

Les hépatites virales

I-Introduction :

Les hépatites sont des lésions inflammatoire du foie dont les causes peuvent être multiples : infectieuses, médicamenteuses, auto-immunes etc

-Au plan clinique, on distingue l'hépatite aiguë, qui est une maladie autolimitée, de l'hépatite chronique, dans laquelle l'inflammation persiste au-delà de six mois

- Les causes les plus fréquentes des hépatites aiguës sont les infections virales et les médicaments.

-**les hépatites virale** sont liées soit a une action cytopathique directe du virus causal, Soit le plus souvent à la réaction immunitaire dirigée contre les cellules hépatiques infectées

- Les virus de l'hépatite A, B et C sont les causes les plus communes d'hépatite virale. D'autres virus (virus Epstein-Barr (VEB), cytomégalovirus (CMV), adénovirus, virus de l'herpès simplex et virus Cocksackie) peuvent causer une hépatite, mais le tableau clinique est dominé, non par l'hépatite, mais par les caractéristiques de la maladie virale aux virus Aet B, se sont ajoutés les virus C, D, E et G l'existence de virus non A, non B, non C, non D, non E, non G

II-Historique de l'identification des hépatites virales

L'existence d'ictères infectieux, contagieux et épidémiques est connue depuis l'antiquité

Ce n'est qu'en 1912 qu'une origine virale est supposée

1923 l'origine virale soit établie avec certitude

1947 : les hépatites A et B sont individualisées séparant ainsi les hépatites Infectieuses épidémiques A des hépatites à transmission sérique B

Le virus de l'hépatite B :1965

Le virus de l'hépatite A (HAV) en 1973

1989 (Virus de l'hépatite C, HCV

1990 virus de l'hépatite E (HEV).

1995. virus de l'hepatite G

McCallum	1947	Hépatite A Hépatite B
Blumberg	1965	Identification VHB
Feinstone	1973	Identification VHA
Rizzetto	1977	Identification VHD
Balayan	1983	Identification VHE
Houghton	1989	Identification VHC
Reyes	1990	Clonage VHE

	Hépatite A	Hépatite B	Hépatite C	Hépatite D	Hépatite E	Hépatite G
Famille virale	<i>Picornaviridae</i>	<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	Agent satellite de HBV	<i>Proche de Caliciviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>
Genre	<i>Hepatovirus</i>	<i>Orthohepadnavirus</i>	<i>Hepacivirus</i>	<i>Deltavirus</i>		
Symétrie	icosaédrique	icosaédrique	icosaédrique	sphérique	icosaédrique	
Présence d'enveloppe	NON	OUI	OUI	OUI	NON	
Taille du virion	27 à 32 nm	42 à 47 nm	50 nm	36 nm	30 à 34 nm	
Type de génome	ARN linéaire simple brin positif	ADN circulaire partiellement bicaténaire	ARN linéaire simple brin positif	ARN circulaire simple brin négatif	ARN simple brin positif	
Taille du génome	7,5 kb	3, 2 kb	9,5 kb	1,7 kb	7,5 kb	
Voie de transmission	Entérique	Sanguine, sexuelle, verticale	Sanguine	Sanguine et verticale	Entérique	Sanguine (sexuelle ?)
Temps d'incubation	Environ 30 j	30 à 120 j	4 à 12 semaines	40 j à 6 mois	15 à 60 j	
Présence de porteurs chroniques	NON	OUI	OUI	OUI	NON	OUI
Peut évoluer en hépatite chronique	NON	OUI	OUI	OUI	NON	¹
Peut évoluer en hépatite fulminante	OUI mais rare	OUI	OUI	OUI	OUI	¹
Traitement curatif	NON (une évolution favorable est la règle)	+/- (interféron) Très onéreux	+/- (interféron) Très onéreux	NON	NON	NON
Vaccin	OUI	OUI	NON	NON	NON	NON

+/- : traitement plus ou moins efficace.

¹ : Il semble que HGV ne soit pas pathogène.

III-les virus a transmission entérale :

1- Le virus de l'hépatite A (VHA) :

I) Introduction :

L'hépatite A, maladie liée au péril fécal, reste toujours d'actualité, la plus fréquente des hépatites aiguës dominée par l'évolution de son épidémiologie, comme celle de l'ensemble des maladies à transmission entérique. L'élévation du niveau de vie et l'amélioration des conditions d'hygiène ont favorisé la diminution de la circulation du VHA dans l'environnement, plus marquée dans les pays à haut pouvoir économique. Ceci a abouti à des expositions plus tardives et plus sévères pour les personnes non immunes.

Le diagnostic actuel de l'hépatite A est indirect par la détection des anticorps anti-VHA de type IgM qui est le premier examen à prescrire devant une hépatite aiguë. La mise en évidence des IgG traduit une exposition ancienne au VHA et ne sont recherchés qu'à la demande pour connaître l'état immunitaire. L'utilisation de l'amplification génique reste limitée à un but diagnostique, dans le cas d'hépatites persistantes (plus de 6 mois mais ne passe jamais à la chronicité), ou épidémiologique par la détermination des génotypes dont quatre regroupent les souches humaines.

La prévention de l'hépatite A est avant tout non spécifique par la lutte contre le péril fécal. La culture in vitro du virus a permis la mise au point de vaccins entiers inactivés, disponibles dans les pays industrialisés et dont les recommandations actuelles visent les sujets exposés professionnellement et les voyageurs non immuns séjournant dans les pays hyperendémiques pour le VHA.

Actuellement on pense à introduire le vaccin de l'hépatite A en Algérie puisque elle touche de plus en plus d'adultes jeunes et d'adolescents suite à l'élévation du niveau de vie et l'amélioration des conditions d'hygiène.

II) Historique :

En 1973, VHA a été identifié par immuno-microscopie électronique par Feinstone. L'adaptation de souches virales à la culture in vitro par Provost et al en 1979 et le clonage du génome viral en 1983 ont été les étapes déterminantes pour le développement de vaccins inactivés.

La réussite de sa culture a permis d'obtenir le 1^{er} vaccin disponible en 1992.

III) Caractéristiques virologiques

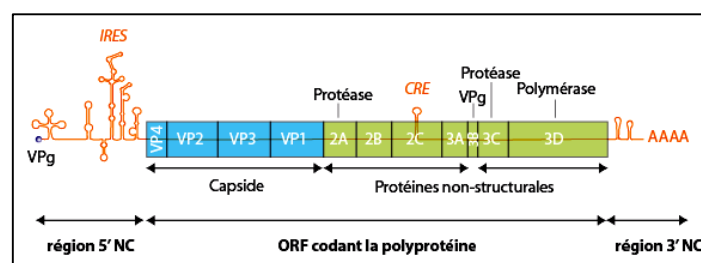
Famille	Picornaviridae
Genre	Hepatovirus
Espèce	VHA
Diamètre	27-32nm
Capside	Icosaédrique
Enveloppe	Absente
Génome	ARN positif, simple brin, linéaire
Site de réplication	Cytoplasme des hépatocytes

1-Classification

- A été identifié en 1973, il a été classé parmi les entérovirus, autrefois sous le nom d'entérovirus 72.
- Le VHA appartient à la famille des Picornaviridae, genre Hepatovirus, dont il est actuellement le seul représentant.

