**GENERALITES:**

**Le virus de l’hépatite B est un enjeu crucial de santé publique. Malgré l’existence d’un vaccin sûr et efficace (WHO 2020; Pattyn et al. 2021), plus de 292 millions de personnes dans le monde sont infectées de façon chronique par ce virus. Les traitements disponibles actuellement sont les monothérapies par pegInterféron-alpha ou par analogue de nucléosides (Taverniti et al. 2022). Cependant, ces traitements ne sont pas satisfaisants puisqu’ils permettent uniquement de contrôler l’infection, mais pas d’en guérir et doivent être pris à vie le plus souvent. Il est donc nécessaire de développer de nouveaux médicaments. Le virus de l’hépatite B est un virus enveloppé avec une nucléocapside icosaédrique contenant le génome viral. La réplication du génome viral est extrêmement complexe et implique plusieurs compartiments cellulaires différents. Durant son cycle viral, un des ARN messagers du virus de l’hépatite B appelé ARN pré-génomique, va être encapsidé au sein de nucléocapsides. La capside joue donc un rôle essentiel dans le cycle viral du virus de l’hépatite B et le constituant de cette capside est la protéine Core. C’est une protéine dimérique de 183 (ou 185 selon les souches) acides aminés composée de deux domaines. Les 149 résidus N-terminaux forment un domaine pouvant s’autoassembler, in vivo et in vitro en capsides icosaédriques T = 4 (120 dimères). Les 34 (ou 36) résidus restants forment un domaine intrinsèquement désordonné appelé le domaine C-terminal. Ce domaine interagit avec l’ARN prégénomique et est nécessaire pour son encapsidation (Zlotnick et al. 2015; Venkatakrishnan et Zlotnick 2016; Nassal 1992). Parmi les nouvelles molécules développées pour traiter l’hépatite B, les modulateurs d’assemblage sont des molécules dirigées spécifiquement contre la protéine Core (Taverniti et al. 2022). Ces molécules se lient à l’interface entre les dimères de Core et perturbent ainsi l’assemblage en capside. Selon leur mode d’action, deux classes de modulateurs ont été définies : • Les molécules de la classe A (pour Aberrant) qui favorisent la formation des très grosses structures non capsidiques et pléiomorphes. 2 • Les molécules de la classe E (pour Empty) qui promeuvent l’assemblage de capsides indistinguables des capsides normales en microscopie électronique à coloration négative, mais ne contenant pas d’ARN prégénomique. De nombreuses études (Katen et al. 2013; Venkatakrishnan et al. 2016; Bourne et al. 2008) sur l’effet des modulateurs d’assemblage ont été réalisées in vitro afin de définir leurs mécanismes d’action, et leurs effets sur la capside du virus de l’hépatite B. Une très grande partie des données structurales, ont été obtenues à l’équilibre, dans des conditions où les capsides sont d’abord assemblées avant l’ajout des modulateurs. Cependant, les effets cinétiques et structuraux des modulateurs lors de l’assemblage de la capside n’ont pas encore été étudiés. Ce projet de thèse avait donc pour but d’étudier par des méthodes biophysiques et structurales, les voies d’assemblage de la capside du virus de l’hépatite B et l’impact des modulateurs d’assemblage sur ces processus. Pour cela, trois capsides recombinantes de Core, la Cp149, la Cp183 et la Cp183-EEE ainsi que l’ARN (acide ribonucléique) prégénomique ont été produits et purifiés. Puis les capsides ont été désassemblées, et les dimères dissociés et purifiés. Ensuite, les expériences d’assemblage des capsides avec ou sans modulateurs d’assemblage et/ou sans ARN ont été réalisées. Enfin, les analyses structurales et de la cinétique d’assemblage de ces capsides ont été effectuées. Je voulais ainsi caractériser à haute résolution spatiotemporelle les chemins cinétiques d’assemblage et l’influence des modulateurs d’assemblage sur la cinétique mais également sur la structure des capsides formées. Cette étude repose principalement sur deux méthodes : la diffusion des rayons X aux petits angles, statique et résolue en temps (Time-Resolved Small-Angle X-Ray Scattering, TR-SAXS) et la cryomicroscopie électronique en transmission. Cette thèse sera organisée comme suit. Dans le deuxième chapitre, je ferai une revue de la littérature concernant le virus de l’hépatite B, le processus d’autoassemblage de sa capside ainsi que sur les modulateurs d’assemblage. Le troisième chapitre sera consacré aux principes des méthodes biochimiques, biophysiques et structurales utilisées durant cette thèse. Ensuite, le chapitre 4 exposera les résultats de notre étude concernant les effets des modulateurs d’assemblage sur la capside du virus de l’hépatite B formée à partir de dimères de la protéine Cp149. Cette protéine contient uniquement le domaine d’autoassemblage de la protéine Core. S’en suivra le chapitre 3 5, dédié à notre étude de l’assemblage de la protéine Core entière en présence d’ARN prégénomique et de modulateurs d’assemblage. Enfin, dans le chapitre 6, une discussion sur les résultats et la conclusion générale seront présentées.**

**Découverte du virus de l’hépatite B**

**L'histoire de l'infection par le VHB chez l'Homme remonte probablement à au moins 4500 ans avant Jésus-Christ (Mühlemann et al. 2018). Cependant, ce n'est qu'en 1885 que la première épidémie d’hépatite B a été observée (Lurman A 1885). En 1965, une équipe dirigée par le professeur Blumberg a découvert un premier antigène chez un patient australien (Blumberg et al. 1967). À l'origine, cet antigène a été associé à la leucémie, mais en 1968, les premiers liens entre l'hépatite B et cet antigène ont été établis par Prince et son équipe (Prince 1968). Deux ans plus tard, en 1970, la morphologie du virus de l'hépatite B a pu être observée par microscopie électronique grâce aux travaux de l'équipe du professeur Dane (Dane, Cameron, et Briggs 1970). C'est d'ailleurs pour cette raison que les particules du VHB sont nommées « particules de Dane ». Enfin, en 1979, la séquence complète du virus de l'hépatite B a été publiée (Galibert et al. 1979) ; s’ensuit l’expérimentation des premiers vaccins l’année suivante (1980). 2.2 Génotypes et sérotypes L’hépatite B est causée par le virus du même nom. Selon la classification de Baltimore, le VHB appartient au groupe 7, le groupe des virus à ADN double brin, qui se répliquent grâce à un intermédiaire ARN. Ce virus appartient à la famille des Hepadnaviridae qui se divise en plusieurs genres selon la catégorie d’animaux infectés par ce virus. Parmi ces genres, on retrouve les Orthohepadnavirus qui infectent spécifiquement les mammifères, y compris les humains et les chimpanzés. Ce genre est composé de virus enveloppés avec des capsides icosaédriques (Rajoriya et al. 2017). L’hépatite B peut être classée selon dix génotypes allant de A à J (Figure 2.5), chacun composé de sous-génotypes (Ho, Jeevan-Raj, et Netter 2020). Les différences présentes dans ces séquences nucléotidiques atteignent au moins 8 % entre les génotypes. Il existe 40 sous génotypes, avec des différences de 4 à 8 % dans les séquences nucléotidiques (Tong et Revill 2016; Rajoriya et al. 2017)**

**Parmi les 10 génotypes, 5 contribuent à environ 97 % des infections chroniques de l'hépatite B. Les génotypes A, B, C, D, et E représentent respectivement 17 %, 14 %, 26 %, 22 % et 18 % de ces infections. La distribution des génotypes du VHB varie en fonction de la population géographique et ethnique. Le génotype A est fréquent en Amérique du Nord, Europe et Afrique. Les génotypes B et C sont fréquents en Asie de l'Est. Le génotype D quant à lui, prédomine en Europe du Sud, au Moyen-Orient et en Inde. Enfin le génotype E est principalement présent en Afrique subsaharienne (Locarnini et al. 2013; Tong et Revill 2016; Rajoriya et al. 2017). Ces variations influencent non seulement la gravité des maladies et leurs symptômes, mais également l'efficacité des traitements. En outre, le VHB peut être classé en 4 principaux groupes de sérotypes (Figure 2.5) : adw, adr, ayw et ayr. Ces sérotypes permettent de distinguer les variants de la protéine S (cette protéine sera décrite dans la partie 4 de ce chapitre) tel que précisé ci-après : • Le sous-type d correspond au variant K122, • Le sous-type y correspond au variant R122, 13 • Le sous-type w correspond au variant K160 et, • Le sous-type r correspond au variant R160. Bien qu'il existe une corrélation entre les sérotypes et les génotypes du VHB, les variations de sérotypes sont faibles et ne reflètent pas la distribution du VHB dans la classification géographique et épidémiologique, ainsi que dans les génotypes. Par conséquent, les génotypes plutôt que les sérotypes sont de plus en plus utilisés dans les études épidémiologiques du VHB (Locarnini et Bowden 2012; Rajoriya et al. 2017).**

