L'hépatite E

I.3.1. Modes de transmission du VHE

La transmission du VHE s'effectue principalement via la voie entérale :

- Par la consommation d’eau non potable, c’est le mode de contamination dominant dans les pays en voie de développement.
- Par la consommation de produits souillés : coquillages, légumes, fruits contaminés par contact avec une eau souillée (irrigation, lavage)
- Par la consommation de produits issus d’un animal réservoir du virus (WHO, 2022)

La transmission de l’hépatite E est aussi suspectée par la contamination manu portée liée à une hygiène des mains insuffisantes, par contact direct ou indirect avec les animaux vivants ou leurs carcasses (populations professionnelles particulièrement concernées : les chasseurs, les personnes travaillant dans les battoirs, éleveurs et vétérinaires) (WHO, 2022).

La transmission transfusionnelle a été démontrée dans de nombreux pays occidentaux. La transmission verticale est possible (Figure 5).

Quatre principaux génotypes (de 1 à 4) sont retrouvés chez l’homme Ils présentent des caractéristiques épidémiologiques distinctes selon les pays (Abravanel et al., 2019).

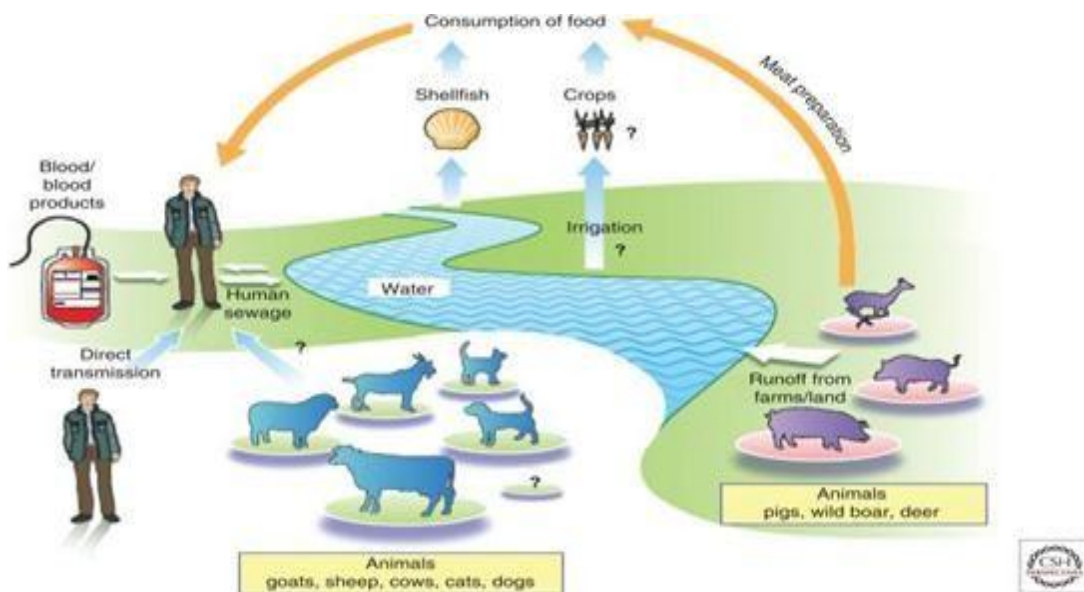


Figure 5 : Sources et voies d’infection par le virus zoonotique de l’hépatite E (Dalton et Izopet, 2018)

I.3.2. Répartition géographique du VHE

L’hépatite E est responsable de plus d’un quart de tous les cas d’hépatite aiguë sporadique et d’hépatite (Ghabrah et al., 1995).

L'hépatite E est hyper endémique dans de nombreux pays situés en Asie du Sud-Est (Birmanie, Cambodge, Indonésie, Thaïlande, Vietnam et Laos), en Asie du Sud (Inde, Bangladesh, Bhoutan, Népal, Pakistan et Sri Lanka), en Asie centrale (Kazakhstan, Tadjikistan et Ouzbékistan); l'Afrique de l'Est (Kenya, Ouganda et Burundi), l'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Soudan et Tunisie), l'Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire, Libéria, Nigéria et Mali) et certains pays d'Amérique du Nord (Mexique) (Khuroo, 2011).

L'hépatite E est endémique dans de nombreux pays du Moyen-Orient (Turquie, Arabie saoudite, Yémen, Libye, Oman, Bahreïn, Iran, Koweït et Émirats arabes unis), certaines régions d'Asie du Sud-Est (Singapour) et d'Amérique du Sud (Brésil, Argentine, Équateur et Uruguay) (Khuroo, 2011) (Figure 6).

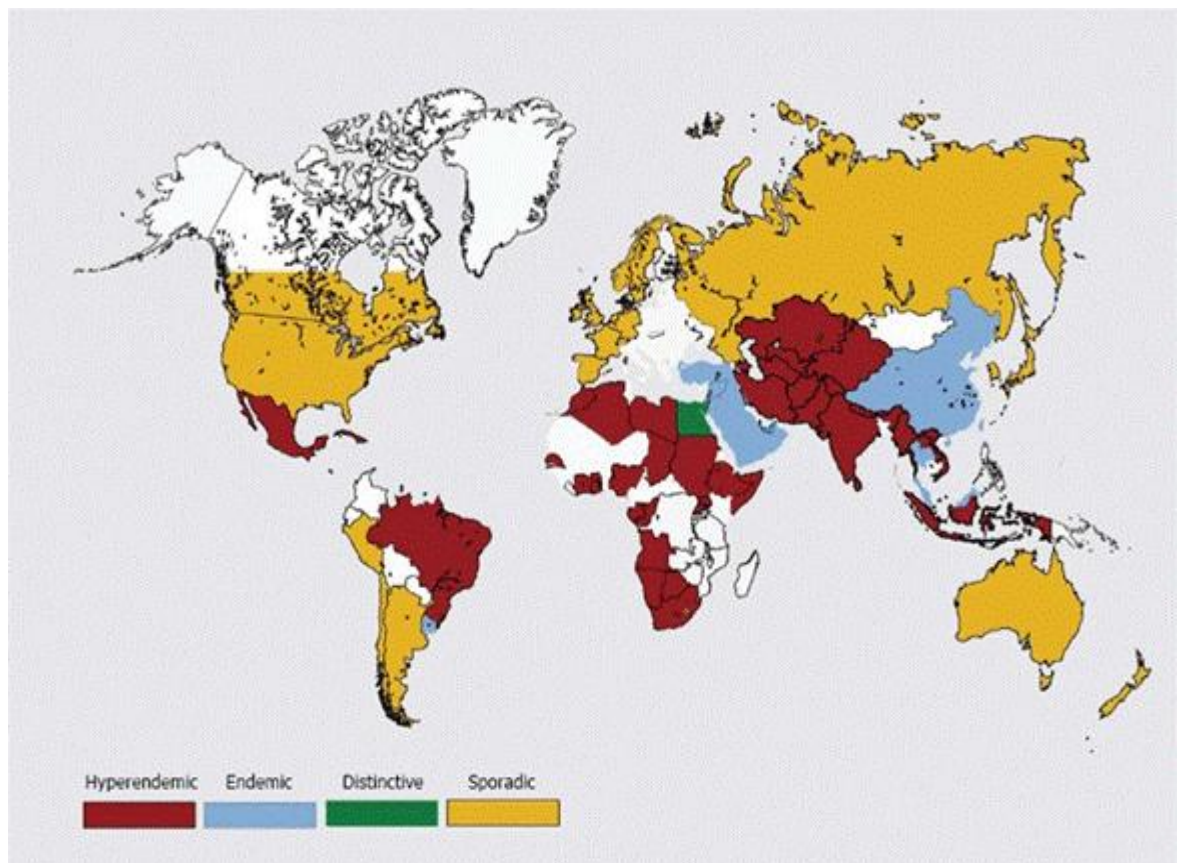


Figure 6 : Répartition mondiale de l'hépatite E (Khuroo et al., 2016)

I.3.3. Transmission des génotypes 1 et 2

Les génotypes 1 et 2 sont strictement humains et sont responsables d'épidémies et de cas sporadiques dans les pays en développement essentiellement par contamination hydrique. Le génotype 1 est retrouvé en Asie et en Afrique, tandis que le génotype 2 est

retrouvé au Mexique ainsi que dans certains pays d'Afrique. Des épidémies ont été fréquemment rapportées en Chine, en Asie du Sud-est, en Asie centrale et en Afrique. (Abravanel et al., 2019) (Figure7).

La transmission féco-orale est le principal mode de transmission du VHE dans les pays où l'hygiène collective et les dispositifs d'assainissement de l'eau sont insuffisants. Les épidémies dans les pays en développement sont plus importantes lors de la saison des pluies, La transmission interhumaine directe semble possible mais reste minoritaire (Abravanel et al., 2019).

Dans les pays en développement, la transmission du VHE de la mère à l'enfant est possible, en particulier au 3ème trimestre de la grossesse. Elle varie de 33 à 100% selon les études (Abravanel et al., 2019).

Le virus peut être détecté dans le lait maternel. Ce mode de transmission n'a pas été décrit dans les pays industrialisés (Abravanel et al., 2019).

I.3.4. Transmission des génotypes 3 et 4

Le VHE est le seul virus des hépatites possédant un réservoir animal et la transmission est zoonotique. Les génotypes 3 et 4 sont retrouvés aussi bien chez l'homme que l'animal et sont responsables de cas sporadiques dans les pays industrialisés (Abravanel et al., 2019).

Le franchissement de la barrière d'espèce a été démontré à partir de modèles animaux. Le génotype 3 présente une répartition mondiale, le génotype 4 est retrouvé essentiellement en Asie, notamment en Chine, à Taiwan, au Japon et au Viêtnam. De nombreux cas d'hépatite E ont été décrits en Europe et en Asie après consommation de viande de porc ou de gibier contaminée, La contamination par contact direct avec le réservoir animal a été également documentée (Abravanel et al., 2019) (Figure7).

Toutefois, dans les pays industrialisés, la contamination par voie hydrique ne peut être exclue, en effet, le VHE a été détecté dans les eaux de rivière, dans les eaux usées et dans les fruits de mer. En France, la séroprévalence des anticorps anti-VHE chez les donneurs de sang est de 22% (Abravanel et al., 2019).

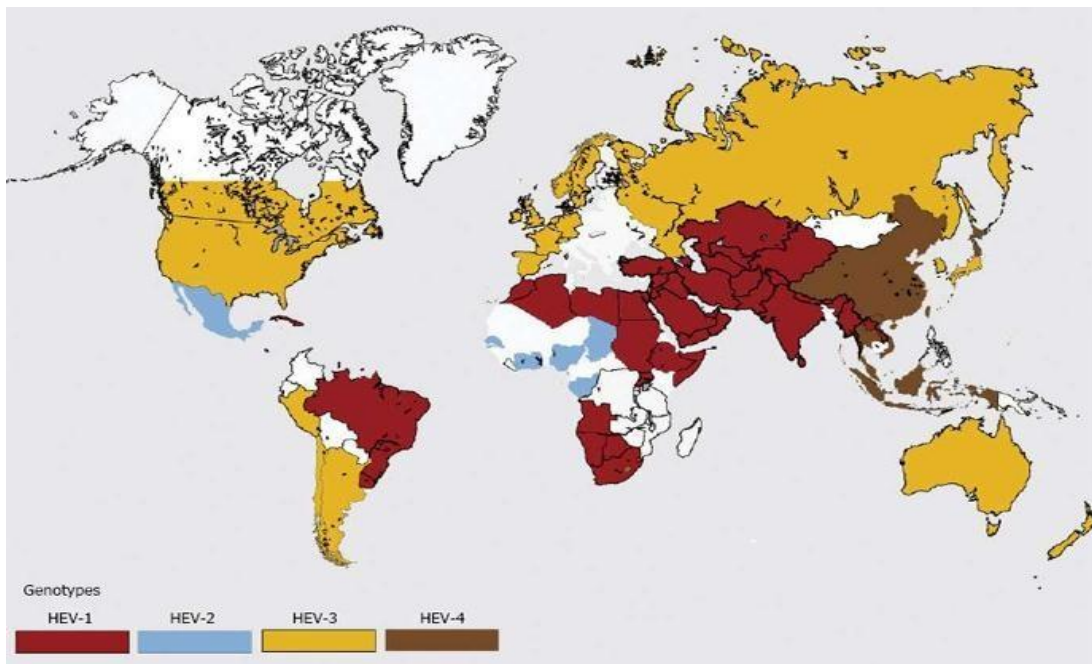


Figure 7 : Répartition mondiale des génotypes du VHE (Khuroo *et al.*, 2016)

I.4. Clinique de l'infection à VHE

I.4.1. Infection aiguë par le VHE

Le VHE est responsable des infections asymptomatiques dans la majorité des cas (Abravanel *et al.*, 2019).

Les formes symptomatiques peuvent parfois être des formes fulminantes, durant les épidémies, la mortalité varie de 0,5 à 4,0%. Les sujets infectés commencent à excréter le virus quelques jours avant l'apparition des symptômes et continuent ensuite pendant 3 à 4 semaines. La durée d'incubation de la maladie varie de 15 à 60 jours (Abravanel *et al.*, 2019).