2-Structure

- Particule sphérique non enveloppée de 27nm de Ø.
- Capside Icosaédrique à 32 capsomères et de 60 protomères, (un protomère = constituée de protéines virales VP1, VP2, VP3, VP4.)
- Génome: ARN (+) simple brin : de polarité + donc directement infectieuse comprend 3 parties: une région conservée non codante en 5' liée à une protéine Vpg ou est situé le site ribosomal ; une région non codante terminée par un résidu poly A en 3'. Entre les 2 un large cadre de lecture subdivisé en trois domaines fonctionnels : la région P1 qui code pour les protéines structurales (VP1, VP2, VP3 et VP4), les régions P2 et P3 codant pour les protéines non structurales.



3-Structure antigénique

07 génotypes. Les génotypes I, II, III et VII définissent les souches humaines; les génotypes IV, V et VI ont été identifiés chez des souches simiennes.

4-Résistance physico-chimique

Elle est supérieure encore à celle observée pour les entérovirus. Il résiste à la chaleur (1h à 60°C, voire 80°C en présence de chlorure de magnésium), à l'éther à 10 % (24 h à + 4°C) et aux doses de chlore utilisées pour la chloration habituelle des eaux de boissons. Les conséquences de cette résistance explique en partie le mode épidémiologique de l'hépatite A.

Inactivation par chauffage : 20 min à 121 °C (autoclavage), par les UV, le chlore à 2-2,5 mg/L en 30 min, par le chlore à 2-2,5 mg/L en 30 min, par le glutaraldéhyde à 2 % en 1 min à 20 °C (désinfection des surfaces), par l'ozone à 0,25 à 0,39 mg/L à 20 °C (stérilisation de l'eau potable).

5-Cycle de réplication

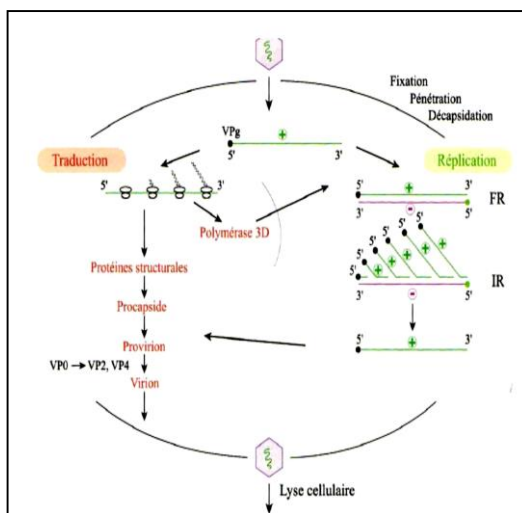
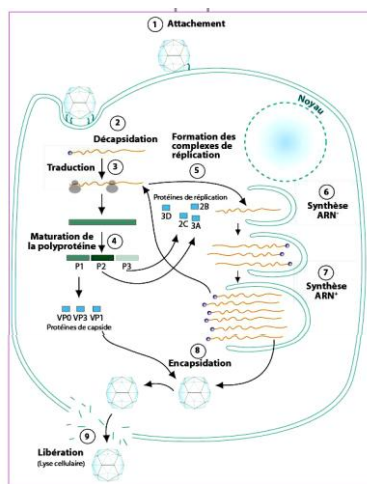
Aucune lignée cellulaire en routine ne permet de le cultiver. En recherche, le HAV a été cultivé sur cellules d'hépatome humain, puis adapté à des cellules de rein de singe et des cellules diploïdes humaines MRC5.

- entrée : La reconnaissance des récepteurs (mucine-like HAVcr-1) est assurée par la capside du virus. On pense que l'interaction avec le récepteur enclenche un processus d'endocytose, La décapsidation se produirait par une série de changements de conformation de la capside. En fin, l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme de la cellule.
- expression des protéines :
 - le VPg se détache de la région 5' non-codante ; l'ARN viral messager sans coiffe est directement lu par les ribosomes fixés sur une région appelée IRES (internal ribosome entry site) qui permet le recrutement des ribosomes et l'initiation de la traduction de l'ARN.
 - La grande ORF de l'ARN viral est traduite sous forme d'un précurseur polypeptidique ("polyprotéine") découpée en ses différents constituants par différentes protéases virales (2A et 3C ...). Les protéines **VP1**, **VP2**, **VP3** et **VP4** forment la capside du virus.
 - maturation (clivage) grâce à des protéases virales

○ Réplication

La réplication comporte la synthèse d'un brin d'ARN négatif à partir de la matrice positive et ensuite la synthèse de nombreux brins d'ARN + à partir de chaque molécule d'ARN

- Assemblage Les molécules d'ARN synthétisées sont alors encapsidées et le virus est libéré par lyse des cellules infectées. cependant la production virale de l'HAV reste faible et n'entraîne pas d'ECP



IV) Epidémiologie :

○ Distribution :

-L'épidémiologie de l'hépatite A, comme celle de l'ensemble des maladies à transmission féco-orale, s'est modifiée par l'élévation du niveau de vie et l'amélioration des conditions d'hygiène.

-L'hépatite A étant une maladie cosmopolite, trois niveaux d'endémicité définissant le risque de développer cette affection ont été caractérisés selon les niveaux socio-économique et sanitaire des pays.

- 1- **Zone de haute endémicité**: Correspond aux pays en voie de développement (prévalence des AC anti-HAV à l'âge de 20 ans atteint **70 à 100%**). les jeunes enfants sont immunisés très tôt. Cependant les épidémies s'observent chez les voyageurs non immuns

- 2- **Zone d'endémicité intermédiaire:** Amérique latine, Europe centrale ; Océanie et Asie (prévalence des AC anti-HAV moins importante 20 à 50%). Les conséquences de l'augmentation de la réceptivité au VHA sont une plus grande sévérité de l'infection chez les sujets les plus âgés et le risque d'éclatement de foyers épidémiques.
- 3- **Zone d'endémicité modérée :**Europe de l'ouest ;Amérique du nord et l'Australie, épidémie occasionnelles et localisées (surtout dans les collectivités préscolaires)
- 4- **Zone d'endémicité faible;** pays scandinaves et Japon : (1-5%) Le virus ne circule presque plus. Les individus sont très réceptifs à l'introduction du virus par un voyageur infecté ou lors du déplacement à des zones de haute endémicité.

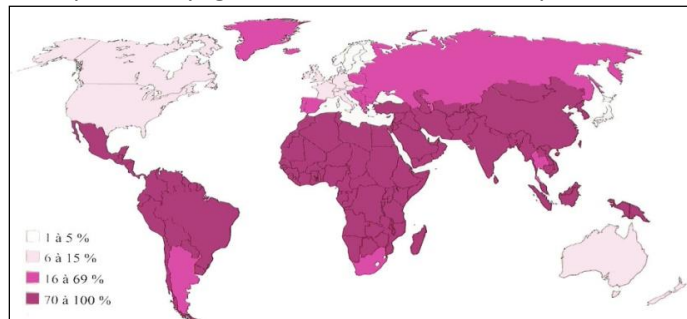
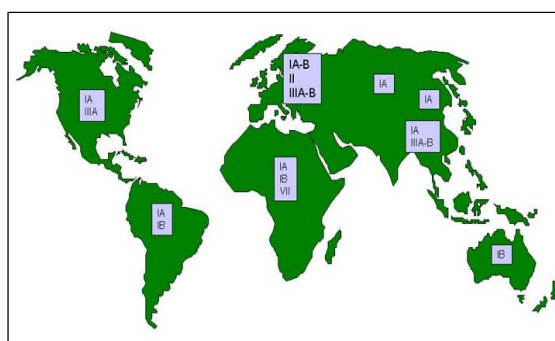


Tableau III : Localisation géographique des génotypes VHA

Génotype	Zones géographiques
I IA IB	- USA, Japon, Asie - Afrique Nord, Ouest, Est, Australie
II	- France
III IIIA IIIB	- Inde, Népal, Suède - Japon.
VII	- Sierra-Leone



Répartition géographique des génotypes de souches humaines du virus de l'hépatite A.