**Prévalence L'hépatite B est une maladie infectieuse largement répandue à travers le monde. Selon les données de l’OMS, on estime qu’en 2019, près de 296 millions de personnes sont touchées par l'hépatite B (WHO 2020). Parmi elles, seulement 10 % avaient été diagnostiquées et 22 % des malades diagnostiqués sont sous traitements.**

**La séroprévalence évalue le pourcentage de personnes dans une population donnée, ayant été exposées à un microorganisme et qui développent des anticorps spécifiques à des niveaux significatifs. La séroprévalence du VHB, évaluée à partir de la présence de l'Antigène HBs, est en moyenne de 3,6 % (Chang et Nguyen 2017). Selon ce critère, l'endémicité de ce virus est classée comme suit : 14 • Faible si elle est inférieure à 2 %, • Faible-intermédiaire entre 2 et 5 %, • Forte-intermédiaire entre 5 et 8 % et, • Elevée au-delà de 8 %. La distribution de l'hépatite B peut être divisée en trois zones (Figure 2.6). Dans les régions d’Europe de l'Ouest et du Nord, en Australie et en Amérique du Nord, la prévalence est faible. En Europe de l'Est, Russie, au Proche-Orient, en Amérique du Sud, ainsi que dans les pays méditerranéens, la prévalence se situe entre 2 et 8 %. Enfin, en Asie du Sud-Est, en Chine et en Afrique subsaharienne, la prévalence dépasse les 8 % (Schweitzer et al. 2015). Dans certains pays d'Afrique, celle-ci peut même atteindre 20 % de la population. Près de la moitié de la population humaine vit dans des zones à forte endémie d’hépatite B et 1/3 de la population mondiale a été ou est en contact avec le virus de l'hépatite B. On estime que pas moins de 2 milliards de personnes ont été infectées par l'hépatite B à un moment donné. Chaque année, ce virus est responsable du décès d’environ 1 million de personnes, principalement en Afrique (Locarnini et al. 2015). Cela fait de l'infection par l'hépatite B, l'une des principales causes de décès chez l'être humain.**

**3.1. Définition:**

L’hépatite B est définie par une inflammation du parenchyme hépatique associée à une nécrose hepatocytaire et parfois une cholestase due à un virus alphabétique B ou virus hepatotrope B (plus ou moins associée au D) **[19**, **20**, **21].**

**3.2 . Epidémiologie:**

**3.2.1. Fréquence :**

L’infection par le virus de l’hépatite B (VHB) constitue un problème de santé majeur en pays tropical du fait de sa fréquence et de ses conséquences. Dans une population donnée, le taux de prévalence de l’antigène HBs (AgHBs) est un indicateur de base.

En France, la prévalence de l’AgHBs chez la femme enceinte varie de 0,54 à 1,56 % **[2]**. Dans cette étude, l'AgHBs était mis en évidence quelle que soit l'origine ethnique, mais la prévalence de l'infection par le VHB était significativement plus élevée chez les femmes immigrées (venant de pays de forte prévalence) que chez les femmes Française.

Une étude a été effectuée chez 2303 femmes enceintes tunisiennes qui ont consulté à la maternité du centre hospitalier universitaire Farhat-Hached de Sousse (centre tunisien) et aux dispensaires régionaux de la ville de Sousse durant la période allant de janvier à août 2007, retrouve une prévalence de l’AgHBs de 4 % **[22]**. Cette prévalence chez les femmes enceintes au Bénin était de 14,02% **[23]**, en Côte-d’Ivoire de 18,2% **[24]**, de 15% au CHN-YO du Burkina-Faso **[25]** et de 2,35% au Centre du Maroc **[26]**.

Une ancienne étude chez les femmes enceintes dans le district de Bamako au Mali avait retrouvé une prévalence de 15,5% **[18]**.

**3.2.2. Facteurs de risque :**

L’infection par le virus de l’hépatite B touche surtout les groupes à risque comme : les homosexuels, les toxicomanes intraveineux, les hémodialysés, les hémophiles, le personnel de santé.

Les principaux modes de transmission du virus de l’hépatite B sont: la voie parentérale, la voie sexuelle, la transmission mère- enfant, la transmission communautaire. La transmission du virus de l’hépatite B est essentiellement parentérale. Une contamination familiale non sexuelle par contact intime ou parentéral a été également observée**[10].**

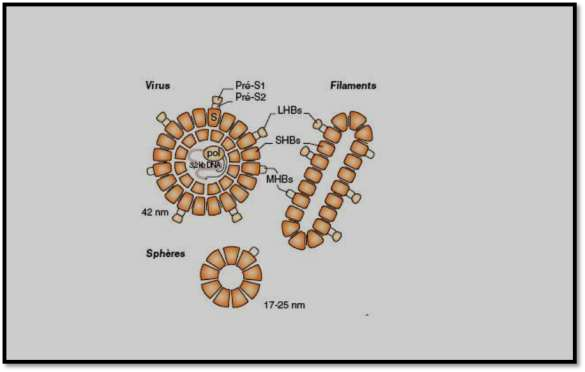
Il existe trois zones d’endémicité :

* Des zones de forte endémicité où le portage d’antigène HBs (Ag HBs) est supérieur à 8% de la population générale tels que l’Afrique intertropicale, la Chine et l’Asie du sud-est **[12** ; **13].**
* Des zones d’endémicité intermédiaire où le portage d’antigène HBs est compris entre 2 à 8% de la population générale tels que les pays du bassin de la Méditerranée.
* Des zones de faible endémicité où le portage d’antigène HBs est inférieur à 2% de la population générale tels que l’Amérique du nord. Dans ces zones, la transmission se fait généralement à l’âge adulte par voie sexuelle ou par le sang. Dans la région hyper-endémique comme l’Asie ou l’Afrique noire, la

transmission du virus a lieu à la naissance ou pendant l’enfance. Lorsque la mère est atteinte d’une infection chronique avec multiplication virale, le risque de transmission au nouveau-né est important (90%). Lorsque le nouveau-né est Infecté, il devient le plus souvent porteur chronique (90%).

Dans les régions de Faible endémicité comme l’Europe ou l’Amérique du Nord, l’infection par le virus de l’hépatite B touche moins de 1% de la population. Les enquêtes faites chez les donneurs de sang au Centre National de Transfusion

Sanguine, indiquent que les porteurs chroniques de l’Antigène HBs représentent environ 5 à 20% de la population générale **[21].**

**3.2.3. Caractéristiques du Virus de l’hépatite B:**

**: Structure du virus de l’hépatite B [27].**

Le virus de l’hépatite B est un virus à ADN, de la famille des hépadnavirus. La forme complète circulante infectieuse du virus de l’hépatite B s’appelle particule de DANE. C’est une particule sphérique de 42 à 47 nanomètres de diamètre. Elle comporte les éléments suivants :

* Une enveloppe lipoprotéique qui comporte l’antigène de surface (Ag HBs) du virus de l’hépatite B. Celui-ci est composé des protéines pré S1 et pré S2.
* Une nucléocapside centrale (core) qui porte les antigènes HBc et HBe. Cette nucléocapside protège le génome d’ADN double brin et d’ADN polymérase, enzyme qui permet la réplication virale.

En plus de la particule de DANE, il y a dans le sérum d’autres types de particules qui sont des formes incomplètes de l’enveloppe. Ce sont des particules qui portent seulement sur l’antigène HBs. Ce sont:

* De petites particules sphériques qui ont environ 16 à 25 nanomètres.
* De formes filamenteuses ou tubules qui ont environ 22 nanomètres de diamètre.

Le génome comporte quatre (4) régions codant pour les protéines qui constituent le virus de l’hépatite B.

* La région S précédée de régions pré S1 et pré S2 : codant pour l’enveloppe antigène HBs de surface (Ag HBs).
* La région C codant pour la capside antigène HBc et Antigène HBe.
* La région P codant pour l’ADN polymérase qui assure la réplication virale. - La région X qui a probablement une action dans la transaction de la réplication du virus de l’hépatite B.
* L'enveloppe extérieure du virus contient des protéines qui protègent la structure virale, et lui permettent de pénétrer dans les cellules cibles. Ces particules ne sont pas infectieuses et sont composées de lipides et de protéines qui font partie de la surface du virion qu’on appelle l'antigène de surface (AgHBs) et qui est produit en excès pendant la durée de vie du virus. La longueur du génome varie selon le sous type du virus de l’hépatite B.