L'ictère et l'asthénie sont les deux symptômes les plus fréquemment retrouvés au cours d'une hépatite E aiguë. La phase pré-ictérique dure de 1 à 27 jours et est marquée par une symptomatologie principalement digestive (douleurs abdominales, nausées, vomissements).

Le début de la phase ictérique, brutal, est marqué par l'apparition d'un ictère, des urines foncées et des selles décolorées. Cette phase dure de 10 à 24 jours. Sur le plan biochimique, on observe une élévation des aminotransférases, associée fréquemment à une élévation de la

bilirubine. La cytolysse hépatique est liée à la réponse immune cytotoxique car le virus n'est pas lytique, L'évolution est ensuite spontanément favorable (**Abravanel et al., 2019**).

Dans les pays en développement, les cas d'hépatite E aiguë concernent plutôt l'adolescent et l'adulte jeune, avec une prédominance masculine. Dans les pays industrialisés, le VHE touche préférentiellement les hommes de plus de 55 ans. La surinfection par le VHE sur une hépatopathie existante peut entraîner une décompensation sévère (**Abravanel et al., 2019**).

- **Cas particulier, les femmes enceintes :**

Plusieurs études ont décrit une fréquence et une gravité supérieure de l'infection par le VHE chez la femme enceinte. Le taux de létalité est d'environ 30% lorsque l'infection survient au cours du 3ème trimestre, les femmes enceintes meurent de complications obstétricales telles que l'hémorragie ou l'éclampsie. Une insuffisance hépatique fulminante peut également survenir (**Khuroo et al., 2009**).

L'infection par le VHE au cours de la grossesse est associée à des avortements spontanés plus élevés, une plus grande mortalité intra-utérine, une prématurité des enfants, un petit poids de naissance et une plus grande mortalité périnatale (**Abravanel et al., 2019**). La gravité de l'infection est caractéristique des VHE-1 et 2. Il n'y a pas de cas d'hépatite grave rapporté chez la femme enceinte infectée par un VHE-3 ou 4 (**Parlati et al., 2017**).

I.4.2. Infection chronique par le VHE

C'est en 2008 que le VHE fait son entrée parmi les causes de maladie chronique du foie (**Said et al., 2009**).

L'infection chronique par le VHE est définie comme la persistance de l'ARN du VHE dans le sang ou les selles pendant au moins 3 mois (**Kamar et al., 2013**).

L'infection chronique par le VHE se développe quasi exclusivement chez les personnes immunodéprimées, notamment les hémodialysés, les patients transplantés d'organes solides, les patients atteints d'hémopathies malignes, et les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (**Parlati et al., 2017**) avec un faible nombre de lymphocytes T CD4 (<250/mm³) développent une infection chronique dans environ 60%

des cas, Seules des souches zoonotiques (génotypes 3, 4 et 7) ont été associées à des infections chroniques (**Abravanel et al., 2019**).

Le passage à la chronicité est défini par la persistance du virus dans le sang ou les selles pendant plus de 3 mois. Chez ces patients, le mode de présentation est aspécifique, il s'agit le plus souvent d'une perturbation du bilan hépatique depuis plus de 3 mois, l'élévation des aminotransférases est souvent moins importante que chez les patients immunocompétents (**Abravanel et al., 2019**).

La persistance du VHE conduit à une progression rapide de la fibrose hépatique et pouvant évoluer vers une cirrhose (**Florence et al., 2019**).

I.4.3. Pathogenèse et réponse antivirale

La pathogenèse de l'hépatite E est mal connue. Étant donné que le VHE est principalement transmis par voie fécale-orale, on ne sait pas comment le virus atteint le foie (**Williams et al., 2001**).

Il existe peut-être un site extra-hépatique de répllication virale. Le virus pourrait se répliquer dans le tractus intestinal avant d'atteindre le foie. Des brins sens négatifs d'ARN du VHE ont été détectés dans l'intestin grêle, les ganglions lymphatiques, le côlon et le foie de porcs, ce qui est caractéristique de la répllication, indiquant une répllication extra-hépatique du VHE (**Williams et al., 2001**).

Le VHE se réplique ensuite dans le cytoplasme des hépatocytes et est libéré dans le sang et la bile (**Knipe et al., 2013**).

Les dommages au foie induits par l'infection par le VHE peuvent être à médiation immunitaire par les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules tueuses naturelles (NK) puisque le VHE n'est pas cytopathique (**Knipe et al., 2013**).

Un déplacement de l'équilibre des lymphocytes auxiliaires Th1/Th2 vers Th2 a été observé chez les femmes enceintes infectées par le VHE par rapport aux femmes non enceintes (**Pal et al., 2005**), mais la façon dont cela influence la gravité de l'infection par le VHE n'est pas élucidée (**Chandra et al., 2008**).

I.4.4. Manifestations extra-hépatiques

Des manifestations neurologiques ont été décrites chez les patients immunocompétents ou immunodéprimés. Leur fréquence au stade aiguë ou chronique est estimée à environ 15% des cas. Les atteintes neurologiques les plus fréquentes sont le syndrome de Parsonage-Turner (amyotrophie névralgique) et le syndrome de Guillain-Barré. Des méningo-encéphalites ou des névrites ont été également décrites (Abravanel et al., 2019).

D'autres manifestations extra-hépatiques ont été décrites au cours des infections aiguës ou chroniques par le VHE, comme des thrombopénies, des anémies hémolytiques, des pancréatites et des glomérulonéphrites (Abravanel et al., 2019).

I.5. Diagnostic virologique de l'hépatite E

La période d'incubation de l'infection par le VHE est généralement de 2 à 6 semaines (Abravanel et al., 2013).

Au moment du diagnostic, l'ARN du VHE et les IgM anti-VHE peuvent être détectés, suivis par des anticorps IgG anti-VHE (Huang et al., 2010) (Figure 8).

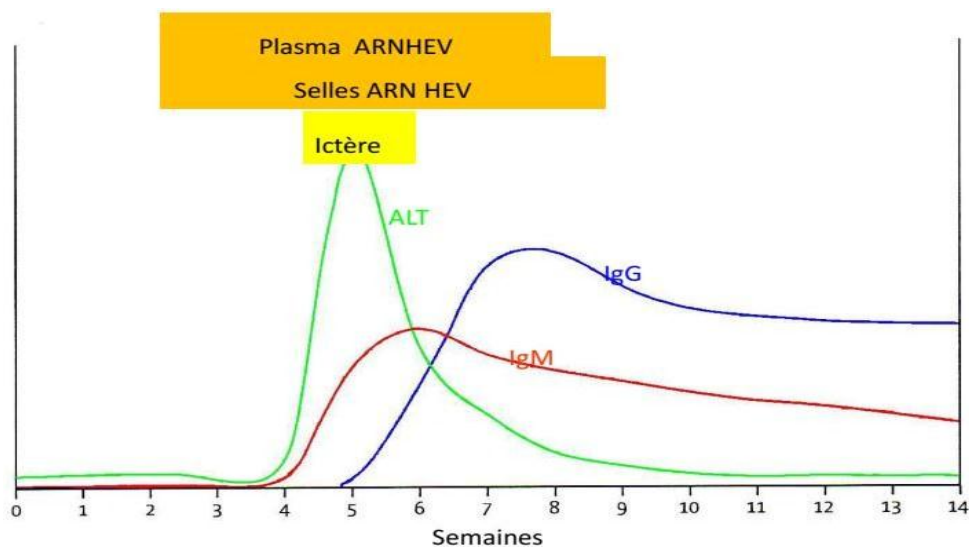


Figure 8 : Evolution des paramètres biologiques lors de l'infection par le virus de l'hépatite E (Abravanel et al., 2019).

I.5.1. Diagnostic sérologique

- Le diagnostic de l'infection aiguë repose sur la détection d'IgM anti-VHE, des séroconversions retardées peuvent être observées et il ne faut pas hésiter à répéter les tests si une cytolyse reste inexplicée (**Haute Autorité de santé, 2017**).
- La positivité des anticorps IgM anti-VHE dans le sérum est un marqueur important de l'infection aiguë par le VHE(**Huang et al., 2010**).
- Les anticorps IgM anti-VHE restent positifs pendant une courte période de temps (environ 3-4 mois), mais parfois ils persistent pendant un an (**Huang et al., 2010**)
- Les anticorps IgG anti-VHE ont une avidité croissante avec le temps (**Aslan et Balaban, 2020**). Ils sont relativement durables et la durée exacte de cette réponse reste incertaine (**Kamar et al., 2017**).
- La présence d'IgG seuls est un marqueur d'une infection ancienne (**Aslan et Balaban, 2020**) (**Figure 9**).

Les tests immunoenzymatiques basés sur les peptides ORF2/ORF3 ou sur des antigènes recombinants du VHE1 sont les méthodes sérologiques les plus largement utilisées pour la recherche des anticorps IgG et IgM anti-VHE dans le diagnostic de l'infection par le VHE (**Haute Autorité de santé, 2017**).

Plusieurs kits sérologiques sont disponibles sur le marché avec des performances analytiques variables. Les tests de détection des IgM les plus récents semblent avoir des performances améliorées, au moins dans la population immunocompétente (**Haute Autorité de santé, 2017**).

Les performances des tests sont moins bonnes chez l'immunodéprimé où la recherche d'IgM doit être associée à la recherche de l'ARN viral immunocompétente (**Haute Autorité de santé, 2017**).

Des tests immunochromatographiques ont également été développés pour rechercher les anticorps IgM anti VHE, ces tests sont faciles à utiliser, donnent un résultat en quelques minutes et sont adaptés aux régions a ressources limitées (**Haute Autorité de santé, 2017**).

I.5.2. Diagnostic moléculaire

- ❖ La détection de l'ARN du VHE dans le sang ou les selles est un moyen de diagnostic de l'infection par le VHE. En particulier, chez les sujets immunodéprimés chez qui les résultats des tests sérologiques sont souvent négatifs (**Kamar et al., 2013**)
- ❖ Les prélèvements doivent être effectués durant les deux premières semaines pendant lesquelles le patient est symptomatique (**Haute Autorité de santé, 2017**).
- ❖ Chez les patients atteints d'une infection aiguë par le VHE, la virémie culmine pendant la période d'incubation et pendant la phase symptomatique précoce (**Haute Autorité de santé, 2017**).
- ❖ L'ARN du VHE devient indétectable dans le sang environ 2 à 3 semaine après l'apparition de symptômes, mais peut être détecté dans les selles pendant encore 2 semaines (**Haute Autorité de santé, 2017**). L'excrétion virale dure 4 à 6 semaines dans les selles (**Aslan et Balaban, 2020**)
- ❖ Un résultat négatif pour l'ARN du VHE n'exclut pas une infection récente (**Haute Autorité de santé, 2017**) (**Figure 9**).

Les techniques utilisées sont celles d'amplification génique (tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) : RT-PCR (Réaction de polymérisation en chaînes) ou la TMA (Transcription Mediated Amplification), commercialisées ou « maison » et l'amplification isotherme médiée par une boucle de transcription inverse (**Aslan et Balaban, 2020**).

La performance de ces tests peut varier aussi, mais un standard OMS permet désormais de déterminer la limite de détection de la méthode utilisée (**Jothikumar et al., 2006**).

Les TAAN sont capables de détecter la cible de l'ARN du VHE, spécifiquement les domaines conservés du génome du VHE (la région de l'ORF2 qui chevauche l'ORF3), des quatre principaux génotypes du VHE (génotypes 1 à 4) qui infectent les humains (**Jothikumar et al., 2006**).

Quant à la quantification de l'ARN, il semblerait que le protocole de RT-PCR ciblant la séquence ORF3 soit le plus approprié. Ces méthodes sont limitées par la courte durée de l'excrétion virale (notamment dans le sang) (**Haute Autorité de santé, 2017**).