Transmission :

Réservoir de virus: l'homme et certaines espèces de primates
Le seul réservoir : les personnes infectées (malade ou non)

Dans les pays en voie de développement, ce sont les enfants qui constituent le réservoir de virus, alors que dans les pays industrialisés, ce sont à la fois les enfants et les adultes non immunisés.

Le VHA est transmis par voie entérale :

- Transmission directe Le passage direct de personne à personne
- principalement Transmission indirecte par contamination des aliments par les matières fécales infectées.

Le risque infectieux est majeur pendant les 2 à 3 semaines qui précèdent le début de la symptomatologie compte tenu des titres infectieux élevés du VHA lors de l'excrétion fécale (10^8 à 10^{10} /g de selles).

Il n'y a pratiquement pas de transmission du virus par les sécrétions, contrairement au VHB.

Le risque de transmission parentérale (notamment par transfusion) est très faible bien qu'une virémie VHA puisse être détectée dans le plasma pendant plusieurs jours, habituellement avant l'apparition de l'ictère. Malgré cela, aucun cas de transmission sexuelle (à l'exception des contacts oroanaux) ou materno-fœtale n'a été décrit.

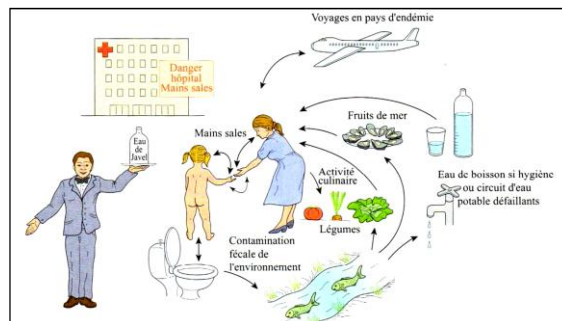
La présence du virus dans la salive rend compte des cas rares transmis par les sécrétions bucco-pharyngées.

Facteur de risque

Comme pour les autres virus hépatotropes, des populations à risque ont été récemment reconnues :

- Voyageurs en zone d'endémie,
- toxicomanes intraveineux,
- homosexuels,
- personnel de santé,
- groupes de nourrissons,
- de jeunes enfants et d'handicapés mentaux,
- et les personnes âgées vivant en résidences.

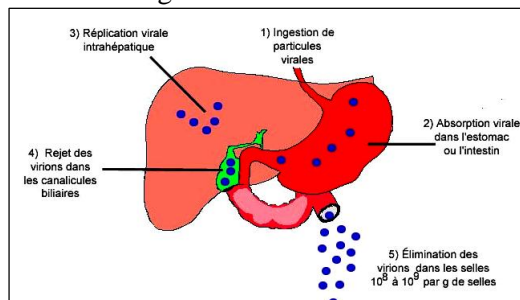
Ces sujets bénéficieraient d'une vaccination prophylactique contre le VHA.



V) physiopathologie :

Après pénétration à travers la barrière gastro-intestinale, l'hépatocyte semble être le seul site de répllication in vivo (tropisme uniquement hépatocytaire). Après multiplication, les virions sont éliminés dans l'intestin par les canalicules biliaires avec les selles pendant une durée de 4 à 6 jours avant l'apparition de l'ictère. Puis l'excrétion fécale décroît pour disparaître dans un délai de 2 à 3 semaines, cela explique que le sujet infecté est contagieux avant que la maladie se déclare.

La virémie est extrêmement brève (environ 1 semaine en moyenne). Précocement, à la phase aiguë, concomitante de l'excrétion dans les selles ; elle est 100 à 1000 fois plus élevée, on détecte dans les selles jusqu'à 10^9 /ml de particules virales contre 10^5 /ml dans le sérum et 10^3 /ml dans la salive. Le virus n'est pas excrété dans les urines ou dans les sécrétions vaginales.



Le VHA est peu pathogène vis-à-vis des hépatocytes. La cytolysé hépatique observée au cours de l'hépatite A serait liée à l'immunité à médiation cellulaire, à l'instar de celle observée au cours de l'hépatite B.

VI) Expression clinique

Incubation : De 2 à 6 semaines, selon la dose infectante (30 jours en moyenne).

Clinique

L'expression clinique et la sévérité augmentent avec l'âge : asymptomatique chez 90% des enfants avant 5ans, mais symptomatique chez 70-80% des adultes.

La forme ictérique commune

Représente plus de la moitié des formes symptomatiques.

- phase pré-ictérique (1 à 3 semaines) peu spécifique syndrome d'allure grippale: début souvent brutal, fièvre, anorexie, perte de poids, nausées, asthénie, arthralgies, urticaire.
- phase ictérique avec décoloration des selles, urines foncées, prurit (très rarement).
- examen clinique normal (parfois hépatomégalie).

Formes anictériques :

- asymptomatiques, ou manifestations extra-hépatiques isolées.
- mais élévation constante des transaminases.

Evolution

Au bout de 1 à 2 semaines, l'ictère disparaît et l'évolution est favorable en 2 à 3 mois à l'exception de la persistance d'une asthénie. Rappelons que **l'hépatite A n'évolue jamais vers la chronicité**. Quant à l'activité des aminotransférases, elle se normalise en 6 à 8 semaines.

Mais parfois, évolution vers une forme prolongée cholestatique (persistance des signes cliniques et/ou biologiques) ou avec rechute possibles dans 1 à 2 % des cas (survenant moins de 1 mois après la guérison apparente). Formes fulminantes exceptionnelles = 1 cas/10 000, plus fréquentes chez l'adulte (1/1 000). Le risque augmente avec l'âge pour atteindre 1 %. La létalité de l'hépatite A est de 0,6 % ; elle est plus élevée parmi les plus de 60 ans (1,5 %) et parmi ceux ayant une maladie chronique du foie.

En l'absence de manifestations cliniques, fréquentes avant l'âge de 4 ans, ce sont essentiellement les arguments épidémiologiques qui vont orienter vers une hépatite A :

- Contage familial ou professionnel,
- antécédent de séjour en zone d'endémie dans les 2 mois précédents,
- épidémie d'hépatite.

VII) diagnostic

Biologie hépatique :

- Élévations souvent importante des transaminases, avec ALAT>ASAT ;
- Cholestase inconstante (élévation de la bilirubinémie ne dépasse que rarement 200 μ mol/l)
- Les phosphatases alcalines sont normales ou modérément élevées

Diagnostic indirect

Le diagnostic d'hépatite A repose sur la détection dans le sérum d'anticorps spécifiques de classe IgM par technique ELISA.

La détection d'anticorps anti-VHA de type M par immunocapture affirme le caractère récent de l'infection. Les anticorps anti-VHA de classe IgM apparaissent dès le début des symptômes clinico-biologiques [1 à 5 semaines avant l'ictère, maximum 1 semaine après] et disparaissent en 2 à 6 mois et signant, seuls, le caractère récent de l'infection. La présence d'anticorps anti-VHA de classe IgG témoigne d'une rencontre ancienne avec le VHA et ne peut en aucune façon rendre compte d'une hépatite aiguë ; à l'inverse, leur présence signe une immunité durable et efficace. Il n'y a pas de portage chronique du VHA ni d'hépatite chronique liée au VHA. On parle d'hépatites persistantes quand les IgM persistent plus de 6 mois mais ne passe jamais à la chronicité.