Il existe quatre (4) sous types dont la prévalence varie en fonction des régions. Un déterminant antigénique est commun aux différents sous types. Deux paires de déterminants exclusifs sont associés au déterminant « a » définissant les sous types suivants : adw, adr, ayw, ayr. Les déterminants sont liés à des mutations nucléotidiques d’une région immunologiquement compétente de l’antigène HBs **[10].**

**3.2.4. Évolution naturelle et classification de l’infection par le VHB : [1]**

Le VHB est un virus hepatotrope à ADN appartenant à la famille des Hepadnaviridae. Il présente une variabilité génétique importante avec dix génotypes identifiés (A-J) et de nombreux sous-types, offrant au VHB une capacité d’échappement au traitement antiviral ou à la réponse immunologique de l’hôte. L’infection chronique par le VHB ne se traduit pas par une hépatite B chronique chez tous les patients. Elle est caractérisée par des différentes phases de progression distinctes qui sont le produit d’un processus d’interaction dynamique entre la réplication du virus et la réponse immunitaire du patient. A noter qu’une infection aiguë par l’hépatite B devient chronique dans 90 % des cas chez les nouveau-nés mais se résout spontanément chez 95 % des adultes immunocompétents.

Pour simplifier la compréhension de l’évolution naturelle de l’infection VHB et par conséquence de la prise en charge clinique des individus infectés, l’EASL propose une nouvelle classification des états chroniques de la maladie en 5 phases (tableau I). Elle est basée sur deux marqueurs indicatifs de la chronicité, la présence ou pas de l’antigène « e » du virus de l’hépatite B (AgHBe) et les niveaux sériques d’alanine amino- transférase (ALAT). Les phases décrites sont les suivantes :

* Phase 1 Ŕ infection chronique à AgHBe(+) : présence de l’AgHBe, virémie élevée, ALAT dans la norme, nécro inflammation et fibrose hépatiques minimes ou absentes, haute contagiosité : cette phase est fréquente et prolongée dans le contexte d’une transmission verticale (selon l’ancienne nomenclature : porteur immunotolérant).
* Phase 2 Ŕ hépatite chronique AgHBe(+) : présence de l’AgHBe, très haute virémie, ALAT élevée, nécro inflammation modérée ou sévère et fibrose rapidement évolutive (anciennement : stade de réactivité immunitaire).
* Phase 3 Ŕ infection chronique AgHBe(-) : absence de l’AgHBe, faible virémie, ALAT dans la norme, nécro inflammation ou fibrose minimes ou absentes, progression de maladie minime (anciennement : portage inactif). ● Phase 4 Ŕ hépatite chronique AgHBe(-) : absence de l’AgHBe, haute virémie, ALAT élevée, nécro inflammation et fibrose installées, rémission spontanée improbable (anciennement : Hépatique chronique AgHBe-).
* Phase 5 Ŕ AgHBs(-) Ŕ infection occulte : absence de l’AgHBs, présence des anticorps anti-HBc, faible taux de réplication virale (avec charge virale sérique non décelable dans la plupart des cas), ALAT dans la norme, faible risque de cirrhose ou de CHC (sauf dans le cas où la disparition de l’AgHBs est survenue après le développement d’une cirrhose).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Evolution naturelle et classification de l’infection par le VHB  Evolution naturelle et classification de l’infection par le VHB  **Phase** | **1. Infection chronique**  **AgHBe(+)** | **2. Hépatite chronique**  **AgHBe(+)** | **3. Infection chronique AgHBe(-)** | **4. Hépatite chronique AgHBe(-)** | **5. Phase latente AgHBs(-)** |
| **Ancienne nomenclature** | Phase de tolérance immunitaire | Phase immunoactive | Portage inactif | Hépatite chronique AgHBe(-) |  |
| **AgHBe** | ***+*** | ***+*** | ***-*** | ***-*** | ***-*** |
| **ADN du VHB** | **>**10E7 UI/ml | 10E4-10E7 UI/ml | <2000 UI/ml | >2000 UI/ml | <2000  UI/ml |
| **ALAT** | Dans la norme | Elevée | Dans la norme | Elevée | Dans la norme |
| **Histologie hépatique** | Nécro inflammation ou fibrose minime ou absente | Nécro inflammation modérée ou sévère et fibrose rapidement évolutive | Nécro inflammation ou fibrose minime ou absente | Nécro inflammation et fibrose installées | Faible risque de cirrhose et  CHC |

Evolution naturelle et classification de l’infection par le VHB

**Modes de transmission :**

**Transmission et prévention Le VHB peut être transmis de différentes manières, dont la transmission périnatale et la transmission dite horizontale. La transmission périnatale de la mère à l'enfant est fréquente dans les zones de forte endémie et se produit pendant l’accouchement ou durant les premiers mois après la naissance (Dény et Zoulim 2010). Dans ce cas de figure, les risques de transmission sont plus élevés lors d’une infection aiguë par le VHB au cours du 3e trimestre de grossesse. A noter qu’à ce jour, aucune transmission placentaire n'a été démontrée. Concernant la transmission horizontale, elle se produit principalement par exposition à du sang contaminé ou par des rapports sexuels non protégés impliquant l'échange de fluides biologiques contaminés. Le virus peut rester infectieux à l'extérieur du corps humain jusqu’à 7 jours, ce qui peut entraîner une infection chez une personne non-vaccinée, entrant en contact avec des surfaces contaminées (Bond et al. 1981). 15 A ce jour, la vaccination demeure le moyen le plus efficace pour prévenir l'hépatite B. D’après les recommandations de l’OMS, une série de 3 à 4 doses de vaccin permet de couvrir 94 % des nouveau-nés avec 95 % d'efficacité. En 2005, un modèle mathématique a montré que la vaccination avait permis de sauver environ 1 million de vies en 2000 et d’empêcher l'infection d'environ 65 millions de personnes (Goldstein et al. 2005). 2.5 Symptômes et traitements Il existe 2 formes d'hépatite B : l'hépatite aiguë et l'hépatite chronique. L’hépatite B aiguë est asymptomatique et guérie spontanément dans 90 à 95 % des cas en 6 mois (Hollinger et Lau 2006). Néanmoins, elle peut provoquer de la fatigue, de la nausée, des douleurs abdominales, mais également des jaunisses chez certains patients. De plus, chez 5 à 10 % des malades, cette forme peut évoluer vers une infection chronique. Cette condition est plus souvent observée chez des enfants infectés très jeunes, avant l’âge de 5 ans ou chez des patients immunodéprimés.**

**Les hépatites chroniques peuvent être plus ou moins actives. Cette forme d'hépatite se caractérise par la persistante de l'antigène de surface HBs 6 mois après l'infection (Lavanchy 2004). Dans 70 à 90 % des cas, les patients atteints d’hépatite B chronique sont asymptomatiques. Cependant, dans certains cas, l’infection par l’hépatite B peut évoluer vers une forme active, entraînant des complications allant de la fibrose à la cirrhose (C. Wang et al. 2017). La cirrhose est le principal déclencheur de complications hépatiques liées au VHB. Elle peut conduire à l’insuffisance hépatocellulaire et peut favoriser l'apparition d'un carcinome hépatocellulaire (HCC), potentiellement mortel (Figure 2.7). 16 Le diagnostic de l'hépatite B repose sur des tests moléculaires et sérologiques, notamment des analyses immunologiques permettant de détecter divers marqueurs tels que les antigènes viraux HBs, HBe et HBc ainsi que leurs anticorps respectifs. La période d’incubation de ce virus varie de 30 à 180 jours, ainsi ce virus est détectable sur une durée allant de 30 à 60 jours après l’infection (WHO 2020). Actuellement, il n’y a pas de traitement pour guérir d'une infection causée par le virus de l'hépatite B. Les médicaments utilisés sont les analogues de nucléosides et les interférons alpha pégylés (PEG-IFN). Les analogues de nucléosides inhibent la polymérase du virus et donc la réplication virale. Ils réduisent la charge virale, retardent la progression des cirrhoses, et réduisent ainsi les risques de cancer hépatique. Toutefois, ils n’éliminent pas l'ADNccc (ADN circulaire covalemment clos) viral, responsable de la persistance de l'infection. Enfin, la nécessité d'un traitement à long terme, conduit à l'apparition de résistances. Les PEG-IFN qui activent le système immunitaire inné et affectent la réplication virale du VHB sont bien tolérés par une petite population de malades et peuvent avoir des effets secondaires graves (Mak et al. 2017**

La contamination se fait surtout de la mère à l’enfant lors de l’accouchement ; ou par voie sexuelle, mais également par voie sanguine (Aiguilles contaminées notamment chez les toxicomanes ; lors des tatouages ou de piercing…). Le virus est fortement contagieux, 100 fois plus que le virus de l’immunodéficience humaine (VIH).

**3.2.5.a La transmission verticale et materno-foetale:**

La transmission périnatale est le mode de contamination le plus fréquent. La contamination périnatale est fréquente notamment dans les pays de forte endémicité comme l’Asie du Sud-est et l’Afrique.