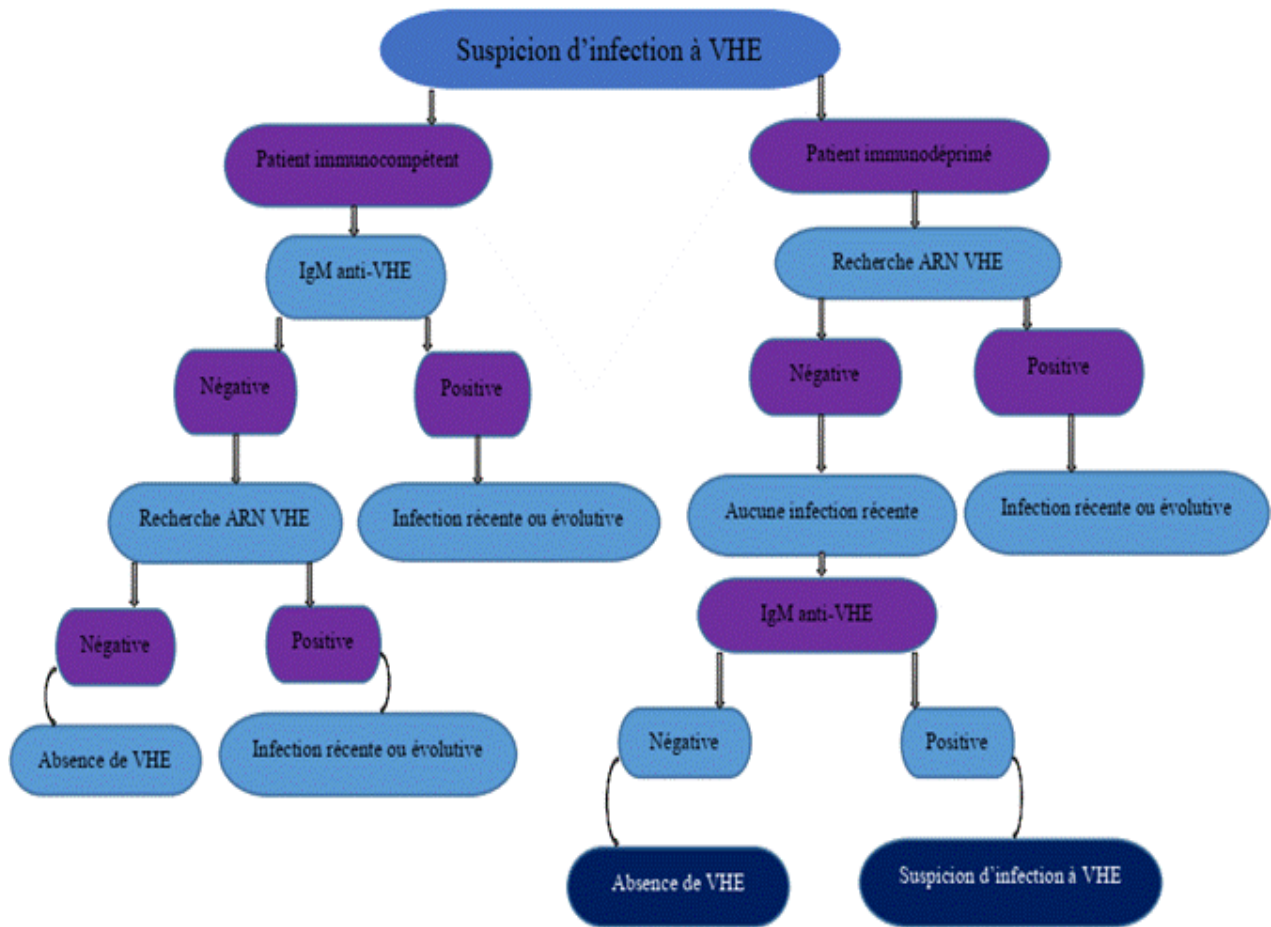


Figure 9 : Algorithme pour le diagnostic de l'infection par le VHE (Talapko et al., 2021)

I.6. Traitement et prévention de l'hépatite E

I.6.1. Traitement

La majorité des cas d'infection aiguë par le VHE ne nécessite aucun traitement spécifique (Webb et Dalton, 2019).

Cependant, chez les patients transplantés d'organes solides développant une infection chronique, l'allègement du traitement immunosuppresseur, lorsque cela est possible, est envisagé en première intention. Il permet à lui seul l'éradication du virus dans environ un

tiers des cas. L'effet antiviral sur le VHE de l'interféron- α et celui de ribavirine ont été démontrés (**Abravanel et al., 2019**).

Cependant, l'IFN ne peut être utilisé après une transplantation de rein, de cœur ou de poumon car il augmente le risque de rejet aigu. Ainsi, compte tenu de son administration par voie orale, la « Ribavirine », administrée en monothérapie, apparaît comme la molécule de choix pour le traitement d'une hépatite E chronique (**Abravanel et al., 2019**).

Le suivi virologique 3 mois après l'arrêt d'un traitement permet d'objectiver l'éradication du virus. Chez des patients transplantés chroniquement infectés par le VHE, le traitement par ribavirine pendant une durée médiane de 3 mois a permis une réponse virologique soutenue chez environ 80% des patients.

En cas d'échec, des mutations dans la polymérase virale ont été identifiées. Celles-ci ne modifient pas la sensibilité du virus à la ribavirine mais augmentent la capacité répliquative du virus. Les mécanismes impliqués dans l'échec au traitement restent à établir.

Enfin, la ribavirine pourrait s'avérer utile au stade aigu en cas d'hépatite E sévère chez les patients ayant une hépatopathie préexistante. Cependant, le bénéfice clinique dans ces situations n'a pas été démontré (**Abravanel et al., 2019**).

I.6.2. Prévention

Le lavage efficace des mains est la première mesure préventive à l'échelle individuelle. Dans les régions endémiques où la plupart des infections sont d'origine hydrique, la stratégie de prévention primaire consiste à améliorer les installations d'assainissement et d'eau potable (**Haque et al., 2015; Nelson et al., 2011**).

Dans les zones où la transmission zoonotique est prédominante, l'infection peut être prévenue en assurant une préparation adéquate des produits alimentaires.

Les produits à base de viande, en particulier le porc et le gibier, doivent être bien cuits (**Barnaud et al., 2012; Feagins et al., 2008**).

Les personnes à risque, telles que les femmes enceintes, les personnes atteintes d'une maladie hépatique préexistante et les personnes immunodéprimées doivent faire particulièrement attention et éviter la viande crue. Les personnes qui travaillent avec des

porcs, des sangliers, du gibier et leurs produits doivent prendre des mesures pour minimiser les contacts directs et utiliser un équipement de protection (**Schielke et al., 2015**).

Vaccination

Un vaccin recombinant basé sur la protéine de capsid du virus (acides aminés 368 à 660 de la protéine de capsid) a été développé. Ce vaccin confère une protection à long terme contre tous les génotypes du VHE, mais sa disponibilité est actuellement restreinte à la Chine. L'efficacité clinique dans les études était de 100% après 3 injections (**Abравanel et al., 2019**).

Notre projet de fin d'étude a été réalisé au sein de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), annexe de Sidi Fredj, au niveau du département de Virologie humaine, laboratoire Virus des hépatites.

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 174 patients reçus à l'IPA entre janvier 2021 et mars 2022, présentant des symptômes d'hépatite.

L'objectif de notre travail est de déterminer si le virus de l'hépatite E est à l'origine du tableau d'hépatite chez ces patients.

Notre travail a été fait durant une période de quatre mois, allant du mois de Mars au mois de Juillet 2022.

II.1. Matériel

Nous avons réalisé, en premier lieu, une documentation des fiches de renseignements cliniques de tous les patients reçus à l'IPA entre janvier 2021 et mars 2022 pour des sérologies VHA et/ou VHB, et/ou VHC et qui présentent un tableau d'hépatite (ictère, bilan hépatique perturbé).

Dans un deuxième temps, les sérologies de ces patients ont été complétées pour ensuite sélectionner uniquement les patients négatifs en hépatite A, B, C, chez lesquels on a recherché l'hépatite E.

La recherche de l'infection au VHE a été réalisée chez 172 patients, deux patients positifs, l'un pour l'hépatite B et l'autre pour l'hépatite C ont été exclus de l'étude.

II.1.1. Matériel biologique

Les prélèvements sanguins ont été effectués soit au niveau du centre de prélèvement de l'annexe de Sidi Fredj, soit acheminés des différentes structures hospitalières d'Alger, selon une fiche technique du laboratoire Virus des Hépatites et chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignements cliniques.

II.1.2. Matériel non biologique

Les réactifs et appareillages utilisés durant l'étude sont présentés dans le **tableau 1**

Tableau 1 : Principaux réactifs et appareillage :

	Technique	Matériel non biologique	
		Réactifs	Appareillage
L'étude sérologique	ELISA	Coffret AiD tm HBsAg (Voir annexe IV) Coffret EUROIMMUN IgM HEV (Voir annexe III) Coffret EUROIMMUN IgG HEV	Incubateur Laveur automatique Spectrophotomètre Vortex Imprimante (Voir annexe II)
	CMIA	ARCHITECT HAVAb-IgM ARCHITECT Anti- HCV	ARCHITECT i1000SR Abbott (voir annexe I)
L'étude moléculaire	Extraction ARN	Kit pour l'extraction automate : NuKEx Virus	PSM II Extracteur NEOS- 96 XT (Voir annexe V) Centrifugeuse
		Kit pour l'extraction sur colonne : Mini kit d'ARN viral QIAamp	
	RT-PCR en temps réel	Réactif LightMix® Molecular Hepatitis E Virus (HEV) Roche	COBAS 480z Roche (Voir annexe V) Cabine PCR

II.2. Méthodes

L'objectif de notre travail est de déterminer si le virus de l'hépatite E est à l'origine du tableau d'hépatite chez des patients qui sont négatifs aux sérologie des hépatites A, B, C.

- ✓ Les sérologies ont été réalisées par technique immunenzymatique ELISA ou par chimiluminescence.
- ✓ Une recherche de l'ARN virale par RT-PCR en temps réel a été effectuée chez les patients présentant des IgM anti VHE positives et chez les sujets immunodéprimés

✓ **Les tests utilisés au cours de notre travail sont les suivants :**

- Test sérologique pour l'hépatite C « CMIA »
- Test sérologique pour l'hépatite A « CMIA »
- Test sérologique pour l'hépatite B « ELISA Ag HBs »
- Test sérologique pour l'hépatite E « ELISA IgM, IgG »
- Test moléculaire pour l'hépatite E « RT-PCR en temps réel »

II.2.1. Échantillonnage

Le volume de chaque prélèvement est de 5 à 10 ml de sang total prélevés dans des tubes secs ou bien contenant de l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA). Ces derniers sont centrifugés à 1500 ×g pendant 15 minutes afin de récupérer le sérum (tube secs) ou le plasma (tube à EDTA).

Les prélèvements sont ensuite acheminés au niveau du laboratoire pour analyse sérologique, puis les sérums ou plasma ont été conservés entre 2-8° C pendant 7 jours ou bien congelés à une température de -20°C pour une durée plus longue.

Nous avons récupéré les échantillons congelés pour réaliser nos tests

II.2.2. Tests sérologiques

II.2.2.1. Technique microparticulaire par chimiluminescence « CMIA »

- ✓ Le principe de cette technique est basé sur un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) réalisé sur l'automate « ARCHITECT » (**Figure 10**).

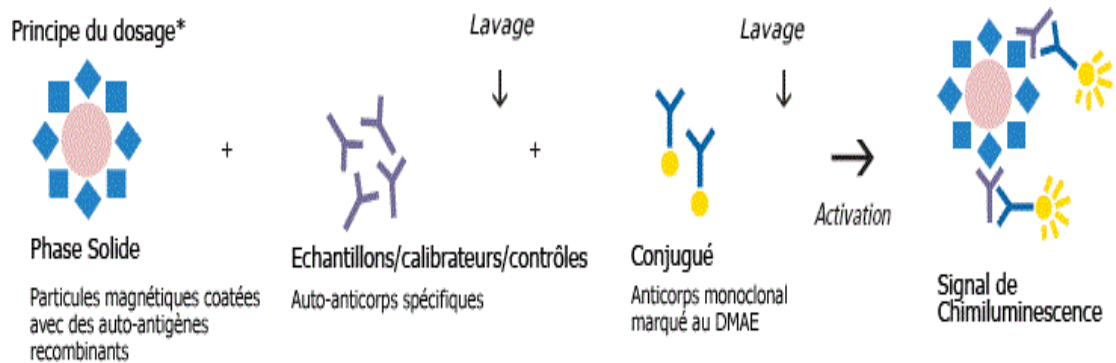


Figure 10 : Principe de la technique CMIA

A- Recherche des anticorps anti-VHC

- Les anticorps anti-VHC présents dans l'échantillon se lient aux microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigène VHC recombinant.
- Après lavage, le conjugué d'anticorps anti immunoglobulines humaines marqué à l'acridinium est ajouté pour créer un mélange réactionnel. Après un autre cycle de lavage, les solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel.
- La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL) qui est proportionnelle à la quantité d'anticorps présente dans l'échantillon.
- La présence ou l'absence d'anticorps anti-VHC dans l'échantillon est déterminée en comparant le signal chimiluminescent de la réaction au signal de la valeur seuil déterminé à l'aide d'une courbe de calibration.
- Si le signal chimiluminescent de l'échantillon est supérieur ou égal au signal de la valeur seuil, l'échantillon est considéré comme réactif pour l'anticorps anti-VHC.

B- Recherche des anticorps IgM anti-VHA :

- Les anticorps IgM anti-VHA présents dans l'échantillon prédilué se lient aux microparticules paramagnétiques recouvertes de virus de l'hépatite A.
- Après lavage, les IgM anti-VHA se lient au conjugué d'anticorps anti-IgM humaines marqué à l'acridinium qui est ajouté. Après un autre cycle de lavage les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées à ce mélange.
- La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL) qui est proportionnelle à la quantité d'IgM anti-VHA présente dans l'échantillon.
- La présence ou l'absence de l'antigène dans l'échantillon est déterminée en comparant le signal chimiluminescent de la réaction au signal de la valeur seuil déterminé à l'aide d'une courbe de calibration active.
- Les échantillons dont la valeur S/CO (signal de l'échantillon sur signal de la valeur seuil) est supérieure à 1,20 sont considérés comme réactifs pour les IgM anti-VHA.

Les échantillons dont la valeur S/CO est comprise entre 0,80 et 1,20 sont considérés comme réactifs *en zone grise*. Les échantillons dont la valeur S/CO est inférieure à 0,80 sont considérés comme non réactifs.