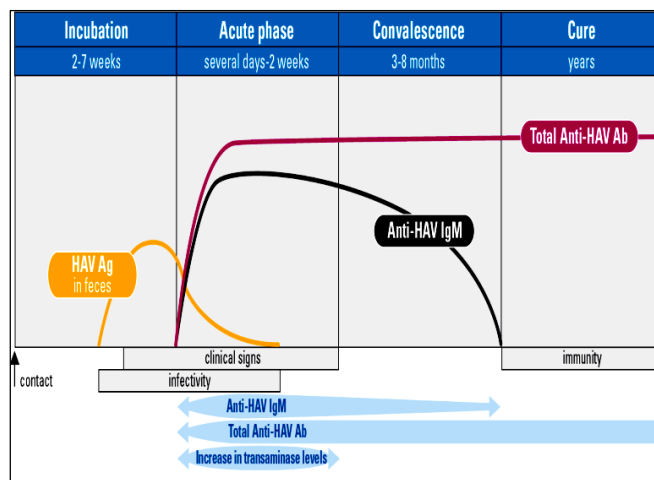
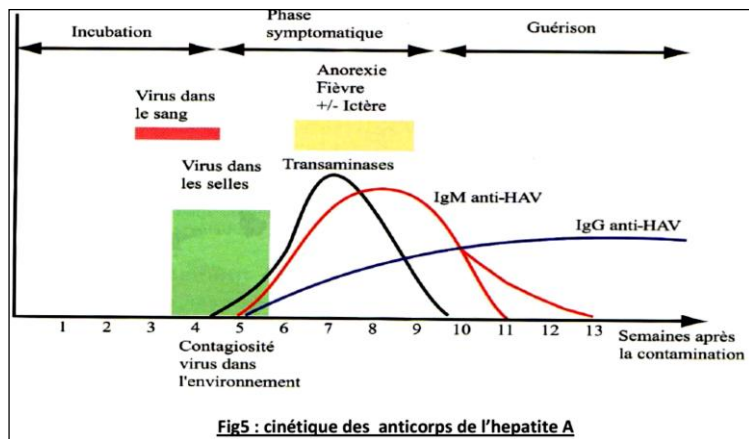


Tableau V : Interprétation de la sérologie VHA

Anti-VHA totaux	Anti-VHA Classe IgM	Conclusion
+	++	Hépatite A en cours ou récente.
+	±	Convalescence d'hépatite A ou vaccination récente.
+	-	Anti-VHA de type IgG. Soit contamination ancienne par le VHA. Soit sujet vacciné contre l'hépatite A. Soit sujet ayant reçu des immunoglobulines. Soit nouveau-né de mère anti-VHA positif.

- [La recherche d'une séroconversion en IgG anti-HAV n'est pas faite car, avec une incubation de durée moyenne de 3 à 5 semaines, le patient est vu après la séroconversion].
- hépatites A fulminantes, on observe précocement des IgM anti-VHA à haut titre
- On a aussi dosé les IgA anti-VHA sériques, ces anticorps apparaissent

Diagnostic direct

La place du diagnostic direct est limitée Dans un but d'épidémiologie,

- **Culture** très difficile : Animaux: marmouset ; Culture sur système cellulaire: AGMK
- **Mise en évidence du virus et des constituants viraux** L'ARN du virus peut être recherché dans le sang ou dans les selles.
 - Dans les selles: On peut rechercher :
 - Les particules virales par immuno-microscopie électronique
 - Les antigènes VHA Par radio-immunologie en phase solide (RIA). Ou immuno-enzymatique
 - Dans les selles et le sérum: -Le génome du VHA peut être recherché par l'amplification génique PCR hybridation par sonde ADNc ou ARN
- Ce sont les séquences du génome les plus conservées qui sont amplifiées par réaction de polymérisation en chaîne précédée d'une transcription inverse (RT-PCR) : région 5' non codante, VP1/VP3, région 3D codant pour l'ARN polymérase
- Dans le foie: rechercher *in situ* du génome viral ou plus simplement des antigènes VHA par immunofluorescence ou par immuno-peroxydase

VII) Prise en charge

Traitement curatif

Il n'y a pas de traitement des hépatites virales aiguës communes. Le repos strict et un régime alimentaire particulier ne sont pas nécessaires.

Prévention non spécifique

Comme toutes les maladies du péril fécal, la lutte contre l'hépatite A repose avant tout sur l'amélioration des conditions d'hygiène, à la fois sur le plan individuel et collectif.

Hygiène individuelle

- Hygiène corporelle,
- Lavage des mains après les toilettes,
- Brossage des dents avec de l'eau bouillie ou de l'eau embouteillée.

Education sanitaire, à appliquer surtout par le voyageur en zone d'endémie :

- Cuisson des aliments (> 100 °C)
- Eviter la consommation de fruits ou de légumes, coquillages crus ou peu cuits
- Eviter la natation dans de l'eau souillée par les eaux usées.

Hygiène collective

Assainissement : l'élimination des eaux usées dans de bonnes conditions au sein des communautés,

Eau potable

- Ebullition pendant 5 minutes,
- utilisation de dérivés chlorés : pour un litre d'eau : 1cp de dichloroisocyanurate de sodium ou 1 cp de chloramine T, temps de contact de 30 minutes à température ambiante,
- Pour de plus grandes quantités d'eau : chlore à la concentration de 3,25 ppm, temps de contact : 30 minutes à température ambiante

Prévention spécifique

L'immunoprophylaxie passive par administration d'Ig standards fut la première étape pour la prévention de l'hépatite A. Cette stratégie a été abandonnée depuis la disponibilité de vaccins contre l'hépatite A en 1992 et la diminution de la séroprévalence anti-VHA dans la population générale et donc la difficulté pour obtenir des immunoglobulines avec un taux protecteur (10-20 UI/L).

Elle offrait une protection presque immédiate contre l'infection à VHA dans les 3 à 5 jours mais ne conférait qu'une immunité de courte durée (3 mois environ).

Vaccin= virus A cultivé sur cellules d'origine humaine, purifié et inactivé. Induit la production d'anticorps spécifiques anti-VHA chez 99 % des sujets vaccinés.

Schéma :— 2 injections à 1 mois d'intervalle.— Puis rappel 6 à 12 mois après la première injection. Avec une totale innocuité.

Les recommandations actuelles concernent les sujets exposés professionnellement et les voyageurs séjournant dans les pays hyper-endémiques pour le VHA.

2- VIRUS DE L'HEPATITE E :

- Observé la 1ere fois en 1983 dans les selles de patients atteints d'hépatite « non A non B »,
 - la séquence complète du génome du virus de l'hépatite E (HEV) n'a été connue qu'en 1990.
 - C'est un petit virus nu dont le génome est de l'ARN simple brin à polarité positive.
 - c'est une zoonose :(le seul virus humain et animal)
 - Il est responsable d'hépatite aigue, particulièrement grave chez les femmes enceintes.
- Avec risque d'hépatite fulminante dans 4% de cas et jusqu'à 20% chez la femme enceinte au 3etrimestre
- on parle actuellement de chronicité chez les immunodéprimés
 - La transmission inter humaine de ce virus se fait par voie fécale-orale ; eau et aliments souillés.