La transmission verticale du virus de l’hépatite B de la mère à l’enfant est due à l’exposition du nouveau-né aux secrétions maternelles lors du passage dans la filière génitale ou pendant la période néonatale **[28].** Il semble exister un passage transplacentaire du virus de l’hépatite B qui entraîne une immunotolérance chez le nouveau- né. Celui-ci devient porteur chronique du virus de l’hépatite B. En France, le dépistage du virus de l’hépatite B est obligatoire chez la femme enceinte. Si ce dépistage est positif, une sérovaccination de l’enfant sera réalisée à la naissance **[9 ; 21 ; 29].**

**3.2.5.b. La transmission sanguine :**

La transmission sanguine est un mode de transmission de l’infection par le virus de l’hépatite B par manque de technique adéquate de dépistage du virus de l’hépatite B chez les donneurs de sang. La transmission est aussi parentérale par exposition percutanée ; par toxicomanie intraveineuse ; par accident d’exposition au sang (piqûre par un matériel mal stérilisé). D’autres modes de contamination parentérale existent comme la contamination accidentelle du personnel de santé, l’excision, les scarifications et les tatouages **[5].**

**3.2.5.c. La transmission sexuelle :**

**3.2.5.d. La transmission horizontale :**

**3.3. Physiopathologie:[4 ; 5 ; 6 ; 21]**

L’effet cytopathogène du virus de l’hépatite B est faible. Les lésions sont secondaires à des réactions immunologiques à médiation cellulaire. Ces réactions sont dirigées contre les hépatocytes qui expriment sur leur membrane les antigènes de la nucléocapside du virus de l’hépatite B, en cas de réplication virale complète. Les interférons jouent un rôle important dans le contrôle de ces réactions.

L’hépatite aiguë est le rejet immunologique des hépatocytes infectées.

La virémie et la présence dans le foie des antigènes viraux sont brèves. Les Cellules impliquées sont les lymphocytes T et les non T (cellules Natural killer Ou cellules tueuses). La cytotoxicité va de pair avec l’expression à la surface de l’hépatocyte des antigènes de classe I du complexe majeur d’histocompatibilité qui sont fortement exprimés. Cette expression est sous la dépendance des trois types d’interféron.

L’hépatite chronique virale B expose à la survenue d’une cirrhose et d’un carcinome hépato cellulaire (CHC).

**3.4. Etude clinique :**

**3.4.1. Circonstance de découverte :** Elle peut être découverte de façon fortuite au cours d’un examen biologique de routine, d’une CPN ou en présence des signes cliniques tels que : ictère, arthralgie, prurits.

**3.4.2. Type de description : hépatite ictérique aigue commune de la femme enceinte.**

L’hépatite aiguë B est semblable aux autres hépatites virales sur le plan clinique et biochimique. L’hépatite aiguë se divise en deux phases : la phase pré ictérique et la phase d’état.

**3.4.2.a. Le début ou phase pré-ictérique :**

Dans la forme typique après une incubation qui dure environ dix semaines, survient une phase pré-ictérique de 3 à 7 jours environ. Elle est caractérisée par : - Un syndrome pseudo-grippal avec : une asthénie souvent intense, une fièvre en règle modérée à 38°-38°5 avec parfois des frissons, des myalgies, des arthralgies et des céphalées.

- Des signes digestifs inconstants qui peuvent être des nausées, des douleurs abdominales, des vomissements. Rarement une urticaire évocatrice du diagnostic surtout lorsqu’elle est associée à des céphalées et à des arthralgies (classique triade de Caroli). Les manifestations notées lors de cette phase disparaissent lorsque l’ictère s’installe.

**3.4.2.b. La phase ictérique ou phase d’état : Les signes généraux:**

La phase ictérique dure habituellement deux à trois semaines, rarement plusieurs mois par la persistance de l’asthénie, d’un amaigrissement de deux à trois kilogrammes (Kg).

**Les** **signes** **fonctionnels**: sont généralement absents à ce stade.

**Les signes physiques:**

L’ictère est le plus souvent le motif de consultation accompagné de selles décolorées et d’urines foncées. L’ictère est d’installation progressive et d’intensité modérée. L’examen physique est en général normal en dehors de la possibilité d’une hépatomégalie parfois sensible ; il existe aussi une splénomégalie et des adénopathies dans 25% des cas.

**Les signes para cliniques:**

A cette phase, les transaminases (ALAT surtout et ASAT) sont élevées (entre 10 et 100 fois la normale). La bilirubinémie est élevée, et est prédominante sur la fraction conjuguée. Les phosphatases alcalines et le gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT) peuvent être élevés en cas de cholestase. Le taux de prothrombine (TP) et le facteur V peuvent être normaux ou modérément abaissés; l’AgHBs et l’anticorps anti HBc de type IgM sont présents.

**3.4.3. L’évolution:**

Le plus souvent, l’évolution est spontanément favorable avec une disparition de l’ictère en 2 à 4 semaines, une normalisation des transaminases. La disparition de l’AgHBs et l’apparition de l’anticorps anti-HBs signent la guérison. La persistance d’une asthénie peut se prolonger plusieurs mois. La persistance du virus au-delà de six (6) mois, définit le passage à la chronicité qui expose au risque de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire.

**3.4.4. Les formes cliniques: [4 ; 5 ; 28]**

**3.4.4.a. Les formes chroniques:**

L’hépatite virale chronique est définie biologiquement par la persistance d’une élévation des transaminases à plus de six (6) mois après une hépatite aiguë virale. L’hépatite chronique est définie histologiquement par l’existence de lésions hépatiques associant à un degré variable en fonction du stade et de l’activité de la maladie, une nécrose hepatocytaire, un infiltrat inflammatoire constitué de cellules mononuclées et de la fibrose. La chronicité de l’hépatite B se définit classiquement par la persistance de l’AgHBs, la persistance des transaminases élevées et la persistance de la virémie pendant plus de six (6) mois. Cependant, si dans le cas d’une hépatite aiguë, l’antigène HBs n’a pas disparu au bout de deux (2) mois, il est recommandé de rechercher l’ADN viral et l’antigène HBe. Leur persistance en ce moment, serait un facteur prédictif d’une évolution chronique. Globalement, on estime que 5 à 10 % des personnes infectées par le virus de l’hépatite B, développent une hépatite chronique.

**3.4.4.b. Les formes asymptomatiques :**

Les formes asymptomatiques de l’hépatite virale B sont les plus fréquentes.

Environ 90% des hépatites aiguës B sont asymptomatiques. Le diagnostic est souvent porté à posteriori devant un profil sérologique témoignant d’un contage viral passé inaperçu.

**3.4.4.c. Les formes anictériques :**

Les formes anictériques sont peu ou même pas symptomatiques. Tous les signes peuvent être présents sauf l’ictère. Elles sont très fréquentes dans 90% des cas environ. Il faut savoir demander un dosage des transaminases devant les symptômes suivants : le syndrome grippal, l’asthénie, l’anorexie, la douleur abdominale, les arthralgies, les céphalées, les prurits, et l’urticaire.

**3.4.4.d. Les formes cholestatiques :**

Elles surviennent par occlusion intra hépatique et par trouble de l’écoulement de la bile dans les canalicules biliaires.

L’excrétion de la bilirubine par l’hépatocyte est alors dérangée (stase intracellulaire) ; les cholangioles sont frappées ; leur perméabilité est accrue, la bile s’épaissit et des thrombus biliaires se forment. La maladie prend une évolution prolongée et l’ictère persiste des mois : il y a des démangeaisons. Etant donné que les hépatocytes sont peu atteints, les symptômes d’intoxication sont faiblement prononcés. En cas de cholestase intense, l’ictère et le prurit sont les signes majeurs.

L’ictère est bien foncé, les selles sont complètement décolorées et les urines sont foncées.

Les phosphatases alcalines et le Gamma Glutamyl Transpeptidase sont franchement élevées.

**3.4.4.e. Les formes avec manifestations extra hépatiques:**

Ce sont des formes rares et trompeuses. Les manifestations articulaires surviennent surtout lors de la phase pré-ictérique. On peut voir aussi des arthralgies, parfois des polyarthrites vraies avec des signes objectifs. Il faut insister sur le risque d’aplasie médullaire, une complication rare mais grave qui survient habituellement 2 à 3 mois après le début de l’ictère. Il peut s’agir aussi de polyradiculonévrite, de pancréatite aiguë, de glomérulonéphrite, de péricardite, de thyroïdite. **3.4.4.f. Les formes fulminantes :**

Au cours d’une hépatite fulminante, la surveillance du taux de prothrombine (TP) ou temps de quick doit être systématique ; le taux de prothrombine (TP), le facteur V sont généralement bas et la cytolyse est majeure. Un taux de prothrombine (TP) inférieur à 50 %, définit une hépatite sévère et le malade doit être hospitalisé.

L’hépatite grave (ou hépatite fulminante) est définie par la survenue d’un astérixis, des troubles du comportement, d’une somnolence associée à un taux de prothrombine (TP) bas.