II.2.2.1. Technique « Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay » ELISA

- ✓ La technique d'ELISA est une technique immuno-enzymatique basée sur la détection des antigènes ou des anticorps dans le sérum ou le plasma humain.

A- Technique ELISA Ag HBs :

Pour la recherche de l'Ag HBs une ELISA de type sandwich a été utilisée, le principe de la technique est illustré sur la **figure 11**

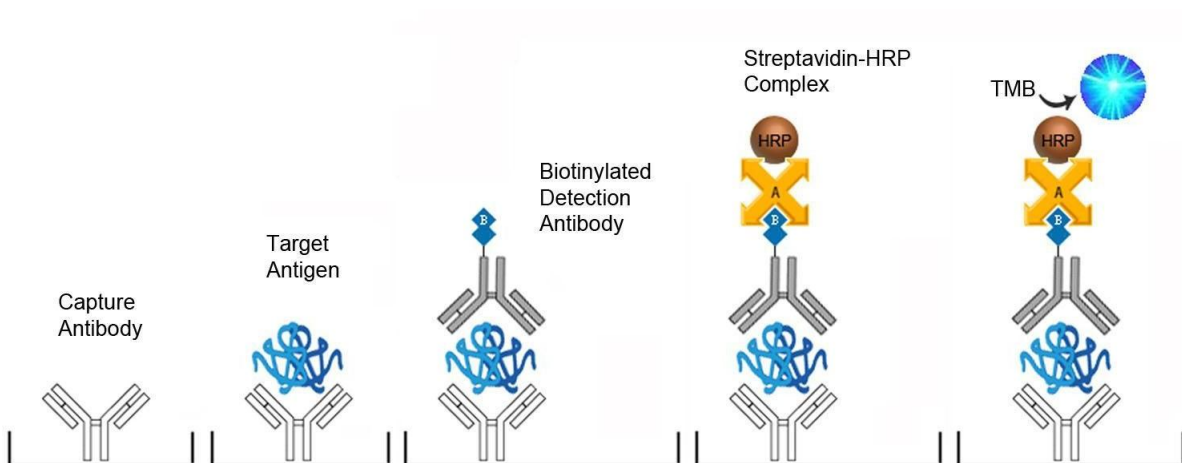


Figure 11 : Principe de l'ELISA sandwich

- La technique ELISA de type sandwich utilise une phase solide sensibilisée avec des Ac monoclonaux anti-HBs. Sur ces anticorps vont se fixer les antigènes présents dans l'échantillon.
- Après un lavage un conjugué anti-HBs marqué à la peroxydase est rajouté, après une période d'incubation un second lavage est réalisé.

➤ L'addition du substrat de l'enzyme produit une réaction colorée mesurée par spectrophotométrie, et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans l'échantillon.

▪ **La recherche de l'Ag HBs se fait selon le protocole suivant :**

1. On dispose d'une microplaque constituée de 12 barrettes de 8 puits chacune, coté avec des anticorps monoclonaux de souris anti-HBs.
2. Préparer la liste des sérums, la solution de lavage (x20) et régler l'incubateur à 37°C.
3. Préparer la plaque avec le nombre de barrettes nécessaires et laisser revenir à température ambiante.
4. Laisser la cupule A1 pour le blanc.
5. Déposer :
 - 20 µl de diluent dans chaque cupule sauf le blanc
 - 100 µl de contrôle négatif dans B1, C1 et D1
 - 100 µl de contrôle positif dans E1, F1
 - 100 µl de sérum de patients dans G1, H1, A2, ...
6. Homogénéiser en aspirant et en faisant ressortir le mélange au moins 3 fois.
7. Recouvrir la plaque avec un film adhésif et incubé à 37 °C pendant 60 min.
8. Rajouter 50 µl de conjugué HRP dans chaque cupule sauf le blanc.
9. Recouvrir la plaque avec un film adhésif et Incuber à 37 °C pendant 30 min.
10. Après incubation, un lavage est effectué afin d'éliminer tout ce qui n'est pas fixé.
11. Déposer 50 µl de substrat A + 50 µl de substrat B dans chaque cupule (y compris le blanc) puis incubé à 37 °C pendant 30 min à l'obscurité.
12. Déposer 50 µl de solution stop dans chaque cupule.

- ✓ La lecture des résultats s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre à 450 nm après soustraction de la DO du blanc ou à 450/630nm.
- ✓ Les DO obtenues permettent de conclure la présence ou l'absence de l'Ag HBs

- ❖ Validation des résultats :
 - Vérifier si la densité optique (DO) du blanc < 0.080 à 450 nm
 - Vérifier si la densité optique (DO) du contrôle positif ≥ 0.800 à 450/630 ou à 450 nm sans le blanc
 - Vérifier si la densité optique (DO) du contrôle négatif ≤ 0.100 à 450/630 ou à 450 nm sans le blanc
- ✓ Le test doit être refait si les valeurs des contrôles sont en dehors de ces normes

- ❖ Calcul de la valeur seuil et interprétation des résultats :
 - La valeur seuil est déterminée à partir du contrôle négatif
 - Calculer la valeur moyenne d'absorbance mesurée pour le contrôle négatif
 - $V_s = \text{moyenne des contrôles négatifs} + 0.06$
 - La présence ou l'absence de l'Ag HBs est déterminée par le calcul du ratio pour chaque échantillon :
 - $\text{Ratio} = \text{DO de chaque échantillon} / V_s$
- ✓ Si la valeur du ratio est < 1 l'échantillon est considéré négatif pour l'Ag HBs.
- ✓ Si la valeur du ratio est ≥ 1 l'échantillon est considéré positif pour l'Ag HBs.

B- Test sérologique pour hépatite E « ELISA » :

Dans le but de détecter la présence du VHE, La technique immuno-enzymatique (ELISA) immunologiques de type indirecte a été réalisé : ELISA pour la recherche des IgM et l'ELISA pour la recherche des IgG. Le principe de la technique est illustré sur la **figure 12**

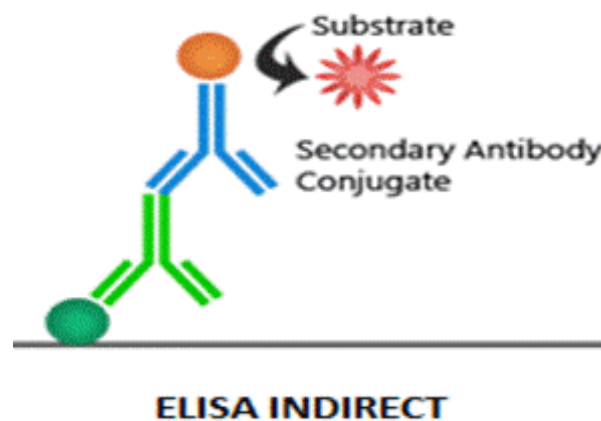


Figure 12 : Principe de la technique de l'ELISA indirecte

- ✓ L'ELISA (IgM /IgG) anti-virus de l'hépatite E (VHE) est basé sur des antigènes recombinants du génotype 1 et 3 du virus de l'hépatite E.
- ✓ Les barrettes de microtitration contiennent chacune 8 puits de réactif séccable revêtus d'antigènes recombinants du virus de l'hépatite E.

❖ Technique ELISA IgM anti-HEV :

Le test ELISA fournit une détermination in vitro semi-quantitative des anticorps humains de classe IgM contre les antigènes du virus de l'hépatite E dans le sérum ou le plasma pour le diagnostic des infections par le virus de l'hépatite E.

Avant le dosage des anticorps spécifiques de classe IgM, des anticorps de classe IgG doivent être retiré de l'échantillon du patient.

Cette procédure doit être effectuée afin d'éviter que des facteurs rhumatoïdes de classe IgM ne réagissent avec des IgG spécifiquement liés, ce qui conduirait à des résultats de test d'IgM faussement positifs, et pour empêcher des IgG spécifiques de déplacer l'IgM de l'antigène, ce qui conduirait à des faux négatifs.

Dans la première étape de réaction, des échantillons dilués sont incubés dans les puits. Dans le cas d'échantillons positifs, des anticorps IgM spécifiques se lieront aux antigènes. Pour détecter les anticorps liés, une deuxième incubation est réalisée à l'aide d'une IgM anti immunoglobulines humaines marquée par une enzyme « conjugué » catalysant une réaction colorée.

▪ **La recherche des IgM se fait selon le protocole suivant :**

1. Préparer la liste des sérums, la solution de lavage (x10).
2. Préparer la plaque avec le nombre de barrettes nécessaires et laisser revenir à température ambiante.
3. Transférer 100 µl du calibrateur, des contrôles positifs et négatifs ou dilués échantillons dans les puits individuels de la microplaque sel. Incuber 30 minutes à température ambiante (+18°C à +25°C).
4. Faire 3 lavages des cupules avec le tampon de lavage afin d'éliminer tout ce qui n'est pas fixé, en laissant le tampon de lavage dans chaque puits pendant 30 à 60 secondes par cycle de lavage, puis vider les puits.
5. Éliminer soigneusement tout le liquide de la microplaque en la tapotant sur un papier absorbant.
6. Déposer 100 µl de conjugué enzymatique dans chacun des puits de la microplaque. Incuber 30 minutes à température ambiante (+18°C à +25°C).
7. Répétez l'étape 4.
8. Déposer 100 µl de solution chromogène/substrat dans chacun des puits de la microplaque. Incuber 15 minutes à température ambiante (+18°C à +25°C).
9. Déposer 100 µl de solution d'arrêt dans chacun des puits de la microplaque.

10. La mesure de la densité optique doit être effectuée à une longueur d'onde de 450 nm et une longueur d'onde de référence entre 620 nm et 650 nm dans les 30 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

- ✓ Avant de mesurer, agiter légèrement la microplaque pour assurer une répartition homogène de la solution

- Interprétation des résultats :

La valeur de la densité optique du calibrateur définit la limite supérieure de l'intervalle de référence des non-infectés (cut-off). Les valeurs supérieures au seuil indiqué doivent être considérées comme positives, celles en dessous comme négatives.

- ❖ **Technique « ELISA IgG » anti- HEV :**

Dans la première étape de réaction, des échantillons de patients dilués sont incubés dans les puits. Dans le cas d'échantillons positifs, des anticorps IgG spécifiques (également IgA et IgM) se lieront aux antigènes. Pour détecter les anticorps liés, une deuxième incubation est réalisée à l'aide d'une IgG anti IgG humaines marquées par une enzyme (conjugué) catalysant une réaction colorée.

- **Pour ce faire nous avons suivi le protocole suivant :**

1. Préparer la liste des sérums, la solution de lavage (x10).
2. Préparer la plaque avec le nombre de barrettes nécessaires et laisser revenir à température ambiante.
3. Transférer 100 µl du calibrateur, des contrôles positifs et négatifs ou des échantillons de patients dilués dans les puits individuels de la microplaque. Ensuite laisser Incuber pendant 30 minutes à température ambiante (+18°C à +25°C)
4. Laver les puits de réactif 3 fois avec 450 µl de tampon de lavage, laisser le tampon de lavage dans chaque puits pendant 30 à 60 secondes par cycle de lavage, puis videz les puits.

5. Éliminer soigneusement tout le liquide de la microplaque en la tapotant sur un papier absorbant.
6. Déposer 100 µl de conjugué enzymatique (IgG anti IgG humaines marquées à la peroxydase) dans chacun des puits de la microplaque. Incuber 30 minutes à température ambiante (+18°C à +25°C).
7. Effectué un deuxième lavage, comme décrit ci-dessus.
8. Déposer 100 µl de solution chromogène/substrat dans chacun des puits de la microplaque. Incuber 15 minutes à température ambiante (+18°C à +25°C).
9. Déposer 100 µl de solution d'arrêt dans chacun des puits de la microplaque.
10. La mesure de la densité optique doit être effectuée à une longueur d'onde de 450 nm et une longueur d'onde de référence entre 620 nm et 650 nm dans les 30 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt. Avant de mesurer, agiter légèrement la microplaque pour assurer une répartition homogène de la solution

▪ Interprétation des résultats :

Les résultats peuvent être évalués de manière semi-quantitative en calculant le ratio de densité optique du contrôle ou de l'échantillon sur la valeur de la densité optique du calibrateur. Le Calcul du ratio selon la formule suivante :

✓ $DO \text{ du contrôle ou de l'échantillon patient} / DO \text{ du calibrateur} = \text{Ratio}$

L'interprétation des résultats se fait comme suivant :

- ✓ Ratio <0,8 : « Négatif »
- ✓ $0,8 \leq \text{Ratio} < 1,1$: « Indéterminée »
- ✓ Ratio $\geq 1,1$: « Positif »

II.2.3. Tests moléculaires

II.2.3.1. Extraction de l'ARN

Pour l'extraction de l'acide ribonucléique, deux techniques ont été utilisées :

- L'extraction sur colonne.
- L'extraction automatique à l'aide de l'extracteur NEOS-96 XT.

A- Extraction de l'ARN sur colonnes :

❖ Principe :

L'extraction et purification d'ARN à partir des mini kits (QIAamp) se base sur l'isolement rapide d'ARN virale à partir de plasma, sérum, d'urine ou d'autre liquide corporel. Ce kit utilise des tampons pour lyser complètement le prélèvement et augmenter l'absorption sélective des acides nucléique par la membrane en silice (SiO₂) de la colonne.