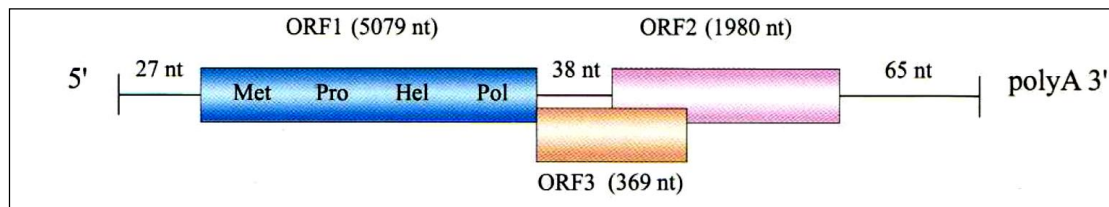
1/CLASSIFICATION

La position taxonomique n'est toujours pas définitivement fixée, sa taille de 27 à 34 nm de diamètre et sa structure le rapprochent des calicivirus, alors que son génome présente des similitudes avec le virus de la rubéole.

Reclasser en 2003(avant=calicivirus) comme étant le seul virus du genre hepevirus de la famille des hepeviridae avec 4 genotypes : 1 et 2 strictement humain, 3 et 4 également identifiés chez des animaux (porc,sanglier,cerfs,recement chez le lapin)

2/ STRUCTURE DU VIRUS

- Petit virus de structure icosaédrique non enveloppé
- Le génome est une molécule d'ARN de 7500 nucléotides, simple brin et de polarité positive
- Ce génome comprend 3 cadres ouverts de lecture (ORF) entourés de régions non codantes en 5' et 3' :
 - Orf 1 : code pour des protéines non structurales (protease, helicase et une ARN polymérase)
 - Orf 2 : pour la protéine majeure de la capside
 - Orf 3 code pour une petite protéine dont la fonction reste inconnue.
- La comparaison des séquences génomiques montre que le virus se subdivise en 3 génotypes : le 1er asiatique, le 2e mexicain et 3e nord-américain



3/ MULTIPLICATION DU VIRUS

- La multiplication du virus dans les hépatocytes a été rapportée mais il s'agit d'expérimentations limitées ne permettant pas de connaître l'ensemble du cycle réplcatif.

4 / EPIDEMIOLOGIE

- **Distribution mondiale** : endémo-épidémique dans de nombreuses régions défavorisées du monde en Asie, Afrique et en Amérique du centre et du sud.
En Algérie : épidémie à Médéa 1980 = mort de 09 femmes enceintes par défaut de chloration des eaux
En France : c'était un virus d'importation qui est devenu autochtone ; une étude récente a montré que la prévalence du VHE est de 50% due à la consommation de charcuterie
- **Réservoir de virus** :
 - L'H infecté élimine le VHE avec les fèces pendant une période brève de quelques semaines (individus, porteurs ou non d'anti-VHE)
- **Transmission** :
 - Excrété pendant une durée s'étendant de quelques jours à quelques semaines
 - surtout transmise de manière indirecte (contamination fécale de l'eau d'alimentation)
 - transmission interhumaine directe du VHE est accessoire
 - La transmission par le sang et par les produits dérivés du sang est possible puisqu'il existe une phase de virémie transitoire pendant la phase prodromique : elle semble exceptionnelle

5/ ASPECTS CLINIQUES

- les signes cliniques ne le différencient pas des autres hépatites aiguës.
- L'incubation dure 30 jours avec une phase pré ictérique de 1 ou 10 jours avec nausées, vomissement et douleurs épigastriques et la phase ictérique dure 15 à 40j et
- Les formes asymptomatiques se voient chez les enfants de – de 15 ans.
- plus grave que l'hépatite A : le risque d'hépatites fulminantes est de 4% et maximale chez les femmes enceintes au 3e trimestre HF = jusqu'à 20%
- on parle actuellement de chronicité chez les immunodéprimés les transplantés ; hépatopathie chronique ; VIH si elle dépasse 3 mois et son évolution vers la cirrhose et le CHC est bcp plus rapide que celle de l'hépatite C

6/ DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

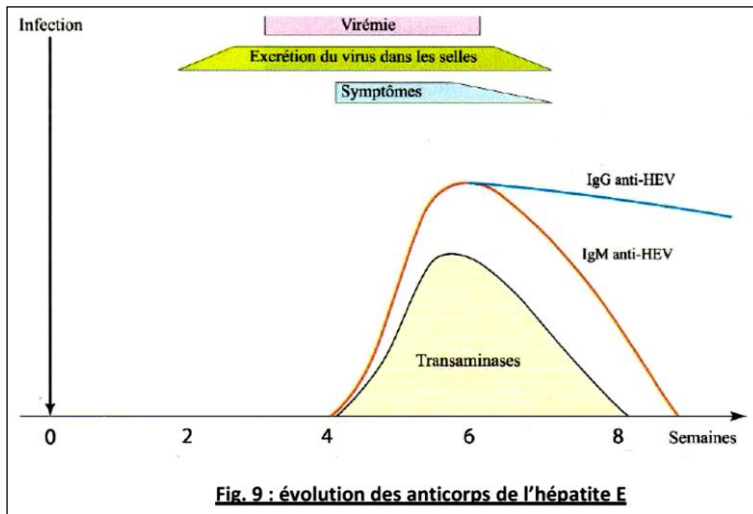
Diagnostic direct :

- mise en évidence du virus dans les selles par immunomicroscopie électronique ; immunofluorescence sur biopsie hépatique (antigène cytoplasmique) ou par technique immuno-enzymatique sur selles (mais brièveté de l'excrétion du virus : 1 semaine après apparition de l'ictère).
- Détection du génome par RT-PCR plus simple et plus sensible.

Diagnostic indirect :

- Recherche par Elisa des IgM et des IgG, est actuellement la seule utilisée en dépistage

- mais il faut prélever le sérum moins d'un mois après l'apparition des signes cliniques pour avoir les IgM et démontrer le caractère aiguë de l'infection.
- On peut rechercher les anticorps anti-VHE IgG, ils sont fréquemment détectables dès la phase aiguë (95 à 100 %), mais la persistance des IgG fait l'objet de discussions
- Des IgA anti-VHE peuvent aussi être retrouvées à la phase aiguë chez plus de 50 % des sujets



L'hépatite chronique chez les immunodéprimés est définie par l'augmentation persistante des transaminases associée à la présence du VHE par RT-PCR dans le sang ou selles pendant au moins 6 mois.

6/ TRAITEMENT ET PREVENTION

-trt prophylactique :

- des mesures d'hygiène s'imposent
- L'efficacité d'une immunothérapie passive contre le VHE n'a jamais été appréciée,
- Afin d'éviter un certain nombre de cas mortels, il est déconseillé aux femmes de voyager en zones d'endémie au cours du troisième trimestre de la grossesse
- Un vaccin serait à l'étude : essai phase 3 au Népal sur 2000 personnes et il a donné de bons résultats

Trt curatif

- pas de traitement des hépatites virales aiguës
- Le repos strict et un régime alimentaire particulier ne sont pas nécessaires.

Sont à éviter : la corticothérapie, l'alcool et les oestroprogestatifs (arrêt pendant 3 à 6 mois) et les traitements médicamenteux afin d'éviter tout facteur hépatotoxique associé

Prévention :

- Amélioration des conditions d'hygiène
- Traitement des eaux usées
- Surveillance des réseaux de distribution des eaux dans les régions endémiques
- Précautions à prendre pour les voyageurs dans les zones endémiques tels que l'ébullition d'eau de boisson et préparation des aliments

Diagnostic virologique :

I-Les indications des examens virologiques :

Les médecins ont du mal à trouver la place des examens virologiques en pratique courante. Un tiers des patients consultent pour une infection virale dont le diagnostic ne peut être posé avec certitude sans examen virologique, mais le plus souvent ils se contentent d'un diagnostic de présomption et voient guérir leurs patients sans le secours d'un examen virologique. Les examens virologiques déçoivent par leurs réponses tardives et généralement négatives et très coûteuses.