Dans ce cas, le malade doit être hospitalisé en milieu spécialisé en vue d’une éventuelle transplantation hépatique. L’incidence des formes fulminantes est inférieure à 1%.

**3.4.4.g. Les formes de l’immunodéprimé:**

Le risque de passage à la chronicité en cas d’hépatite aiguë B chez la parturiente Co-infectée par le virus de l’immunodéficience humaine (VIH) est beaucoup plus élevé. Cette probabilité d’évolution vers la chronicité est inversement corrélée au taux de CD4.

**3.5. Retentissement :**

**3.5.1 Influence de l'infection par le VHB sur le déroulement de la grossesse**  Dans une étude cas-témoins de 253 femmes Chinoises enceintes et porteuses de l'AgHBs, appariées à 253 femmes non porteuses de l'AgHBs, l'infection par le VHB augmentait la fréquence du diabète gestationnel et la menace d'accouchement prématuré **[30]**. Le risque de l'amniocentèse a été étudié dans une étude prospective incluant 28 femmes porteuses de l'AgHBs **[31]**. Parmi ces 28 femmes, 21 couples mère-enfant ont été étudiés (AgHBe chez une seule mère), et aucun des 21 enfants n'était porteur de l'AgHBs sur le test effectué entre 9 et 15 mois. Tous les enfants avaient bénéficié d'une sérovaccination dès la naissance **[31]**.

**3-5-2. Influence de la grossesse sur l'histoire naturelle de l'infection par le VHB**

Peu d'études ont été consacrées au rôle de la grossesse sur l'infection par le VHB. Des phénomènes de réactivation ont été rarement rapportés durant la grossesse **[2]**. Des séroconversions AgHBe / anticorps anti-HBe, mais également des séroconversions AgHBs/anticorps anti-HBs ont été observées durant le postpartum **[2]**. Dans une étude rétrospective, il a été montré que la charge virale augmentait en fin de grossesse ou lors du post-partum, quelque soit le statut HBe

**[32]**. En pratique, une réactivation du VHB doit être évoquée en cas de signes cliniques évocateurs d'hépatopathie, et le diagnostic différentiel doit être fait avec une hépatopathie intercurrente ou une hépatopathie gravidique 30 **[33]**. Dans tous les cas, le niveau de réplication du VHB doit être évalué à nouveau à distance de l'accouchement.

**3.6. Hépatite B et Accouchement: [34].**

Voie basse autorisée dans tous les cas

 cas particulier : dans les infections avec forte réplication virale et qui nécessitent un traitement les semaines avant la naissance (risque de contamination fœtal important), prendre les précautions suivantes : - Respect de la poche des eaux le plus longtemps possible.

* Eviter les prélèvements au scalp fœtal (pH ou lactates). - Information du pédiatre à la naissance.
* Sérovaccination du nouveau-né.
* Cas particulier d’une mère non suivie et n’ayant pas été dépistée: faire en urgence à l’admission en salle d’accouchement le dépistage de l’hépatite B et le récupérer le plus rapidement possible afin que l’enfant puisse bénéficier d’une sérovaccination au plus tard dans les 12 heures qui suivent sa naissance.
  1. **Hépatite B et Allaitement :****[34]**.

Chez les mamans non traitées, l’allaitement maternel n’est pas contre-indiqué tant que le nouveau-né est protégé et qu’il n’y a pas de crevasses du mamelon. La très faible excrétion dans le lait et la faible absorption par le nouveau-né font que le TDF pris par la mère ne contre-indique pas l’allaitement maternel.

* 1. **Diagnostic différentiel :** 
     1. **Hyperhémie gravidarum :**

C’est une pathologie du premier trimestre de la grossesse et qui se manifeste par des vomissements incoercibles, une asthénie physique. La prévalence est de 0,3 à 2% des grossesses **[35]**.

* + 1. **Cholestase intra- hépatique de la grossesse ou cholestase gravidique :** La cholestase intra hépatique de la grossesse (CIG) survient généralement au cours du deuxième ou troisième trimestre. Sa fréquence, plus élevée dans les pays scandinaves et au Chili ou en Bolivie **[36].** Elle fait évoquer une origine génétique, ainsi que les variations saisonnières de la fréquence de cette pathologie suggèrent que des facteurs environnementaux sont impliqués **[37]**. Le meilleur marqueur de CIG est l’augmentation constante de la concentration sérique des acides biliaires avec des concentrations pouvant dépasser 100μmol/l **[38]**. Le traitement par AUDC (L’acide Ursodésoxycholique) permettrait de diminuer le risque de prématurité **[39]**.

**3.8.3 Pré-éclampsie /HELLP syndrome :**

La pré-éclampsie ou toxémie gravidique est définie par une pression artérielle systolique supérieure à 140mmHg et/ou une pression artérielle diastolique supérieure à 90mmHg associée à une protéinurie supérieure à 0,3 g toutes les 24 heures. Deux à 5% des femmes enceintes ayant une pré-éclampsie auraient une atteinte hépatique **[37]**. Dans 4 à 12% des cas, la pré-éclampsie se complique d’un syndrome de HELLP (Hemolysis Elevated Liver enzymes Low Platelet count).

Le HELLP syndrome survient généralement au cours du troisième, voire du deuxième trimestre de la grossesse mais il peut s’aggraver, voire être diagnostiqué seulement dans le postpartum. Le HELLP syndrome peut être un des modes de révélation du syndrome des anti-phospholipides (SAPL). Dans ce contexte, il est souvent plus précoce et sévère **[40]**.

**3.8.4. Stéatose hépatique aiguë gravidique (SHAG)**

La SHAG survient principalement au cours du troisième trimestre de la grossesse. Une pré-éclampsie et/ou un HELLP s’associent dans 50% des cas **[41]**. La physiopathologie de la SHAG est imparfaitement connue. Elle pourrait être liée à un déficit de la longue chaine «3-hydroxyacyl CoA déshydrogénase », enzyme mitochondriale ayant un rôle dans la bêta oxydation des acides gras.

Certains cas de SHAG ont été rapportés chez des femmes ayant un déficit hétérozygote de cette enzyme, leurs fœtus étant porteurs d’un déficit homozygote **[42]**. **3.9. Le traitement :**

**3.9.1. Le traitement curatif**

**3.9.1.a. Buts**

* Obtenir une suppression de la réplication du VHB
* Obtenir une amélioration des lésions histologiques
* Prévenir et/ou ralentir la progression de la maladie vers la cirrhose et/ou

CHC

* Guérir le malade
* Eviter des gestes agressifs

**3.9.1.b. Les moyens :**

* **Mesures hygiéno-diététiques** : le régime alimentaire est libre, guidé par les désirs du malade, il faut faire un sevrage alcoolique et éviter tout médicament non indispensable, le repos est non strict.
* **Les médicaments :**

On dispose aujourd’hui des analogues à faible barrière de résistance **(La**

**Lamivudine ou LAM, la Telbuvidine ou TBV et l’Adéfovir Disoproxil ou ADV**) qui ne sont plus utilisés en monothérapie et des analogues à haute barrière de résistance **(l’Entecavir ou ETV, Tenofovir Disoproxil Fumarate ou TDF et le Tenofovir Alafenamide ou TAF).**

Les analogues sont des inhibiteurs de la polymérase du VHB.

Ce sont :

* L’ETV est administré par voie orale (comprimé de 0,5 et de 1 mg), en une seule prise quotidienne sur un estomac vide.

La posologie de 0,5 mg/j est utilisée chez les patients naïfs et ayant une hépatite chronique ou une cirrhose compensée.

La posologie de 1mg/j est utilisée chez les patients résistants à la Lamivudine et/ou ayant une cirrhose décompensée.

La posologie est à adapter à la fonction rénale si la Clairance (Cl) de la créatinine est < 50ml/mn.

* Le TDF est administré par voie orale (comprimé de 300 mg), en une seule prise quotidienne.

La posologie de 300 mg/j est utilisée aussi bien chez les patients naïfs que chez les patients résistants.

La posologie est à adapter à la fonction rénale si la Clairance de la créatinine est<50 mL /mn

* Le TAF est administré par voie orale (comprimé de 25 mg), en une seule prise quotidienne.

La posologie de 25 mg/j est utilisée aussi bien chez les patients naïfs que chez les patients résistants.

La posologie de 25 mg/j est également préconisée en cas d’insuffisance rénale avec une clairance de la créatinine > 15 ou< 15 sous hémodialyse.

Les analogues sont globalement bien tolérés. La majorité des effets indésirables sont minimes à modérés et ne nécessitent pas l’arrêt du traitement. Les effets sévères surviennent dans 7- 10 % des cas et sont responsables d’un arrêt du traitement chez 1 à 2 % des patients **[43].**

Les toxicités rénale et osseuse des analogues sont à considérer.