Après l'addition d'éthanol, l'ARN est absorbé par cette membrane alors que les autres constituants passent à travers et seront complètement éliminée par deux lavages successifs (AW1, AW2).

Enfin l'ARN est récupéré de cette membrane par élution dans un tampon AWE, le principe de cette extraction est illustré sur la **figure 13**.

❖ Mode opératoire :

- 1- Préparer 560 µl de tampons AVL contenant ARN carrier dans un micro tube de 1,5 ml.
- 2- Ajouter 140µl d'échantillon au tampon AVL-ARN et mélanger au vortex pendant 15s.
- 3- Incuber à température 15°-25°C pendant 10 min
- 4- Centrifuger brièvement le tube.
- 5- Rajouter 560µl de l'éthanol a l'échantillon et vortexer.
- 6- Déposer 630µl de mélange obtenue sur la colonne QIAamp mini et centrifugeur a 6000×g pendant 1 min

- 7- Ouvrir la colonne QIAamp mini et répétez l'étape 6.
- 8- Placer la colonne sur un nouveau tube de collecte et rajouter 500µl de tampons AW1 et centrifuger a 6000 ×g pendant 1 min.
- 9- Placer la colonne sur un nouveau tube de collecte et rajouter 500µl de tampons de lavage AW2 et centrifuger 20 000 ×g pendant 3 min.
- 10 - déplacer la colonne QIAamp dans un micro tube de 1,5 ml et ajouter 60µl de tampon AVE et incuber le mélange à température ambiante pendant 1min.
- 11- centrifuger a 6000×g pendant 1 min.

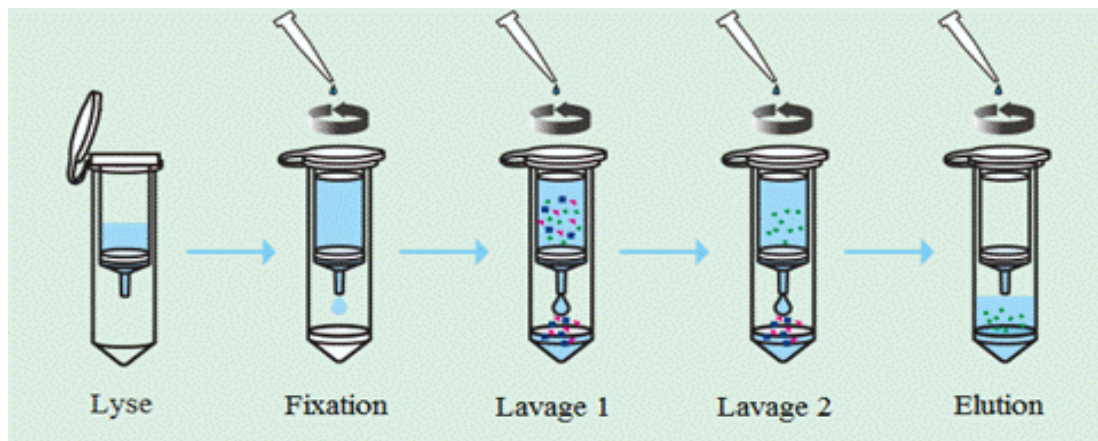


Figure 13 : Principe de l'extraction d'acide nucléique sur colonnes

a) **Extraction de l'ARN sur automate :**

En utilisant Extracteur NEOS-96 XT qui permet d'extraire automatiquement et rapidement le matériel génétique (ARN et ADN).

Le kit utilisé est destiné à l'extraction rapide de l'ARN viral du sérum et d'autres échantillons liquides.

Les acides nucléiques extraits sont hautement purifiés, les billes magnétiques se lient à l'acide nucléique chargé négativement.

Les billes magnétiques qui ont lié les acides nucléiques sont magnétisées, transférées et libérées via des tiges magnétiques pendant le processus d'extraction des acides nucléiques.

❖ **Mode opératoire :**

- 1- Sortez les plaques d'extraction de la boîte du kit.
- 2- Enlever délicatement la feuille d'aluminium qui couvre la plaque pour éviter l'éclaboussure de liquide.
- 3- Ajouter 200 µl de chaque échantillon dans les cupules des 1^{ère} et 7^{ème} colonnes des plaques d'extraction.
- 4- Introduire les plaques dans l'automate et appliquer le programme (**Tableau 2**)
- 5- Une fois le programme terminé, récolter les extraits situés au niveau des 6^{ème} et 12^{ème} colonnes dans des microtubes, conserver à ≤ -20 °C.

Tableau 2 : Le programme pour l'extraction sur le NEOS-96 XT

No	Column	Name	Waiting (sec)	Mixing (sec)	Magnet (sec)	Speed	Volume (µl)	Heating State	Temperature (°C)
1	1	Lysis	0	300	90	8	800	Lysis	0
2	2	Washing1	0	60	60	8	700	Elution	90
3	3	Washing 2	0	60	60	8	800	Elution	90
4	6	Elution	60	300	120	8	80	Elution	90
5	2	Release bead	0	60	0	8	600	Closed	0

II.2.3.2. Amplification et détection de l'ARN du VHE

A- La transcription inverse :

Pour appliquer la PCR à l'étude de l'ARN, une étape supplémentaire, précédant l'étape d'amplification, est nécessaire : il s'agit de convertir les brins d'ARN en ADN complémentaires (ADNc).

Cette étape fait appel soit à une transcriptase inverse ou RT (Reverse Transcriptase) soit à une ADN polymérase recombinante thermostable qui grâce à ses activités multiples de transcriptase inverse, polymérase et nucléase 5'-3' permet la transcription inverse à la polymérisation.

B- La PCR en temps réel :

La PCR en temps réel nécessite deux amorces comme pour la PCR classique (sens et anti- sens) pour l'amplification du matériel génétique.

Cependant, pour cette technique, un oligonucléotide (ou sonde TaqMan™) est ajouté en même temps que les amorces. Cet oligonucléotide est complémentaire d'une séquence interne du fragment d'ARN à amplifier située entre les deux amorces. A son extrémité 5' se trouve un fluorochrome rapporteur (reporter) et à son extrémité 3' se trouve un groupement quencher (**Figure 14**).

Lorsque le fluorochrome et le quencher sont proches, la fluorescence est absorbée (éteinte) par le quencher par suite des effets de transfert d'énergie de type Förster.

Durant l'étape d'élongation de la PCR, il y aura séparation du fluorochrome de la sonde suite à l'activité de la nucléase 5'-3' de l'ADN-polymérase thermostable.

Il y aura alors émission de la fluorescence car le fluorochrome rapporteur s'éloignera du groupement quencher

L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'ADN amplifié au cours de la réaction de PCR. On peut suivre ainsi l'amplification de la séquence cible après chaque cycle, d'où le terme de "PCR en temps réel".

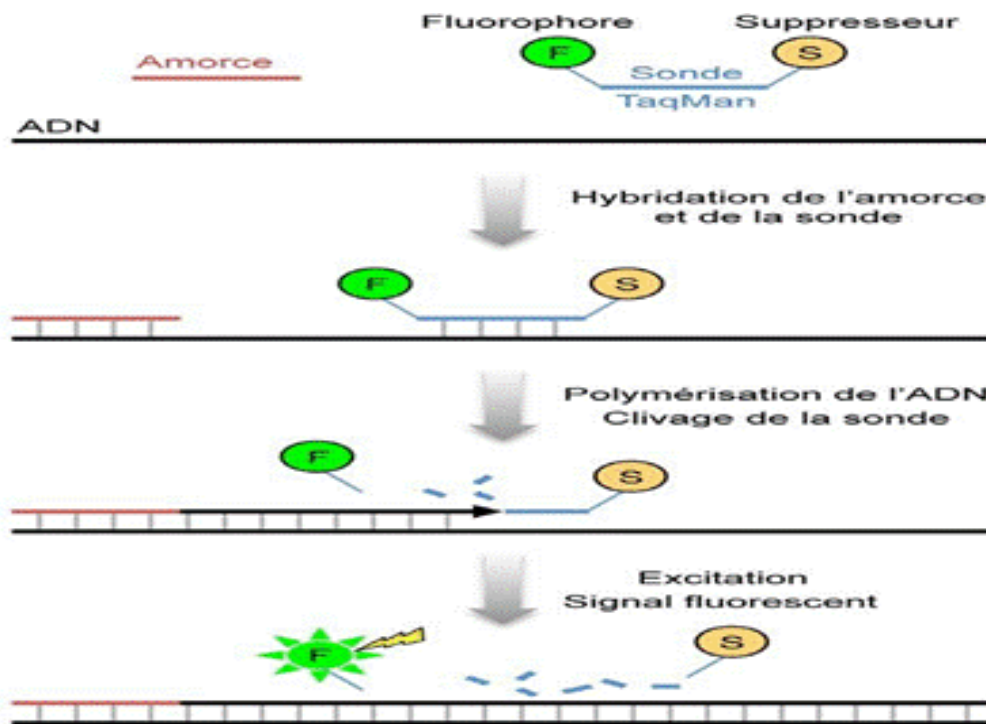


Figure 14 : Principe de la PCR en temps réel avec sonde TaqMan

- La PCR a été réalisé sur « COBAS Z 480 » Analyzer Roche (voir annexe V) en utilisant le réactif LightMix®Molecular Hepatitis E Virus (HEV) Roche, ciblant une région du gène codant pour la capsid virale (70pb).

La technique de PCR est réalisée selon le protocole suivant :

❖ **Préparation du Master Mix :**

- Pour chaque extrait mélanger :
 - 1 µl de RT,
 - 7µL d'eau PCR,
 - 6,5 µl de tampon (dNTP, MgCl₂, RNasin),
 - 0,5 µL de régent mix (amorces et sondes)

- 1- Mélanger légèrement puis spiner.
- 2- Selon le nombre d'extraits, Déposer 15µl de master mix dans chaque puits de la plaque PCR, et faire de même pour les témoins (T+ et T-).
- 3-Rajouter 5µl d'ARN extrait et 5µl de chaque témoin dans les puits de la microplaque pour avoir un volume final de 20µl, puis filmer la plaque
- 4- Centrifuger la plaque PCR à 3500 RPM pendant 1 mn.
- 5- Introduire la plaque dans l'appareil pour commencer l'amplification.

❖ **Programme d'amplification :**

- ✓ Transcription inverse (RT) : un cycle à 55° pendant 5mn.
- ✓ Dénaturation : un cycle à 95° pendant 5mn.
- ✓ Amplification :45 cycles (95° pendant 05 sec puis 60° pendant 15 sec et 72° pendant 30 sec)
- ✓ Refroidissement : un cycle à 40° pendant 30 sec.

❖ **Interprétation des résultats :**

Les résultats sont interprétés comme décrit sur le tableau ci-dessous

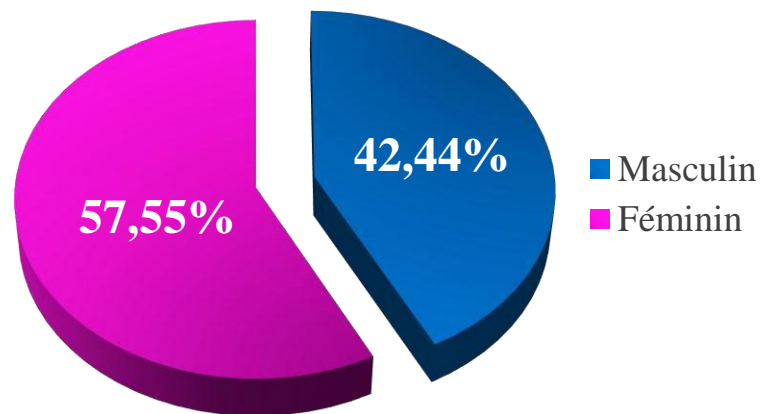
Tableau 3 : Lecture des résultats de la PCR

Echantillon	Contrôle positif	Contrôle négatif	Résultat
Pas d'amplification	Positif	Négatif	Négatif
Amplification Ct<39	Positif	Négatif	HEV Positif
Pas d'amplification	Négatif	Négatif	Invalide
Signal d'amplification	Positif	Positif	Contamination

III.1. RESULTATS

III.1.1 Répartition des patients selon le sexe

La répartition selon le sexe des 172 patients rapporte une prédominance féminine, 99 d'entre eux sont de sexe féminin avec une fréquence de 57,55%, alors que 73 soit 42,44% sont de sexe masculin, le Sex-Ratio est de 0,73. (Figure 15)



Sex-Ratio = 0,73

Figure 15 : Répartition des patients en fonction du sexe

III.1.2. Répartition des patients par tranche d'âge

Sur un effectif de 172 patients, l'âge des individus est compris entre (1-87ans) avec un âge moyen de ≈ 47 ans.

- ✓ Nous avons étudié également la répartition des patients selon l'âge en les répartissant en 9 tranches d'âge déférentes.