Les prélèvements :

Il est essentiel d'exécuter les prélèvements le plus tôt possible. Au cours d'une infection virale aiguë l'excrétion du virus ne dure que quelques jours. Il est généralement inutile d'isoler le virus après une semaine.

Les virus comme ils sont des parasites cellulaires obligatoires, il convient d'isoler des cellules infectées et pas seulement des sécrétions. Il est souhaitable de prélever sans désinfection préalable pour ne pas inactiver certains virus.

Le siège du prélèvement est soit au niveau des lésions si elles sont visibles ou bien au niveau de la porte d'entrée. Les prélèvements doivent être maintenus à plus 4 degrés (parfois -20 degrés) et doivent parvenir rapidement au laboratoire.

II-Les principaux prélèvements directs sont :

Le LCR
Le liquide de vésicules
Le prélèvement de gorge, salive
Le prélèvement des urines
Les prélèvements rectaux, nasaux

2-Pour les sérodiagnostics :

Le diagnostic sérologique d'une infection virale est la mise en évidence d'anticorps dans le sérum du malade mais repose sur la constatation d'une élévation du titre des anticorps. L'un précoce au début de la maladie et l'autre tardif 10 à 15 jours plus tard. Les deux sérums doivent être traités de la même façon en même temps par les mêmes mains et avec le même matériel, pour être significative l'élévation du titre doit être au moins de deux dilutions.

III-Diagnostic direct :

1-Les examens microscopiques :

Au microscope optique : pour certains virus, l'examen des tissus permet d'observer l'effet cytopathique (l'ECP). On observe les lésions induites par la multiplication du virus sous forme d'inclusions (les corps de Negri), d'autres déformations cellulaires sous forme de syncytia (myxoviridae).

2-Les techniques d'isolement du virus :

Ce sont des techniques plus complexes. Les virus sont des parasites cellulaires et ne peuvent se multiplier qu'en pénétrant dans des cellules vivantes. Différents systèmes cellulaires peuvent être utilisés : les animaux, l'œuf de poule embryonné ou les cultures cellulaires.

A-l' 'inoculation à l'animal :

Cette méthode est lourde et dangereuse et fastidieuse pour les manipulateurs. L'inoculation à des souris nouveaux-nés est encore utilisée pour l'isolement des arbovirus et de certains virus ne pouvant pas se multiplier en cultures cellulaires. (Recherche des coxsackies A).

B-l' 'inoculation à l'œuf de poule embryonné :

Elle est utilisée pour l'isolement de certains virus comme le virus grippal à partir des prélèvements pharyngés et pour la préparation du vaccin grippal et la fièvre jaune.

C-l' 'inoculation aux cultures cellulaires :

Les cultures cellulaires constituent le système le plus utilisé. Le choix des cultures cellulaires inoculées dépend des virus suspectés en fonction de l'orientation clinique.

-les différents types de culture cellulaire :

-Les cultures de première explantation (cultures primaires) :

La première génération cellulaire issue d'un tissu fraîchement obtenu (leucocytes, humains, membrane amniotique..) constitue une culture cellulaire primaire. Le tissu est traité par la trypsine pour libérer les cellules de la trame conjonctive. Ensuite elles sont mises en suspension dans un milieu approprié contenant 10 % de sérum de veau et des antibiotiques. Elles se fixent à la surface du récipient et s'y multiplient.

-les lignées diploïdes :

On peut établir à partir de tissu embryonnaires humains des souches cellulaires dont le caractère diploïde peut être maintenu pendant au moins 70 passages.

-les lignées continues :

Dérivant des cellules tumorales, ce sont des cellules transformées présentant des anomalies chromosomiques et pouvant se multiplier indéfiniment. Ces cellules sont couramment utilisées par les laboratoires.

D-l' 'observation de l'effet cytopathogène :

-examen à l'état frais : la transparence des boîtes de culture permet l'observation au microscope à l'état frais, à de faibles grossissements. On peut apprécier l'apparition et l'évolution des lésions provoquées par un virus ou sur l'ensemble de la nappe cellulaire.

-examen après fixation et coloration : on peut réaliser des cultures sur lames microscopiques puis les fixer et les colorer par une technique classique comme celle de Giemsa. L'ECP se définit par des altérations morphologiques des cellules décelées au microscope optique. Les lésions peuvent être cytoplasmique (entérovirus réovirus), nucléaires (adénovirus, herpès virus) et lésions avec syncytium (myxovirus).

E- Les témoins de la multiplication virale :

La multiplication virale est révélée par la production, dans les cultures cellulaires des composés viraux.

1-la neutralisation de l'effet cytopathogène d'un virus par un immun sérum spécifique permet son typage

2-la mise en évidence d'une activité enzymatique : qui est spécifique du virus comme la timidine kinase du virus herpétique.

3-la recherche d'antigènes viraux : on peut les révéler par une propriété particulière le pouvoir hémagglutinant des myxovirus et surtout par les méthodes immunologiques immunofluorescence :

Qui s'applique à la mise en évidence de cellules infectées au sein des prélèvements exemple un fragment d'organes obtenus par biopsie ou autopsie dont on fait des empreintes sur lame, fixés à l'acétone cette préparation rend les cellules perméables aux anticorps. Pour détecter les cellules infectées on utilise une batterie d'anticorps spécifiques de chacun des virus suspectés, ces anticorps sont obtenus par immunisation d'animaux ou sélection d'anticorps monoclonaux, immunoenzymatique ou ELISA :

Qui signifie enzyme Linked immunosorbent Assay cette technique se fonde sur la propriété de certains plastiques traités d'absorber de façon stable anticorps ou antigènes, leur présence dans le prélèvement est finalement décelée par une immunoglobuline conjuguée (linked) à une enzyme celle-ci choisie de sorte que son substrat ajouté en fin de réaction se colore avec une intensité mesurable en densité optique (DO). cette DO qualifie la réaction antigènes-anticorps et immunoprécipitation

3-identification des protéines virales : par électrophorèse.

4-la mise en évidence du génome viral : si l'on dispose d'une sonde nucléique courte séquence nucléotidique marquée par du phosphore radioactif.

F-quantification virale :

L'idée repose sur la notion intuitive qu'une maladie virale est à priori liée à la multiplication du virus donc à la quantité du virus présent dans l'organisme au cours d'infections virales chroniques (sida, hépatites), ou les signes cliniques sont insuffisants pour suivre l'évolution de l'infection. Dans le cas d'une infection par le VIH, la mesure de la charge virale est un examen proposé pour établir un pronostic de l'infection, indiquer la mise en route d'un traitement puis en surveiller l'efficacité. La détermination de la virémie est remplacée par la PCR qui est une technique d'amplification. La détection du produit amplifié se fait par hybridation en phase solide.

IV-Les Sérodiagnostics viraux :

Ils révèlent et quantifient les anticorps spécifiques présents dans le sérum du malade. il est impératif de comparer les résultats de deux examens successifs (j0 et l'autre à j 15).

La présence des IgM témoigne une infection récente et ce sont les premiers à apparaître au cours d'une primo-infection. Les témoins de la multiplication virale sont utilisés pour mettre en évidence un anticorps spécifique.