* **La néphrotoxicité :**

Tous les analogues nucléos(t)idiques sont éliminés par voie rénale sous forme active avec une filtration glomérulaire et une sécrétion tubulaire active. La dysfonction rénale peut se traduire par une insuffisance rénale, par une tubulopathie proximale ou par un syndrome de Fanconi.

Cette dysfonction s’observe surtout avec les analogues nucléotidiques (TDF) et plus rarement avec les analogues nucléosidiques (ETV).

Par rapport au TDF, le TAF est moins néphrotoxique **[44-47].**

* **La toxicité osseuse :**

Le risque de déminéralisation osseuse est décrit au cours des hépatites chroniques B indépendamment des analogues. La toxicité osseuse serait plus importante sous TDF.

Par rapport au TDF, le risque osseux est moindre avec le TAF **[44-47].**

* **L’acidose lactique** :

Malgré le bon profil de tolérance de l’ETV, la survenue d’une acidose lactique reste une complication redoutable. Cet effet indésirable sévère est secondaire à une toxicité mitochondriale de l’ETV et se voit chez les patients ayant une insuffisance hépatique avancée avec un score MELD>22.

Il n’existe pas de véritables contre-indications aux analogues. Néanmoins, une adaptation des posologies s’impose en cas d’insuffisance rénale

En tenant compte du niveau de résistance, on distingue Le TAF a été récemment approuvé au cours de l’hépatite B **[1; 48-51].**

Comme le TDF, le TAF se métabolise en Tenofovir puis en Tenofovir diphosphate qui est le métabolite actif.

* **Les moyens endoscopiques :**

**\*Ligature des Varices \* Sclérose des Varices**

* **Les moyens chirurgicaux :**

**\*La transplantation hépatique**

**\* Hépatectomie**

**6.1.3. Indications :**

- **Hépatite fulminante** :

**\* transplantation hépatique :** Elle est indiquée en cas de cirrhose sévère, elle est parfois le dernier recours dans le traitement de l’hépatite B; elle peut être proposée dans des circonstances bien différentes: hépatite fulminante, ou la cirrhose décompensée voire le carcinome hépatocellulaire.

* **Cirrhose** :

\*si ADN détectable

+ Cirrhose compensée : Analogues à haute barrière génétique.

+cirrhose décompensée : Analogues à haute barrière génétique ou transplantation si indiquée.

\*si ADN non détectable : abstention de traitement anti viral.

* **Hépatite B aiguë durant la grossesse**

D’une façon générale, les recommandations actuelles ne sont pas en faveur du traitement de la phase aiguë de l’infection en dehors des formes fulminantes.

* **Hépatite chronique B chez les jeunes femmes en âge de procréer et durant la grossesse :**

Le principe de l’efficacité de l’administration d’un analogue au 3ème trimestre de la grossesse, cependant les parturientes déjà sous traitement continue durant toute la grossesse.

Le TDF est La molécule recommandée et le Mali ne fait pas exclusion à cette recommandation.

Dans un essai réalisé en chine **[52]** où les auteurs ont inclus 200 femmes enceintes Ag HBe(+) avec un ADN VHB >200.000 UI/mL, les participantes ont été tirées au sort pour avoir soit une prise en charge habituelle soit recevoir du Tenofovir à la dose de 300 mg/j par voie orale à partir de 30-32 semaines de gestation et jusqu’à la 4ème semaine du postpartum. Les 34 femmes ont été suivies jusqu’à la 28ème semaine du post-partum. Tous les nourrissons ont reçu une immunoprophylaxie et une vaccination dans les 12h suivant l’accouchement.

A la 28ème semaine post-partum, le taux de TME était significativement plus faible dans le groupe Tenofovir que dans le groupe contrôle. Ceci était vrai aussi bien dans l’analyse en intention de traiter (5% vs 18%) que dans l’analyse per protocole (0% et 7%). Dans ce même essai, Le profil de sécurité infantile était similaire dans le groupe TDF et le groupe contrôle, y compris les taux d’anomalies congénitales. Le profil de sécurité maternelle était aussi rassurant.

Les auteurs ont constaté tout de même plus d’élévation de la créatinine (1,3 à 3N) dans le groupe TDF (7 vs 0). Après arrêt du TDF, une élévation des ALAT au-dessus de la normale a été plus fréquemment observée chez les mères du groupe TDF que chez celles du groupe témoin (45% vs 30%) **[52].**

**3.9.2. Le traitement préventif :**

Le traitement préventif est primordial et repose sur la vaccination qui doit être faite tôt dès la naissance.

Chez le nouveau-né de mère porteuse de l’antigène HBs, il faut en plus faire une injection d’immunoglobulines spécifiques (Sérovaccination). La prévention de l’infection virale B peut être passive, active, ou mixte.

La prévention passive repose sur l’administration d’immunoglobulines anti HBs la prévention active repose sur la production chez le malade d’anticorps antiHBs grâce à la vaccination.

La prévention mixte est à la fois passive et active on la réalise en particulier à la naissance chez le nouveau-né d’une mère porteuse de l’antigène HBs.

\*Un traitement par immunoglobulines spécifiques anti-HBs doit être envisagé dans les circonstances suivantes : - Piqure avec du matériel contaminé

* nouveau-né d’une mère porteuse de l’antigène HBs positif - Sujets contacts d’un malade atteint d’hépatite B.

La vaccination contre le virus de l’hépatite B est efficace à plus de 90% **[53]**. Les effets indésirables sont exceptionnels, il convient de vacciner :

Les nourrissons à la naissance, pour les nouveau-nés de mères porteuses de l’antigène HBs en association avec l’injection d’immunoglobulines anti HBs. La vaccination est principalement indiquée (ou obligatoire) dans ces groupes à risque :

* Le personnel de santé
* Les toxicomanes intraveineux
* Les sujets à partenaires sexuels multiples
* Les malades polytransfusés
* Les personnes exposées aux dérivés du sang - Les immunodéprimés
* L’entourage de porteurs chroniques du VHB
* Les nouveaux nés de mère porteuse chronique de l’antigène HBs.

Le protocole de vaccination comporte quatre injections en sous cutané (s/c) ou en Intramusculaire (IM) de 1 ml pour l’adulte (s’étendant sur 12 mois : 0-1-6 et 12) avec un rappel tous les 15 ans.

Des vaccins recombinants préparés grâce aux techniques de biologie moléculaire et de recombinaison en génétique sont actuellement disponibles: Engerix B et Genhevac B.

**En cas de positivité l'AgHBs lors de dépistage au cours de la grossesse**  La mise en évidence de la positivité de l'AgHBs chez la future mère doit conduire à une démarche systématique qui comporte 3 volets :

* En premier lieu, il faut clairement informer la future mère de cette infection par le VHB et de la nécessité d'une sérovaccination de son enfant dès la naissance. Afin que la sérovaccination ne soit pas retardée à la naissance, la séropositivité pour l'AgHBs doit être clairement mentionnée dans le dossier de la maternité. Les sérologies des hépatites C, Delta et du VIH doivent aussi être demandées.
* En second lieu, une enquête sérologique pour le VHB (AgHBs, anticorps anti-HBc et anticorps anti- HBs) doit être systématiquement proposée dans l'entourage familial et chez les partenaires.
* Enfin, un bilan complémentaire doit être effectué à la femme enceinte, numération formule plaquettes, taux de prothrombine et bilan hépatique. La connaissance du statut AgHBe/anticorps anti-HBe et du niveau de réplication virale (ADNVHB) sont également utiles.

Idéalement, la femme porteuse de l'AgHBs doit être vue en consultation d'hépatologie avant l'accouchement, ce qui permet d'établir un premier contact, de vérifier la conduite à tenir, et d'expliquer l'intérêt du suivi ultérieur. Si cette consultation n'est pas réalisable durant la grossesse, elle peut avoir lieu dans les semaines qui suivent l'accouchement mais il est préférable qu'il y ait eu un contact téléphonique entre l'équipe obstétricale (le plus souvent la sage-femme) et l'hépatologue **[34]**.

**3.9.3. Prévention de la transmission mère-enfant par la sérovaccination 3.9.3.a. Efficacité de la sérovaccination chez des nouveau-nés de mère antigènes HBs positif**

Le risque de contamination des nouveau-nés de mères porteuses chroniques du

VHB, en l’absence de sérovaccination préventive dès la naissance, est estimé à 20 % si la mère est AgHBs+ et à 80 à 90 % si celle-ci est AgHBs+ et antigène

HBe+ (AgHBe+) tandis que l’efficacité de la vaccination des nouveau-nés des mère AgHBs positif est de 89 % **[54]** à 100% **[55]**. En effet, selon les auteurs, cette efficacité est de 85 à 92 % chez les femmes AgHBe positif et de 100 % **[53]**.