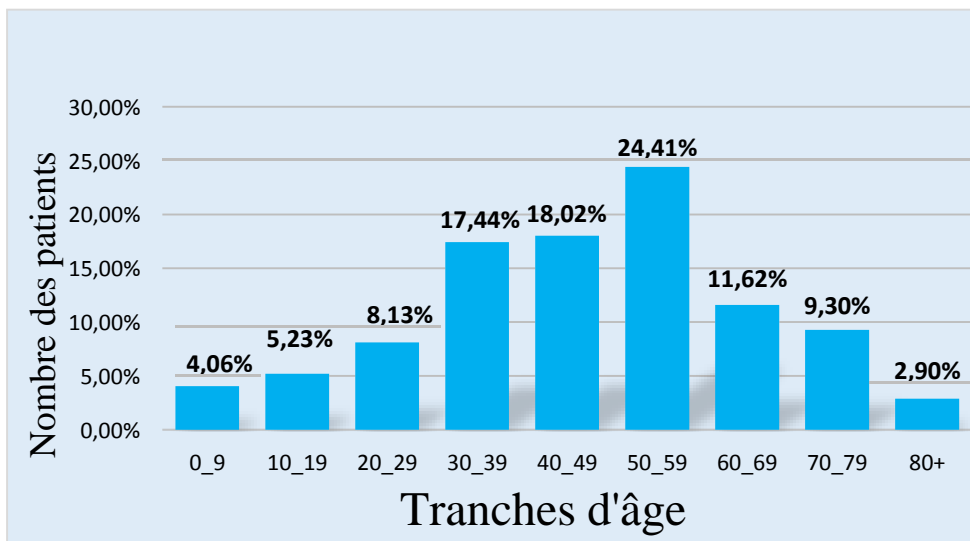


Figure 16 : Distribution des patients en fonction de l'âge

➤ L'analyse de la figure ci-dessus montre que :

Le pourcentage des patients le plus élevé est de (24,41%) qui se situe dans la tranche d'âge [50 –59] ; suivi respectivement des tranches d'âge [40-49], [30-39], avec des fréquences de (18,02%), (17,44 %).

Nous avons trouvé des fréquences faibles (11,62 %), (9,30%) et (8,13%) pour les tranches d'âge [60- 69], [70-79] et [20-29] et des fréquences plus faible de (5,23%) pour la tranche d'âge [10-19], (4,06%) pour la tranches d'âge [0-9] et (2,90%) au-delà de 80 ans (Figure 16)

III.1.3. Résultats sérologiques

Sur les 172 patients :

- 07 avaient des IgM anti-VHE
- 31 patients avaient des IgG anti-VHE
- 140 n'avaient aucun anticorps
- Parmi les 7 patients IgM positifs, 6 patients présentaient de façon concomitante des IgG.
- Un seul patient présentait des IgM sans IgG (Figure 17, 18)

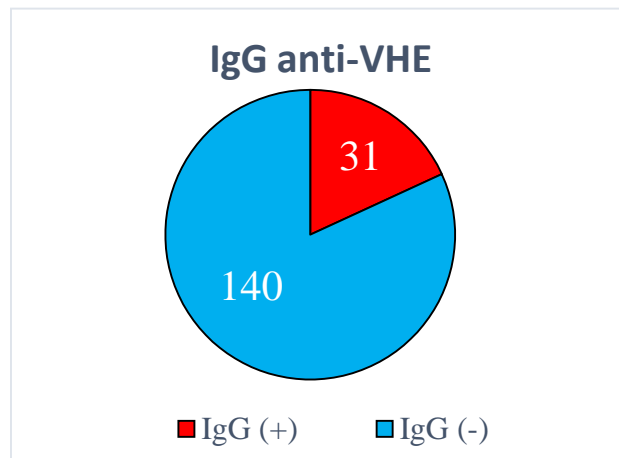


Figure 17 : Nombre de patients à sérologie positive en IgG

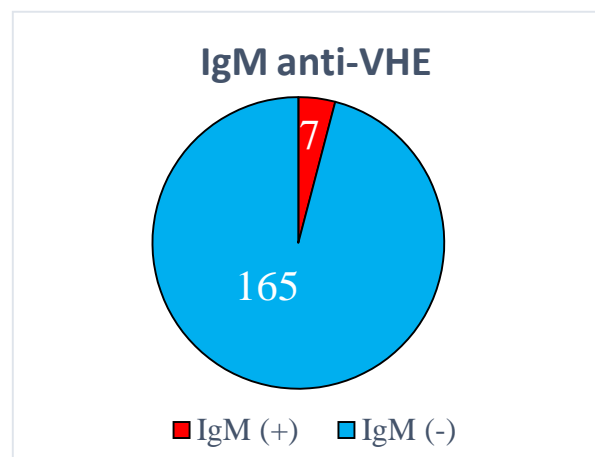


Figure 18 : Nombre des patients à sérologie positive en IgM

III.1.4. Répartition selon le sexe les patients positifs en sérologie

- Parmi les 7 cas positifs en IgM on a 5 patients de sexe masculin et 2 de sexe féminin.
- Parmi les 31 patients positifs en IgG, 15 hommes et 16 femmes (**tableau 4**).

Tableau 4 : Répartition des patients positifs en sérologie anti-VHE selon le sexe

	Les hommes	Les femmes	TOTAL
Les IgG+	15	16	31
Les IgM+	5	2	7

III.1.5. Répartition selon les tranches d’âge les patients positifs en sérologie :

❖ Les patients positifs en IgG :

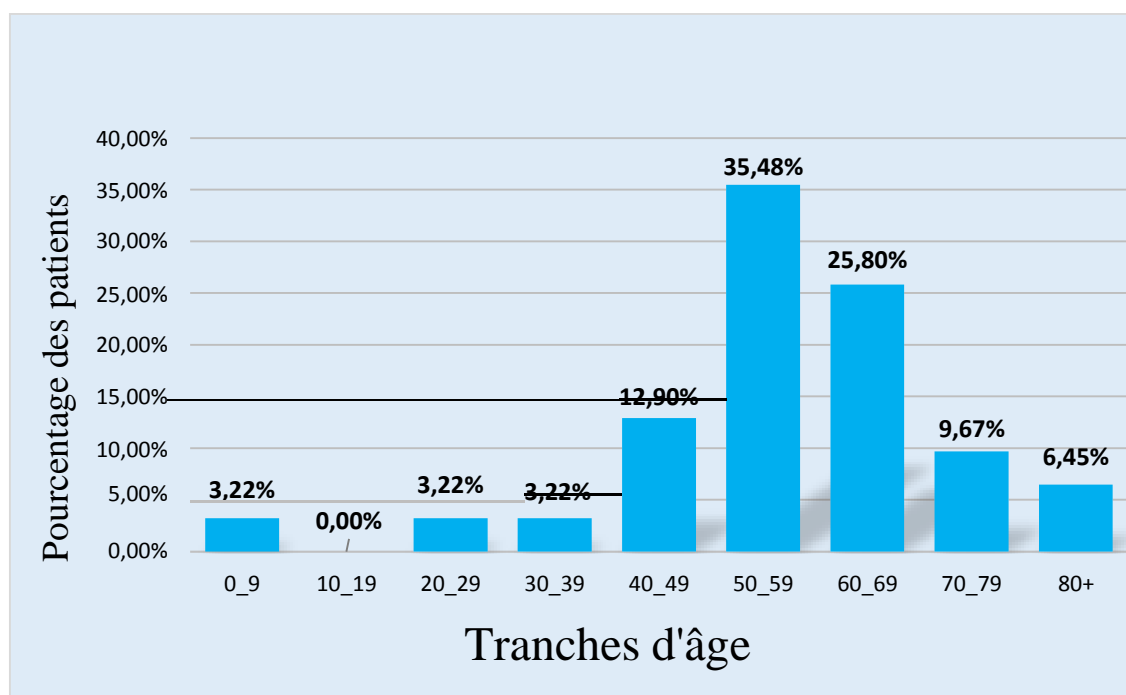


Figure 19 : Distribution des patients positifs en IgG anti-VHE en fonction de l’âge.

➤ L’analyse de la figure ci-dessus montre que :

La tranche d’âge la plus touchée pour les deux sexes est la tranche [50-59] avec une fréquence de 35.48% suivie par la tranche d’âge [60-69] avec une fréquence de 25.80%.

En troisième position c'est la classe [40-49] ans avec une fréquence de **12,90%** suivi respectivement des tranches d'âge [70-79] et au-delà de 80ans avec des fréquences de **9,67%** et **6,45%**, enfin les classe des]0-9], [20-29] et [30-39] ans avec la même fréquence (**3,22%**). Alors que la tranche [10-19] ne marque aucun patient IgG positif (**Figure 19**)

❖ **Les patients positifs en IgM :**

Tableau 5 : Distribution des patients positifs en IgM anti-VHE en fonction de l'âge.

Tranches d'âge	Homme	Femme	Total
[10-19]	1	0	1
[50-59]	1	1	2
[60-69]	1	1	2
[70-79]	2	0	2
Total	5	2	7

Le tableau montre que les patients positifs en IgM sont répartis comme suit :

- 6 patients positifs sont divisés également entre les trois tranches d'âges [50-59], [60-69] et [70-79].
- 1 patient âgé entre 10 et 19 ans (le patient qui présente des IgM sans IgG)

III.1.6. Résultats moléculaire :

- ✓ Tous les 7 patients qui étaient positifs en IgM et les 3 patients immunodéprimées sont négatifs en PCR

2. Discussion :

Cette étude a portée sur une population de 172 patients atteints d'hépatite aiguë (non a non b non c), une prédominance féminine est notée avec un sex-ratio de 0,73 (99 femmes et 73 hommes) (**Figure 15**).

Dans une étude réalisée par Korsman et son équipe en Afrique du sud (2011) portant sur l'hépatite E chez des patients atteints d'hépatite aiguë, un sex-ratio de 0,84 (89 femmes et 75 hommes) est rapporté (**Korsman et al., 2019**).

Haagsman et son équipe comptent 264 patients avec un sex-ratio H/F de 0.87 dans leur étude en Hongrie (2007) intitulée Séroépidémiologie du virus de l'hépatite E chez les patients avec l'hépatite non-A, non-B, non-C (**Haagsman et al., 2007**).

Dans une autre étude au Brésil sur l'infection par le virus de l'hépatite E chez les patients atteints d'hépatite aiguë, Freitas et son équipe confirment la surreprésentation des femmes de 56.5% sur 379 patients (**Freitas et al., 2016**).

A l'inverse dans une étude similaire, réalisée en France, à l'hôpital du Mans en 2016 portant sur 299 patients, une légère prédominance masculine est notée avec un sex-ratio de 1.06 (145 femmes et 154 hommes) (**Mingam et al., 2016**).

Al Absi et son équipe retrouvent 61% d'homme sur 259 patients en 2021 dans leur recherche sur la prévalence du VHE parmi les hépatites non-A, B, C au Qatar (**Al Absi et al., 2021**).

L'âge moyen de nos patients est de 47 ans les classes les plus représentées sont ; la classe 50-59 suivie de la classe 40-49. La fréquence des hépatites non A, non B et non C augmente avec l'âge. L'ensemble de ces données est illustré dans (**Figure 16**).

Des moyennes d'âge différentes ont été retrouvées dans les études citées précédemment ; 50ans en France (**Mingam et al., 2016**), 36 Brésil (**Freitas et al., 2016**), et 34 ans en Afrique du sud (**Korsman et al., 2019**).

Dans notre étude le diagnostic repose sur la détection sérologique des anticorps anti-VHE dans le sang par la technique immuno-enzymatique ELISA (IgM/IgG) qui retrouve une sérologie VHE positive chez 32 patients sur 172. La séroprévalence globale est donc de 18,60%.

Parmi nos patients, trois sont des immunodéprimés, deux sont sous immunosuppresseurs, le troisième est hémodialysé, chez ces patients les sérologies sont revenues négatives et le diagnostic a été complété par la recherche de l'ARN viral.

La séroprévalence globale dans les 3 études citées précédemment est de 29,54% en Afrique du sud (**Korsman et al., 2019**), 17% au Qatar (**Al Absi et al., 2021**) et 26,08% en France (**Mingam et al., 2016**).

L.lahlou et son équipe rapportent une séroprévalence de 12% au Maroc dans leur étude sur la séroprévalence des anticorps anti hépatite E portant sur 449 patients d'un hôpital militaire en 2014(**Lahlou et al., 2014**).

Dans notre échantillon la sérologie IgG est retrouvée positive chez 31 patients, portant la séroprévalence IgG à 18,02 %. La présence d'IgG anti-VHE sans IgM chez ces patients reflète une infection passée par le virus de l'hépatite E.

Parmi la population dépistée positive pour les IgG le ratio H/F est de 0,93% et parmi les 31 patients positifs, 6 présentaient de façon concomitante des IgM. Un seul patient présentait des IgM positifs sans IgG. Ainsi chez 4,06 % des 172 patients testés le VHE est probablement la cause de l'hépatite. Sur les 7 patients qui avaient des IgM anti-VHE 4 étaient des hommes.

Au Qatar parmi les 259 patients 8.65% présentaient des IgM anti-VHE (**Al Absi et al., 2021**) et 32.1% des IgG anti-VHE. La Hongrie rapporte un taux d'IgM positives de 1.9% soit 5 patients et 10.6% pour les d'IgG soit 28 patients sur un total de 264 (**Haagsman et al., 2007**). Le Brésil retrouve des IgM anti-VHE chez 0.3% des patients et des IgG chez 5.3% sur un total de 379 patients et enfin l'Egypte rapporte un résultat de 25 patients positifs en IgM et 13 patients en IgG sur 30 patients positifs aux marqueurs du VHE soit 10% d'une population de 300 patients (**Sayed et al., 2021**).