Méthode d'étude des virus

A-Introduction :

Les virus ne peuvent se multiplier que dans des systèmes cellulaires vivants. L'étude des virus passe par l'isolement de ce matériel, c'est une étape indispensable pour la production des vaccins viraux ou la mise en point des tests de diagnostics. Les virus font l'objet d'études qualitatives qui concernent l'organisation interne des particules virales et quantitatives qui cherchent à obtenir des informations sur les événements qui aboutissent à la production des virions, ainsi qu'à en estimer la quantité produite au cours du cycle de multiplication virale.

B-Purification :

Pour étudier un virus du point de vue chimique et de sa structure, il faut d'abord l'isoler et le purifier.

Différents procédés de purification peuvent être utilisés en fonction des propriétés structurales, physico-chimiques et biologiques des virus étudiés.

I-choix de l'hôte pour la multiplication virale :

La plupart des virus des animaux se multiplient chez l'hôte dont on peut choisir soit l'animal ou son organe en survie ou dans les systèmes cellulaires in vitro. Dans tous les cas l'hôte doit permettre d'obtenir des concentrations en virus élevées.

1-Tampons d'extraction :

a-Broyage :

Les tissus de l'hôte chez lesquels le virus s'est multiplié sont broyés mécaniquement par des ultrasons. Les tissus broyés sont repris dans un tampon car il peut extraire plus ou moins le virus mais peut provoquer une altération grande des virions.

b- le Ph. :

Il favorise la suspension ou provoque la précipitation des virions selon la nature.

c-autres éléments :

On peut additionner le tampon de certains réducteurs (bisulfite, acide ascorbique).

II-Clarification des extraits cellulaires :

Il existe un certain nombre de techniques qui permettent de séparer les virions des autres constituants cellulaires à partir d'un extrait brut.

1-centrifugation à basse vitesse :

C'est le procédé le plus couramment utilisé. Les virus sont des agents infectieux de nature particulière qui peuvent être sédimentés par application d'une force de centrifuge. On identifie deux types de centrifugation (la centrifugation différentielle et la centrifugation en gradient de densité). Une centrifugation entre 3000 et 10000 pendant 10 à 30 minutes permet de se débarrasser de la plupart des particules en suspension sans sédimenter les virions. On doit adapter la vitesse et le temps de centrifugation au virus étudié.

a-centrifugation différentielle :

C'est la méthode la plus simple, elle consiste à soumettre une suspension contenant des particules virales par rotation à une force centrifuge, on obtient deux fractions le culot et le surnageant. Il existe quatre milieux pouvant servir à la centrifugation, on a les sels inorganiques (chlorure de césium), les molécules organiques (saccharose, tartrate de potassium), les molécules aromatiques iodées et la silice colloïdale.

b-centrifugation en gradient :

Deux types de gradient sont couramment utilisés, le gradient discontinu et le gradient continu.

-Gradient discontinu :

Préformé en utilisant dans le tube de centrifugation des couches successives de moins en moins concentrées, les virus vont migrer dans la couche qui correspond à leur densité. Cette méthode rassemble dans un même gradient les particules ayant des densités proches.

Gradient continu :

Sont préparées en utilisant un formateur de gradient en superposant différentes concentrations dans un tube à centrifugation en laissant diffuser une nuit à 4°C. Ce gradient permet une meilleure séparation et sépare les particules très proches.

2-dénaturation thermique :

On peut provoquer la dénaturation et la précipitation soit par chauffage à 50°C ou 60°C pendant 10 à 15 minutes ou par congélation. Les substances précipitées ou congelées sont éliminées par centrifugation ou filtration.

3-utilisation des solvants organiques :

On peut les utiliser pour éliminer les substances contaminantes. Les solvants les plus utilisés sont le chloroforme et l'éthanol, en mélange ou séparément l'éthanol ou le fréon

III-Obtention des virions à partir des extraits clarifiés :

1-précipitation par addition de sels :

C'est un procédé très ancien qui ne conviendra pas à tous les virus, elle utilise le sulfate d'ammonium au tiers de sa saturation. Cependant elle est recommandée pour la préparation du vaccin de la grippe.

2- Précipitation au point isoélectrique :

Ce procédé est fondé sur le fait que les protéines sont solubles à leur point isoélectrique et y précipitent généralement. On peut procéder à des précipitations fractionnaires en ajustant le pH et les concentrations de sel et on peut séparer les fractions infectieuses.

3- Précipitation par le polyéthylène glycol :

Le procédé est très efficace et il convient à un grand nombre de virus. En jouant sur la concentration du polyéthylène glycol et séparer les différentes fractions du virus.

4-Filtration sur Gel :

Ce procédé est très utilisé pour séparer les molécules en fonction de leur taille. Le gel d'agar est constitué de granules qui permettent la diffusion des liquides et des molécules de petites tailles jusqu'à ce que leurs dimensions ne leur permettent d'aller plus avant.

Sépare les particules d'après leur taille, la phase stationnaire est présente sous la forme d'un gel de billes dont la taille de pores est constante. Les particules de la phase mobile d'une dimension plus grande que le diamètre des pores ne pénétreront pas les billes et traverseront très rapidement le gel. Les particules de plus petite taille pourront traverser les pores et seront retenues dans les billes. Une élution différentielle proportionnelle à la taille et à la masse des particules en présence pourront être obtenues.

5-chromatographie :

On utilise la chromatographie sur colonnes pour séparer les pores et seront retenues dans les billes. ne échangeuse d'ions pour purifier les virus. la chromatographie sur colonne DEAE séphadex a donné des résultats satisfaisants dans le cas du virus de la polio.

6-ultracentrifugation :

C'est le moyen le plus utilisé pour concentrer et purifier les virus. On peut alterner les cycles de haute et de basse vitesse

7-autres procédés :

Les méthodes sérologiques sont applicables à certains virus. Les virus sont précipités par un antisérum spécifique et les anticorps sont éliminés par digestion enzymatique.

C-Méthodes d'étude physico-chimique :

Ces méthodes établissent les principaux paramètres qui caractérisent le virion. Elles tendent à déterminer certains aspects de la réplication virale

I-Microscopie électronique :

Elle détermine l'existence de substructures dans le cas des virus. Elle utilise un faisceau d'électron envoyé sur un objet préparé pour la circonstance et qui, et, qui focalisé par des lentilles électromagnétiques se comporte comme des photons.

1- technique d'ombrage :

Elle consiste à vaporiser sur l'objet des particules de métaux comme le chrome, le platine ou l'uranium sous un angle connu ; on obtient à la direction de la vaporisation une région imperméable aux électrons et qui sur les photographies donne l'impression d'une ombre dont l'importance dépend à la fois de l'angle sous lequel la vaporisation a été effectuée et de la hauteur et l'épaisseur de l'échantillon étudié. Connaissant l'angle d'ombrage on peut calculer l'épaisseur de l'objet.

2-techniques de coloration :

Les colorants utilisés sont des dérivés des métaux lourds (tungstène, uranium) peu perméables aux électrons :on distingue deux types de coloration, la coloration positive ,l'objet réagit chimiquement avec le colorant et devient ainsi opaque aux électrons et la coloration négative ,le colorant ne réagit pas l'objet ,on travaille au voisinage de la neutralité ou l'objet est enrobé par le colorant qui pénètre dans les plus petits de ces interstices .Les détails de l'objet apparaîtront sans difficulté en clair sur fond noir .