La vaccination est donc recommandée dès la naissance pour tous les enfants particulièrement chez les enfants nés de mères porteuses chroniques du VHB. Il persiste cependant un taux d’échec vaccinal, de 4 à 15 % selon les publications, chez les enfants nés de mères AgHBs+ et AgHBe+ **[53, 56, 57]**

**3.9.3.b. Les gammaglobulines anti-HBs**

Il est recommandé de faire l'injection de gammaglobulines anti-HBs avant la douzième heure de vie **[58]**, l'idéal étant probablement de la faire dès la naissance en salle d'accouchement. Chez le nouveau-né, l'injection est faite en intramusculaire dans la partie antéro-latérale de la cuisse, à un site différent de la première injection de vaccin.

Cette injection de gammaglobulines effectuée dès la naissance ne diminue pas la réponse à la vaccination. La dose de gammaglobulines varie selon les études (environ 30 UI/kg) **[58]**. Il a été préconisé de choisir la dose en fonction du risque de transmission selon que l’AgHBe chez la mère était positif (dose de 200 UI) ou négatif (dose de 100 UI) **[59]**.

**3.9.3.c. La vaccination du nouveau-né**

**Schéma de vaccination**

La majorité des vaccins contre l'hépatite B autorisés actuellement sont obtenus par recombinaison génétique. C’est le schéma à 4 injections (0, 1, 6 et 12 mois) qui est actuellement recommandé. La première injection doit être faite dès la naissance, la deuxième injection doit être effectuée à l'âge de 1 mois, la troisième injection doit être effectuée à 6 mois et la quatrième a 12 mois. En cas de ressources financières suffisantes, comme à Taiwan, ces nouveaux nés reçoivent une dose d’immunoglobulines anti-VHB dans les 12 heures qui suivent la naissance. Ils recevront ensuite trois à quatre injections vaccinales dont la première quelques 12 heures après l’injection d’immunoglobulines antiVHB, les deuxième et troisième doses interviennent à un et six mois respectivement **[60].**

Certains pays où la prévalence de l’infection par le VHB est plus faible ont également mis en place une vaccination de masse. Dans ces pays, on a montré que la vaccination des groupes à risque était insuffisante à contrôler la dissémination du virus **[61].** Une étude sur la région picarde en Nord-Est de la France indique un respect insuffisant des recommandations pour les schémas de sérovaccination (non-conformité et non-pertinence), il convient donc de diffuser les références correctes à toute occasion pour favoriser leur application ; elles sont accessibles sur Internet **[62].**

**3.9.3.d Effets indésirables du vaccin de l’hépatite B :**

Toute vaccination peut s’accompagner d’effets secondaires. Nous n’évoquerons pas l’induction rare de mutants d’échappement à la vaccination. En dehors des effets locaux (douleurs au point d’injection) ou généraux (fièvre, céphalées), les accidents graves sont rares mais existent, allant des acrodermatites papuleuses aux encéphalites ou glomérulonéphrites. L’actualité a stigmatisé régulièrement depuis 1998 les risques d’atteintes neurologiques démyélinisantes centrales (sclérose en plaques [SEP], myélite transverse), de myofasciites et de maladies générales auto-immunes attribuables à la vaccination contre le VHB **[63]**. Parmi les arguments épidémiologiques contre une relation causale entre la vaccination antivirale B et la sclérose en plaques (délais d’apparition aléatoires de 1 jour à plus d’1 an), le plus signifiant est certainement que le nombre de scléroses en plaques dans la population vaccinée n’est pas supérieur (l’odd ratio est calculé à 1,5 mais avec un intervalle de confiance incluant l’unité, témoignant de l’absence de significativité) à celui de la population non vaccinée. La coïncidence entre l’apparition d’une sclérose en plaques ou d’une myélite transverse à la suite d’une vaccination contre l’hépatite B ne constitue donc pas en soi la preuve d’une relation causale entre la vaccination et les symptômes observés même si la relation chronologique est indiscutable **[64]**. C’est pourquoi, à ce jour, les autorités n’ont pas retenu de lien causal, d’autant plus que dans la plupart des pays européens (et aux États-Unis) où des programmes de vaccination des nourrissons ont été systématiquement proposés, aucun pays n’a signalé de recrudescence d’évènements indésirables de type neurologique associés à la vaccination. D’autres effets indésirables ont été décrits de manière exceptionnelle tels l’apparition de cryoglobulinémie, de péri artérite noueuse, d’uvéite, de vascularite, d’acrodermatite .Le caractère immunomédié de ces réactions pourrait plaider en faveur de l’origine vaccinale de ces manifestations; cependant on ne peut exclure, de par leur caractère sporadique, de simples coïncidences.

Cycle viral du virus de l’hépatite B

Malgré la complexité du cycle viral de l’hépatite B (Figure 2.8), une schématisation en plusieurs étapes peut être établie. Cette schématisation, montre l’importance de la protéine Core au sein du cycle viral.

1. Entrée dans la cellule : Tout d'abord, la grande protéine de surface du VHB, appelée protéine L, se lie aux récepteurs NTCP (sodium taurocholate cotransporting polypeptide) présents sur les hépatocytes (Urban et al. 2014). Cette interaction va permettre l’entrée des particules virales dans le cytoplasme des hépatocytes. Le mécanisme précis d’entrée, n’est pas complètement clair, mais il pourrait impliquer la fusion de l’enveloppe virale avec la membrane cellulaire ou l’endocytose de la particule virale (Huang et al. 2012; Macovei et al. 2010). 18 2. Transport de la nucléocapside vers le noyau : Lors de la pénétration dans le cytoplasme, la nucléocapside qui renferme l’ADN viral, est libérée et transportée vers le noyau grâce aux microtubules (Rabe, Glebe, et Kann 2006). 3. Importation dans le noyau : La nucléocapside contenant le génome viral interagit avec les importines via les séquences de localisation nucléaire (NLS) et est transportée à travers le pore nucléaire où elle sera désassemblée (Schmitz et al. 2010; Gallucci et Kann 2017). Cette étape permet la libération du génome viral et de la protéine de capside dans le noyau (Rabe et al. 2009). 4. Formation du mini-chromosome et transcription : Après l'entrée du génome dans le noyau, l'ADNrc (ADN relâché, circulaire) de la nucléocapside est converti en un ADN circulaire covalemment clos appelé ADNccc (Michael Nassal 2008). Cet ADN est surenroulé et associé à des histones ainsi qu’à certaines protéines du VHB dont la protéine de capside pour former le minichromosome. Le minichromosome est transcrit par l’ARN polymérase II cellulaire, ADN-dépendante (Michael Nassal 2008). Cela conduit à la synthèse des ARNm viraux et de l’ARN prégénomique (ARNpg). 5. Traduction : Ces ARNs sont ensuite traduits pour produire les différentes protéines du virus. Les ARNm viraux codent pour les protéines S, M et L, la protéine E et la protéine X. L’ARN pré-génomique joue un double rôle en tant qu’ARN messager pour la synthèse de la protéine Core (la protéine de la capside) et de la polymérase virale, ainsi qu’en tant que matrice pour la transcription inverse par la polymérase virale. 6. Encapsidation et devenir de la nucléocapside : Puis l’ARNpg et la polymérase sont encapsidés (Michael Nassal 2015), et l'ARNpg est converti en ADNrc (Schreiner et Nassal 2017). Pour finir, cette nucléocapside mature soit acquiert une enveloppe et est sécrétée, soit est recyclée vers le noyau pour maintenir le pool d’ADNccc. 19 La formation de capsides vides est également observée dans le cycle viral du VHB (Ning et al. 2011) 4. Les différentes protéines du virus de l’hépatite B Le génome du VHB est un ADN relâché circulaire, partiellement double brin de 3,2 kb

Après réparation dans le noyau en ADNccc, le brin positif contient 4 phases ouvertes de lecture. Ces 4 phases ouvertes de lecture, codent pour 7 protéines virales différentes : la polymérase, la protéine Core (AgHBc), la protéine E (AgHBe), la protéine X (HBx), et les protéines d'enveloppe, L M et S (AgHBs L, AgHBs M, AgHBs). La protéine Core : En raison de ses fonctions, la protéine Core est l’une des protéines les plus importantes du VHB. Elle sera présentée dans la partie suivante. 20 Les protéines d’enveloppe : Le virus de l’hépatite B possède trois protéines d'enveloppes différentes : AgHBs, AgHBs M et AgHBs L. Ces protéines sont retrouvées à la surface des virions infectieux et peuvent également former spontanément des structures sphériques ou filamenteuses vides appelés sous-particules virales (SVPs) (Heermann et al. 1984). Les SVPs sont non infectieuses, mais elles pourraient favoriser la propagation des virions et ainsi participer au maintien de l'infection.