Une prédominance masculine est également rapportée dans l'étude faite en France à l'hôpital du Mans, qui a démontré que sur une séroprévalence d'IgG de 26% le ratio H/F était de 1.2 de même sur 11 patients positifs en IgM 7 étaient des hommes (**Mingam et al., 2016**).

De même Elisabeth Couturier rapportent dans leur étude sur la surveillance de l'hépatite E entre 2002 et 2016 que parmi 4 706 patients positifs en sérologie VHE, 60% étaient des hommes (**Elisabeth, 2018**).

En 2012 Houcine et son équipe, confirment la surreprésentation masculine avec 81.7% pour une séroprévalence des IgG anti-VHE et de 50.9% IgM dans sa recherche sur la prévalence de l'hépatite E en Tunisie (**Houcine et al., 2012**).

Parmi 30 patients atteints d'hépatite E Egypte, 16 étaient des hommes (53%) et 14 étaient des femmes (47%) (**Sayed et al., 2021**).

Malgré des différences dans les tailles des échantillons, la même tendance à l'augmentation de la séroprévalence des IgM et IgG avec l'âge, est retrouvée, une augmentation significative chez les patients > 30 ans, peut être observée.

En Tunisie, la séroprévalence de l'hépatite E augmente avec l'âge, passant de 2,2 % chez les patients de moins de 30 ans à 8,0 % chez les patients de plus de 30 ans (**Houcine et al., 2012**).

Au Qatar les IgG augmentent avec l'âge plus de 50% chez les patients de >55 ans et 28.9% chez les moins de 24 ans (**Al Absi et al., 2021**).

La prévalence des IgG anti-VHE selon l'âge montre une augmentation de zéro pour les personnes de moins de 30 ans à 11,6 % pour les personnes de plus de 59 ans Hongrie (**Haagsman et al., 2007**).

De même en Afrique du sud une augmentation significative chez les patients > 30 ans (**Korsman et al., 2019**).

Il a été constaté que la prévalence des anticorps IgM anti-VHE augmentait avec l'âge, et qu'elle était plus importante chez les hommes que chez les femmes.

Les résultats trouvés sur la présence d'IgG anti-VHE indiquent que le virus circule dans la population algérienne. Malheureusement l'hépatite E est très peu recherchée.

Aucun des 7 patients qui étaient IgM positifs et des 3 immunodéprimés n'avaient d'ARN viral en effet les résultats des PCR sont revenus négatifs.

Des résultats similaires ont été rapportés dans les études citées précédemment en Afrique du sud (**Korsman et al., 2019**), la Hongrie (**Haagsman et al., 2007**), et le Brésil (**Freitas et al., 2016**).

D'autres études ont retrouvé des résultats positifs en PCR, en Italie de l'ARN viral a été retrouvé chez 21 patients testés positifs en sérologie IgM et IgG (**Candido et al., 2012**).

Aussi En Egypte 50% des patients positifs en sérologie présentaient un ARN viral positif (15 patients/ 30) (**Sayed et al., 2021**).

Le Qatar rapporte également une PCR positive chez 31% des patients (**Al Absi et al., 2021**).

L'absence d'ARN viral chez les patients ayant une sérologie IgM positive peut s'expliquer par le fait que la virémie en cas d'infection VHE est de très courte durée et que

le VHE disparaît de la circulation sanguine deux à trois semaines après l'apparition des symptômes et l'apparition des anticorps. Ces patients pourraient être dans une phase de convalescence précoce, où l'ARN a disparu ou présent à un faible niveau dans leur sérum, cependant l'ARN du VHE est détecté plus longtemps dans les selles que dans le sang pendant la phase aiguë, les échantillons fécaux pourraient constituer un échantillon précieux dans le diagnostic de l'hépatite aiguë.

Sur les 7 positifs en sérologie VHE, un patient avait uniquement des IgM anti-VHE sans IgG et pas d'ARN VHE, chez ce patient le résultat de la sérologie IgM est probablement un faux positif et devra être confirmé par une autre technique.

Chez les 6 patients ayant des anticorps IgM et IgG VHE positifs le virus de l'hépatite E et très probablement la cause de leur hépatite, ces patients ont dû être prélevés tardivement ce qui explique l'absence d'ARN du VHE dans leurs prélèvements.

Conclusions :

L'infection par le VHE est une maladie sous-diagnostiquée qui présente diverses caractéristiques cliniques. Outre l'aspect épidémiologique, la connaissance de la maladie elle-même s'est beaucoup améliorée au cours de ces dernières années.

La présence d'IgG marqueur d'une infection passée chez 18,02 % des patients de notre étude montre que le VHE est responsable de cas sporadiques spontanément résolutifs d'hépatites aiguës en Algérie. L'hépatite E doit donc être prise en compte avec les hépatites A, B et C dans le diagnostic de l'hépatite aiguë.

D'autres études dans la population générale et sur des échantillons plus importants sont nécessaires pour déterminer plus précisément la prévalence de l'infection au VHE, ainsi que les caractéristiques épidémiologiques de cette infection en Algérie.

Références bibliographiques

- **Abravanel, Sébastien Lhomme, Jacques Izopet**, 2019. Virus de l'hépatite E (VHE), in : Hépatites Virales.
- **Abravanel, F., Chapuy-Regaud, S., Lhomme, S., Miedougé, M., Peron, J.-M., Alric, L., Rostaing, L., Kamar, N., Izopet, J.**, 2013. Performance of anti-HEV assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. *J Clin Virol* 58, 624–628.
- **Al Absi, E.S., Al-Sadeq, D.W., Khalili, M., Younes, N., Al-Dewik, N., Abdelghany, S.K., Abouzid, S.S., Al Thani, A.A., Yassine, H.M., Coyle, P.V., Nasrallah, G.K.**, 2021. The prevalence of HEV among non-A-C hepatitis in Qatar and efficiency of serological markers for the diagnosis of hepatitis E. *BMC Gastroenterology* 21, 266.
- **Aslan, A.T., Balaban, H.Y.**, 2020. Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. *World J Gastroenterol* 26, 5543–5560.
- **Balayart MS., Andjaparidze AG., Savinskaya SS., Ketiladze ES., Braginsky DM., Savinov AP., Poleschuk V.** (1983). Evidence for a Virus in Non-A, Non-B Hepatitis Transmitted via the Faecal-Oral Route. *Intervirolology*, **20**: 23-31.
- **Barnaud, E., Rogée, S., Garry, P., Rose, N., Pavio, N.**, 2012. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Appl Environ Microbiol* 78, 5153–5159.
- **Basit, H., Tyagi, I., Koirala, J.**, 2022. Hepatitis C, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- **Buisson, Y., Coursaget, P., Van Cuyck-Gandre, H.**, 1994. Le diagnostic des hépatites virales transmises par voie féco-orale. *Médecine et Maladies Infectieuses* 24, 604–609.
- **Candido, A., Taffon, S., Chionne, P., Pisani, G., Madonna, E., Dettori, S., Hamza, A., Valdarchi, C., Bruni, R., Ciccaglione, A.R.**, 2012. Diagnosis of HEV infection by serological and real-time PCR assays: a study on acute non-A-C hepatitis collected from 2004 to 2010 in Italy. *BMC Res Notes* 5, 297.
- **Cao, D., Huang, Y.-W., Meng, X.-J.**, 2010. The nucleotides on the stem-loop RNA structure in the junction region of the hepatitis E virus genome are critical for virus replication. *J Virol* 84, 13040–13044.

Références bibliographiques

- **Chandra, V., Taneja, S., Kalia, M., Jameel, S.,** 2008. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *J Biosci* 33, 451–464.
- **Chapuy-Regaud, S., Dubois, M., Plisson-Chastang, C., Bonnefois, T., Lhomme, S., Bertrand-Michel, J., You, B., Simoneau, S., Gleizes, P.-E., Flan, B., Abravanel, F., Izopet, J.,** 2017. Characterization of the lipid envelope of exosome encapsulated HEV particles protected from the immune response. *Biochimie* 141, 70–79.
- **Dalton, H.R., Izopet, J.,** 2018. Transmission and Epidemiology of Hepatitis E Virus Genotype 3 and 4 Infections. *Cold Spring Harb Perspect Med* 8, a032144.
- **Elisabeth, C.,** 2018. SURVEILLANCE DE L'HÉPATITE E EN FRANCE, 2002-2016 / HEPATITIS E SURVEILLANCE IN FRANCE, 2002-2016 9.
- **Emerson, S.U., Zhang, M., Meng, X.-J., Nguyen, H., St. Claire, M., Govindarajan, S., Huang, Y.K., Purcell, R.H.,** 2001. Recombinant hepatitis E virus genomes infectious for primates: Importance of capping and discovery of a cis-reactive element. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 15270–15275.
- **Feagins, A.R., Opriessnig, T., Guenette, D.K., Halbur, P.G., Meng, X.J.,** 2008. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol* 123, 32–37.
- **Freitas, N.R. de, Santana, E.B.R. de, Silva, Á.M. da C. e, Silva, S.M. da, Teles, S.A., Gardinali, N.R., Pinto, M.A., Martins, R.M.B.,** 2016. Hepatitis E virus infection in patients with acute non-A, non-B, non-C hepatitis in Central Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 111, 692–696. 6
- **Ghabrah, T.M., Stickland, G.T., Tsarev, S., Yarbough, P., Farci, P., Engle, R., Emerson, S., Purcell, R.,** 1995. Acute viral hepatitis in Saudi Arabia: seroepidemiological analysis, risk factors, clinical manifestations, and evidence for a sixth hepatitis agent. *Clin Infect Dis* 21, 621–627.
- **González, M.M., Sanabria, L.P., Castaño-Osorio, J.C.,** 2022. Hepatitis E Virus: A review of the current status and perspectives. *Infectio* 26, 181–188.

Références bibliographiques

- **Graff, J., Torian, U., Nguyen, H., Emerson, S.U.,** 2006. A Bicistronic Subgenomic mRNA Encodes both the ORF2 and ORF3 Proteins of Hepatitis E Virus. *J Virol* 80, 5919–5926.
- **Haagsman, A., Reuter, G., Duizer, E., Nagy, G., Herremans, T., Koopmans, M., Szücs, G.,** 2007. Seroepidemiology of hepatitis E virus in patients with non-A, non-B, non-C hepatitis in Hungary. *J. Med. Virol.* 79, 927–930.
- **Haque, F., Banu, S.S., Ara, K., Chowdhury, I.A., Chowdhury, S.A., Kamili, S., Rahman, M., Luby, S.P.,** 2015. An outbreak of hepatitis E in an urban area of Bangladesh. *J Viral Hepat* 22, 948–956.
- **Haute Autorité de santé,** 2017. 120.
- **Himmelsbach, K., Bender, D., Hildt, E.,** 2018. Life cycle and morphogenesis of the hepatitis E virus. *Emerging Microbes & Infections* 7.
- **Houcine, N., Jacques, R., Salma, F., Anne-Gaëlle, D., Amin, S., Mohsen, H., Hamadi, B., Christophe, R., Patrice, A., Mahjoub, A., Caroline, S.,** 2012. Seroprevalence of hepatitis E virus infection in rural and urban populations, Tunisia. *Clinical Microbiology and Infection* 18, E119–E121.
- **Huang, F.F., Sun, Z.F., Emerson, S.U., Purcell, R.H., Shivaprasad, H.L., Pierson, F.W., Toth, T.E., Meng, X.J.,** 2004. Determination and analysis of the complete genomic sequence of avian hepatitis E virus (avian HEV) and attempts to infect rhesus monkeys with avian HEV. *J Gen Virol* 85, 1609–1618.
- **Huang, S., Zhang, X., Jiang, H., Yan, Q., Ai, X., Wang, Y., Cai, J., Jiang, L., Wu, T., Wang, Z., Guan, L., Shih, J.W.K., Ng, M.-H., Zhu, F., Zhang, J., Xia, N.,** 2010. Profile of acute infectious markers in sporadic hepatitis E. *PLoS One* 5, e13560.
- **Huang, Y.W., Opriessnig, T., Halbur, P.G., Meng, X.J.,** 2007. Initiation at the third in-frame AUG codon of open reading frame 3 of the hepatitis E virus is essential for viral infectivity in vivo. *J Virol* 81, 3018–3026.

Références bibliographiques

- **Jothikumar, N., Cromeans, T.L., Robertson, B.H., Meng, X.J., Hill, V.R.,** 2006. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J Virol Methods* 131, 65–71.
- **Kamar, N., Izopet, J., Pavio, N., Aggarwal, R., Labrique, A., Wedemeyer, H., Dalton, H.R.,** 2017. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 3, 17086.
- **Kamar, N., Rostaing, L., Legrand-Abravanel, F., Izopet, J.,** 2013. How should hepatitis E virus infection be defined in organ-transplant recipients? *Am J Transplant* 13, 1935–1936.
- **Kannan, H., Fan, S., Patel, D., Bossis, I., Zhang, Y.-J.,** 2009. The hepatitis E virus open reading frame 3 product interacts with microtubules and interferes with their dynamics. *J Virol* 83, 6375–6382.
- **Kenney, S.P., Meng, X.-J.,** 2019. Hepatitis E Virus Genome Structure and Replication Strategy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 9, a031724.
- **Khuroo, Mohammad S, Khuroo, Mehnaaz S, Khuroo, N.S.,** 2016. Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure. *World J Gastroenterol* 22, 7030–7045.
- **Khuroo, M.S.,** 2011. Discovery of hepatitis E: The epidemic non-A, non-B hepatitis 30 years down the memory lane. *Virus Research, Hepatitis E Viruses* 161, 3–14.
- **Khuroo, M.S.,** 1980. Study of an epidemic of non-A, non-B hepatitis. Possibility of another human hepatitis virus distinct from post-transfusion non-A, non-B type. *Am J Med* 68, 818–824.
- **Khuroo, M.S., Kamili, S., Khuroo, M.S.,** 2009. Clinical course and duration of viremia in vertically transmitted hepatitis E virus (HEV) infection in babies born to HEV-infected mothers. *J Viral Hepat* 16, 519–523.
- **Knipe DM., Howley PM., Cohen JL., Griffin DE., Lamb RA., Martin MA., Racaniello VR., Roizman B.** (2013). Hepatitis e Virus, in: *Fields Virology book*. Suzanne U. Emerson and Robert H. Purcell, USA., 2242–2258.

Références bibliographiques

- **Koenig, K.L., Shastry, S., Burns, M.J.**, 2017. Hepatitis A Virus: Essential Knowledge and a Novel Identify-Isolate-Inform Tool for Frontline Healthcare Providers. *West J Emerg Med* 18, 1000–1007.
- **Korsman, S., Hardie, D., Kaba, M.**, 2019. Hepatitis E virus in patients with acute hepatitis in Cape Town, South Africa, 2011. *S Afr Med J* 109, 582.
- **Lahlou, L., Bouaiti, E., Sbai, K., Kessouati, J., Razine, R., Mrabet, M.**, 2014. Séroprévalence des anticorps anti-hépatite virale E (HVE) à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat, Maroc. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique* 62, S232.
- **Lee, G.-H., Tan, B.-H., Teo, E.C.-Y., Lim, S.-G., Dan, Y.-Y., Wee, A., Aw, P.P.K., Zhu, Y., Hibberd, M.L., Tan, C.-K., Purdy, M.A., Teo, C.-G.**, 2016. Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Liver Transplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk. *Gastroenterology* 150, 355-357.e3.
- **Les virus des hépatites** [WWW Document], n.d. URL <http://www.microbes-edu.org/etudiant/hepatites.html> (accessed 6.14.22).
- **Lin, S., Zhang, Y.-J.**, 2021. Advances in Hepatitis E Virus Biology and Pathogenesis. *Viruses* 13, 267.
- **Masood, U., John, S.**, 2022. Hepatitis D, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- **Meng, X.J.**, 2010. Recent advances in Hepatitis E virus. *J Viral Hepat* 17, 153–161.
- **Mingam, A., Cussac, V., Kaabar, M., Pineau-Vincent, F.**, 2016. E hepatitis seroprevalence in a population of patients with transaminases increased at Le Mans' hospital (France). *Annales de biologie clinique* 74, 366–368.
- **Nagashima, S., Takahashi, M., Kobayashi, T., Tanggis, Nishizawa, T., Nishiyama, T., Primadharsini, P.P., Okamoto, H.**, 2017. Characterization of the Quasi-Enveloped Hepatitis E Virus Particles Released by the Cellular Exosomal Pathway. *J Virol* 91, e00822-17.

Références bibliographiques

- **Nair, V.P., Anang, S., Subramani, C., Madhvi, A., Bakshi, K., Srivastava, A., Shalimar, null, Nayak, B., Ranjith Kumar, C.T., Surjit, M., 2016.** Endoplasmic Reticulum Stress Induced Synthesis of a Novel Viral Factor Mediates Efficient Replication of Genotype-1 Hepatitis E Virus. *PLoS Pathog* 12, e1005521.
- **Nelson, K.E., Kmush, B., Labrique, A.B., 2011.** The epidemiology of hepatitis E virus infections in developed countries and among immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther* 9, 1133–1148.
- **Pal, R., Aggarwal, R., Naik, S.R., Das, V., Das, S., Naik, S., 2005.** Immunological alterations in pregnant women with acute hepatitis E. *J Gastroenterol Hepatol* 20, 1094–1101.
- **Parlati, L., Sogni, P., Mallet, V., 2017.** Hépatite E : diagnostic, histoire naturelle et manifestations cliniques 4.
- **Pérez-Gracia, M.T., Suay, B., Mateos-Lindemann, M.L., 2014.** Hepatitis E: an emerging disease. *Infect Genet Evol* 22, 40–59.
- **Purdy, M.A., Harrison, T.J., Jameel, S., Meng, X.-J., Okamoto, H., Van der Poel, W.H.M., Smith, D.B., Ictv Report Consortium, null, 2017.** ICTV Virus Taxonomy Profile: Hepeviridae. *J Gen Virol* 98, 2645–2646.
- **Reyes, G.R., Huang, C.C., Tam, A.W., Purdy, M.A., 1993.** Molecular organization and replication of hepatitis E virus (HEV). *Arch Virol Suppl* 7, 15–25.
- **Said, B., Ijaz, S., Kafatos, G., Booth, L., Thomas, H.L., Walsh, A., Ramsay, M., Morgan, D., 2009.** Hepatitis E Outbreak on Cruise Ship. *Emerg Infect Dis* 15, 1738–1744.
- **Sayed, I.M., El-Mokhtar, M.A., Mahmoud, M.A.R., Elkhawaga, A.A., Gaber, S., Seddek, N.H., Abdel-Wahid, L., Ashmawy, A.M., Alkareemy, E.A.R., 2021.** Clinical Outcomes and Prevalence of Hepatitis E Virus (HEV) Among Non-A-C Hepatitis Patients in Egypt. *IDR Volume* 14, 59–69.

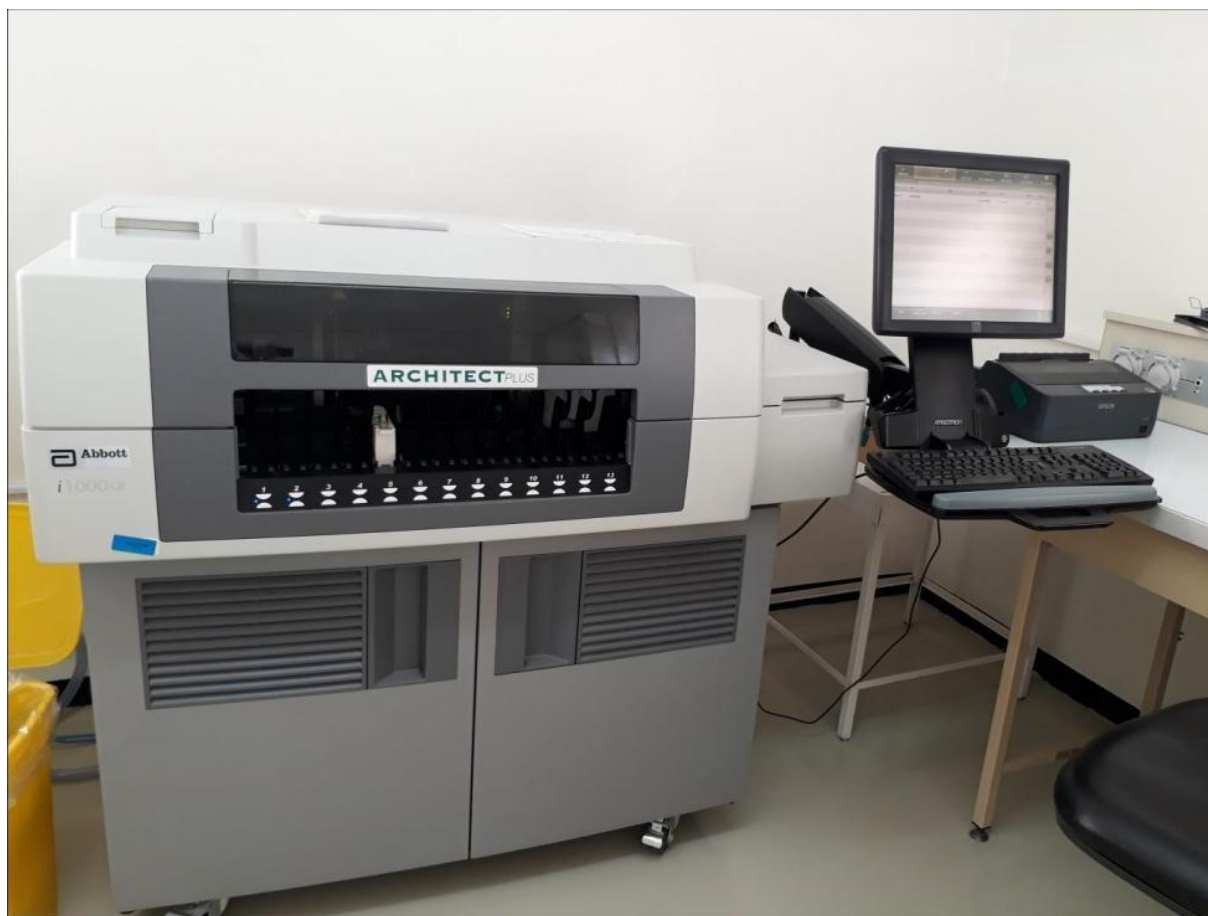
Références bibliographiques

- **Schielke, A., Ibrahim, V., Czogiel, I., Faber, M., Schrader, C., Dremsek, P., Ulrich, R.G., Johne, R.**, 2015. Hepatitis E virus antibody prevalence in hunters from a district in Central Germany, 2013: a cross-sectional study providing evidence for the benefit of protective gloves during disembowelling of wild boars. *BMC Infect Dis* 15, 440.
- **Smith, D.B., Simmonds, P.**, Members Of The International Committee On The Taxonomy Of Viruses Study Group, null, Jameel, S., Emerson, S.U., Harrison, T.J., Meng, X.-J., Okamoto, H., Van der Poel, W.H.M., Purdy, M.A., 2014. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J Gen Virol* 95, 2223–2232.
- **Sridhar, S., Teng, J.L.L., Chiu, T.-H., Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y.**, 2017. Hepatitis E Virus Genotypes and Evolution: Emergence of Camel Hepatitis E Variants. *International Journal of Molecular Sciences* 18, 869.
- **Surjit, M., Jameel, S., Lal, S.K.**, 2004. The ORF2 protein of hepatitis E virus binds the 5' region of viral RNA. *J Virol* 78, 320–328.
- **Takahashi, M., Yamada, K., Hoshino, Y., Takahashi, H., Ichiyama, K., Tanaka, T., Okamoto, H.**, 2008. Monoclonal antibodies raised against the ORF3 protein of hepatitis E virus (HEV) can capture HEV particles in culture supernatant and serum but not those in feces. *Arch Virol* 153, 1703–1713.
- **Thakur, V., Ratho, R.K., Kumar, S., Saxena, S.K., Bora, I., Thakur, P.**, 2020. Viral Hepatitis E and Chronicity: A Growing Public Health Concern. *Frontiers in Microbiology* 11.
- **Talapko, J., Meštrović, T., Pustijanac, E., Škrlec, I.**, 2021. Towards the Improved Accuracy of Hepatitis E Diagnosis in Vulnerable and Target Groups: A Global Perspective on the Current State of Knowledge and the Implications for Practice. *Healthcare (Basel)* 9, 133.
- **Tripathi, N., Mousa, O.Y.**, 2022. Hepatitis B, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- **Tsarev, S.A., Emerson, S.U., Reyes, G.R., Tsareva, T.S., Legters, L.J., Malik, I.A., Iqbal, M., Purcell, R.H.**, 1992. Characterization of a prototype strain of hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 559–563.

Références bibliographiques

- **Webb, G.W., Dalton, H.R.**, 2019. Hepatitis E: an underestimated emerging threat. *Ther Adv Infect Dis* 6, 2049936119837162.
- **WHO** [WWW Document], 2022. . WHO. URL <https://www.who.int/fr> (accessed 6.28.22).
- **Williams, T.P., Kasorndorkbua, C., Halbur, P.G., Haqshenas, G., Guenette, D.K., Toth, T.E., Meng, X.J.**, 2001. Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *J Clin Microbiol* 39, 3040–3046.
- **Zarrin, A., Akhondi, H.**, 2022. Viral Hepatitis, StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- **Zhang, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U.**, 2001. Identification of the 5' terminal sequence of the SAR-55 and MEX-14 strains of hepatitis E virus and confirmation that the genome is capped. *J Med Virol* 65, 293–295.

Annexe I: Automate ARCHITECT i1000SR Abbott



Automate ARCHITECT i1000SR Abbott

Annexe II : Appareillage utilisé en ELISA



Vortex



Laveur automatique



Incubateur



Spectrophotomètre



Imprimante

Annexe III : Coffret EUROIMMUN ELISA HEV



Annexe IV : Coffret AID HBsAg ELISA (WANTAI)



Annexe V : Présentation des appareils de la PCR en temps réel



L'extracteur de l'acide nucléique NEOS-96 XT



Amplificateur de l'acide nucléique COBAS Z480