Ces protéines ont une région C-terminale commune appelée la région S qui est en fait la protéine S. La protéine AgHBs (Figure 2.10) est composée de 226 acides aminés (AAs) (Eble, Lingappa, et Ganem 1986). Elle représente environ 2/3 de la composition totale de l’enveloppe des SVPs. De plus, AgHBs est un marqueur de l'infection virale (Brunetto et al. 2010) et est à la base des vaccins anti-VHB recombinants actuels. 21 La protéine AgHBs M (Figure 2.10) contient le domaine preS2 dans la région Nterminale, en plus de la région S. Le domaine preS2 est composé de 55 AAs (Ganem et Varmus 1987). Le rôle de cette protéine reste à clarifier étant donné qu'elle n'est pas nécessaire pour l'infection ni pour la morphogenèse virale (Bruss et Ganem 1991). Enfin, la protéine AgHBs L (Figure 2.10) contient le domaine S et le domaine preS. Ce dernier comprend les domaines preS2 et preS1. Le domaine preS1 varie en longueur de 108 à 119 AAs selon les génotypes. La protéine AgHBs L est essentielle pour la formation des sous-particules virales filamenteuses, pour l'acquisition de l'enveloppe des capsides du VHB et pour la liaison avec le récepteur hépatocytaire NTCP lors de l'entrée du virus (via le domaine preS1) (Glebe et al. 2005; Le Duff, Blanchet, et Sureau 2009; Ni et al. 2014; Yan et al. 2012; Wong et al. 2017).

La protéine E : AgHBe est une protéine de 17 kDa produite par traduction de l'ARN preCore de 3,5 kb. Elle est codée par le même cadre de lecture que la protéine Core et possède 90 % d’identité de séquence en acides aminés avec elle mais a des rôles complètement différents.

C’est une protéine hydrophobe, contenant par rapport à Core 10 résidus supplémentaires en N-terminus, précédés d'un peptide signal qui lui permet de passer dans les voies de sécrétion. Après maturation dans ces voies, la forme sécrétée AgHBe contient les résidus -10 à ~150 dans la numérotation de Core (Figure 2.11). AgHBe n'est pas impliquée dans la réplication virale, mais participe à la tolérance de 22 l'hôte envers le virus en affectant le système immunitaire (Jegaskanda et al. 2014; Lang et al. 2011). De plus, la sécrétion d’AgHBe étant corrélée avec de hauts niveaux d'expression de la réplication des virions du VHB (J. Chen et al. 2017), cet antigène est également un biomarqueur pour suivre la réplication virale du VHB

La polymérase (Figure 2.12) est l’une des protéines les plus importantes du VHB. Elle est la plus grande protéine du VHB, a une masse moléculaire de 90 kDa, et est composée de 832 acides aminés. Cette protéine est divisée en 4 domaines : le domaine TP (Terminal Protein), le spacer, le domaine de la transcriptase inverse et le domaine ribonucléase H (RNase H). Le domaine TP situé à l’extrémité N-terminale permet la liaison à l'ARNpg et sert d'amorce pour initier la synthèse du brin négatif d'ADN (Bartenschlager et Schaller 1988; Jones et Hu 2013). Le spacer, dont la fonction n'est pas clairement définie, est un domaine flexible. Il permettrait la connexion entre les différents domaines et leur bon fonctionnement. Du côté C-terminal, deux domaines sont présents : Le domaine de transcriptase inverse, qui permet la synthèse de l’ADN (Radziwill, Tucker, et Schaller 1990), et le domaine RNase H, responsable de la digestion de l'ARNpg durant la transcription inverse (Wei et Peterson 1996; Ko et al. 2014). La polymérase est la cible des antiviraux à action directe actuels, en particulier des analogues de nucléos(t)ides (Zoulim et Locarnini 2013). La protéine X : La protéine X est une protéine de 154 acides aminés, non structurée. Bien que HBx ne soit pas impliquée dans la structure des virions du VHB, elle joue un rôle dans la réplication virale via le contrôle de la transcription de l’ADNccc avec lequel elle interagit (Lucifora et al. 2011). De plus, elle jouerait un rôle important dans la régulation indirecte de nombreux gènes hôtes. Par ailleurs, elle a un potentiel oncogénique et jouerait également un rôle dans le développement des HCC liés au VHB. 23 5. La protéine Core 5.1 Structure de la protéine entière La protéine Core est une protéine dimérique (Figure 2.13.A) (Zlotnick et al. 2015) de 183 (ou 185 ou 195, selon les souches) acides aminés (Locarnini et al. 2013) composée de deux domaines. Les 149 résidus N-terminaux (Cp149) forment un domaine structuré appelé NTD (N Terminal Domain) et composé de 5 hélices alpha (Birnbaum et Nassal 1990; Wynne, Crowther, et Leslie 1999). Le NTD (Figure 2.13.B) est responsable de la dimérisation et de l’autoassemblage in vivo, mais également in vitro des capsides du VHB.

Les acides aminés restants, forment un domaine intrinsèquement désordonné, riche en arginines et sérines (Figure 2.13.B) appelé CTD (C terminal Domain) (J. C.-Y. Wang, Dhason, et Zlotnick 2012). 24 5.2 Fonctions de la protéine Core La protéine Core est le constituant de la capside du VHB. La protéine Core va aussi avoir plusieurs autres rôles, probablement sous sa forme dimérique. Dans les hépatocytes infectés par le VHB, la protéine Core s’accumule dans le noyau, elle aurait donc des fonctions nucléaires lors de l’infection par le VHB. En effet, la Core interagit avec l’ADNccc lors de la formation du minichromosome viral (Bock et al. 2001). Sa présence a également été corrélée à un état de transcription active de l’ADNccc, puisqu’elle pourrait l’activer en interagissant avec cet ADN au niveau des îlots CpG (Y.-H. Guo et al. 2011). Core aurait ainsi un rôle important dans la régulation de la transcription virale. De plus, elle serait également impliquée dans la régulation de nombreux gènes cellulaires en se liant à leurs promoteurs et inhibant ainsi leur expression (Y. Guo et al. 2012). Enfin, l’interaction de l’ADNccc avec certaines enzymes telles que la cytidine déaminase, qui peut conduire à sa dégradation est médiée par la protéine Core. Elle participerait donc à la destruction de l’ADNccc (Lucifora et al. 2014). 5.3 Domaine C-terminal Le CTD est un domaine riche en arginines et sérines pouvant être phosphorylées. Ce domaine comprend également les séquences de localisation nucléaire (NLS-nuclear localization signal) et d’export nucléaire (NES-nuclear export signal).

électronique d'une capside Cp183 vide. La densité en couleur correspond au CTD d'après l'ajustement d'une structure cristalline d'une capside Cp149. Adaptée de (Venkatakrishnan et Zlotnick 2016). Sous sa forme phosphorylée, le CTD interagit avec l’ARNpg dans le cytoplasme et est nécessaire pour son encapsidation (Gallina et al. 1989; M. Nassal 1992). Des études ont montré que la phosphorylation des sérines 155, 162 et 170 (Figure 2.14) sont importantes pour l’encapsidation de l’ARNpg (Kann et Gerlich 1994). De plus, le CTD a une activité chaperonne permettant le bon repliement de l’ARNpg et sa transcription inverse en ADNrc. Les déphosphorylations successives du CTD qui accompagnent la synthèse de l’ADNrc à partir de l’ARNpg, entraînent l’exposition de certains CTD et donc des NLS à l’extérieur de la nucléocapside mature. Cette exposition des NLS permet l’interaction du CTD avec les importines et conduit à l’acheminement de la nucléocapside mature au noyau. Alternativement, la maturation associée à la synthèse d'ADNrc conduit à l'interaction avec l’AgHbS L pour l’acquisition de l’enveloppe et la sécrétion de la cellule (M. Nassal 1992; Michael Nassal 2008; Schmitz et al. 2010; Rabe et al. 2009; C. Chen et al. 2016; Selzer et al. 2015). Les phosphatases responsables de la déphosphorylation du CTD, ainsi que les kinases permettant sa phosphorylation n’ont pas encore été identifiées (Chabrolles et al. 2018). Cependant, des travaux suggèrent que les protéines kinases A et C, mais également les protéines kinases dépendantes des cyclines 1 et 2 jouent un rôle dans la phosphorylation du CTD. 5.4 Autoassemblage de la capside La protéine Core peut s’autoassembler in vivo et in vitro en capsides icosaédriques de triangulation T = 4 mais également en capsides icosaédriques de triangulation T = 3 (Figure 2.15.A). La majorité des capsides formées (environ 95 %) sont des capsides de type T = 4 (Venkatakrishnan et al. 2016; M. Nassal 1992). Ces capsides sont composées des 120 dimères de la protéine Core, présente sous 4 conformations différentes notées A, B, C et D. Les capsides T = 3 sont composés de 90 dimères de la protéine Core, présente sous 3 conformations notées A, B et C. 26 Figure 2.15 : Capside du virus de l’hépatite B. A) Structure des capsides du VHB