3-visualisation des acides nucléiques :

L'observation des acides nucléiques nécessite la mise au point de microscopie électronique spécifiques :

a-technique de Kleischmidt :

Elle repose sur l'enrobage des acides nucléiques par une protéine basique, elle-même étalée sous forme de film sur une phase aqueuse

b-technique de Dulochet :

Elle part du principe que, si l'on peut charger une grille de ME positivement avec une molécule basique, les acides nucléiques se fixent directement sur la grille sans préparation préalable.

II-Diffraction des rayons X :

Elle permet d'établir la structure tridimensionnelle des macromolécules simples

(Protéines, acides nucléiques); Dans le cas de virus, elle permet à être utiliser pour comprendre l'organisation des particules virales ainsi que le repliement spatial des chaînes polypeptidiques

III-Diffractions des neutrons :

Elle complète la précédente

IV-Diffraction optique

Elle est utilisée pour l'analyse des images de ME l'objectif est d'avoir de manière claire les détails répétitifs présents sur une micrographie

V-Electrophorèse :

Le principe de l'électrophorèse est basé sur la migration des particules chargées sous l'influence d'un champ électrique et divers systèmes ont été mis au point :

1-Electrophorèse de zone :

On dispose la suspension contenant les particules à séparer d'un tube en U, puis on fait passer un courant électrique dans la suspension .Selon le PH la solution les particules vont migrer vers l'une ou l'autre des électrodes.

3-Electrophorèse en gradient de densité :

On peut améliorer la précédente en disposant dans chacun des bras du tube en U un tampon additionné de saccharose dont la concentration décroît régulièrement du bas vers le haut. On introduit les particules à séparer et on fait passer un courant.les particules migrent en fonction de leurs charges et se répartissent en bande dont la stabilité est assurée par le gradient de densité.

2-Electrophorèse en gel :

C'est l'électrophorèse sur papier, papier qui intervient que comme support et non dans le processus de séparation .Les gels sont visqueux et présentent un fort coefficient de frottement .ce milieu prévient la convection et minimise la diffusion mais participe à la séparation des molécules en faisant intervenir la filtration moléculaire

4-Electrophorèse en système continu :

5-Electrophorèse en système discontinu :

VI- Electro focalisation :

Elle consiste à pratiquer une électrophorèse dans un milieu solide ou liquide où on a établi un gradient de Ph. En milieu solide on mélange les produits à séparer avec de l'acrylamide et des ampholines qui établiront le gradient de Ph, le tout est polymérisé en plaque et le courant est appliqué. En milieu liquide la solution, additionnée d'ampholine dans laquelle se déplacent les constituants est un gradient de saccharose. Les divers composants de l'échantillon migrent vers l'électrode qui a une charge opposée à la leur. A cause du gradient de Ph, leur charge diminue durant cette migration jusqu'à ce qu'il arrive à la zone de Ph correspondant à leur point isoélectrique ; leur charge s'annule et leur migration s'arrête.

VII-Ultracentrifugation :

Elle consiste à appliquer à des suspensions de virus des forces centrifuges élevées et à provoquer ainsi la sédimentation des particules. Elle peut être utilisée d'une manière préparative pour purifier des suspensions virales mais elle est également utile sous sa forme analytique pour distinguer dans une préparation les divers constituants qu'elle contient et les caractériser par leur constante de sédimentation appelée Svedberg.

1-Ultracentrifugation gradient de densité :

Elle a été utilisée par Brakke en gradient de densité de saccharose en disposant dans un tube des couches successives de solutions sucrées de moins en moins concentrées. Un dispositif spécial permet au tube en centrifugation de se retrouver rapidement à la verticale au cours de la décélération de l'appareil, ce qui permet de maintenir la séparation obtenue au cours de la centrifugation.

2-Ultracentrifugation de zone :

On peut aussi utiliser un gradient continu de densité de saccharose et séparer les constituants sur la base de leur vitesse.

VIII -Hybridations moléculaires :

Les deux brins de l'ADN pouvaient se séparer sous l'action de la température. Si les deux brins dissociés et si sont refroidis brusquement il n'y a pas de réversibilité par contre si les deux brins dissociés et refroidies lentement, il y a une réversibilité et elle correspond au rapprochement des deux brins. L'isolement des complexes hybrides peut s'effectuer de plusieurs manières :

- la plus ancienne technique consiste à isoler le complexe hybride après traitement par la RNA polymérase sur gradient de densité dans ce cas le complexe bi caténaire étant moins dense que les molécules monocaténares
- par chromatographie sur colonne d'hydroxyapatite
- la technique la plus utilisée consiste à hybrider sur filtre de nitrocellulose, on procède à des hybridations entre deux préparations de DNA ou entre DNA et RNA.
- Autre technique qui consiste à faire migrer sur gel d'agarose le DNA avec un autre DNA puis on procède à une hybridation sur répliques.

D-Titrage des virus :

I-utilisation des animaux :

Les animaux les plus couramment utilisés sont les oiseaux (poulet), les rongeurs (souris, rat et lapin) et le singe.

Le choix de la voie de l'inoculation dépend des virus et de son tropisme. L'évaluation du titre du virus se fait sur broyats clarifiés du tissu ou de l'organe infecté.

L'extrait est dilué de manière à obtenir des suspensions dont les concentrations sont dans un rapport constant. Chacune de ces dilutions est inoculée à un nombre d'animaux suffisant pour que les résultats sont significatifs (en général 5 à 8 dilutions) et on note un nombre d'animaux suffisant qui, au bout d'un temps donné, présentent des symptômes d'infection. On calcule le titre du virus présent dans l'extrait par l'expression de la dose létale de 50% (DL50). la quantité de virus capable de provoquer la mort chez 50% des animaux infectés. la précision de la méthode est très faible.

I-utilisation des cultures cellulaires :

1-Méthodes d'obtention des cultures cellulaires :

a- Les cellules cultivées proviennent de l'animal sain et de son organe ou des tumeurs et les tissus utilisés sont des tissus épithéliaux ou fibroblastiques. On distingue les cultures primaires aux cellules issues de la mise en culture d'un fragment de tissu issu d'un animal et dégénèrent au bout du deuxième ou troisième repiquage et le nom de cultures secondaires à celles qui sont issues du repiquage d'une cellule primaire. et peuvent être cultivées pendant une cinquantaine de générations. les cellules peuvent se transformer spontanément et se traduisent par des modifications morphologiques. Cette transformation est liée à la nouvelle capacité qu'a la cellule de subir un nombre indéfini de repiquages.

b- la trypsine et une protéase spécifique des molécules des résidus arginine et lysine, elle est susceptible d'attaquer le matériel protéinique qui réunit les cellules entre elles.

c- mise en culture cellulaire

d- obtention d'un tapis cellulaire

2-Utilisation des cultures cellulaires pour le titrage des virus :

a- l'effet cytopathique :

La plupart des virus provoquent des modifications cellulaires variées et facile à observées et généralement spécifiques exemple les picornavirus provoquent un arrondissement des cellules qui deviennent réfringentes, les adénovirus induisent une disposition en grappe des cellules infectées. Ces modifications cytopathiques provoquent la mort cellulaire

b- technique d'obtention de plages :

Le principe du titrage consiste à obtenir un nombre suffisant de plages de cellules tuées qui aient pour origine un seul virus, de différencier les cellules mortes des cellules vivantes

c- titre des virus :

le titre du virus est exprimé en unités format plages

E-Dosage des antigènes viraux :

On déduit le titrage immunologique du virus. On mesurant la quantité d'antigènes, on peut avoir une idée sur le déroulement de la multiplication. Les méthodes sérologiques permettent de connaître l'existence ou non de parentés antigéniques. Divers types de réactions sérologiques sont mises en évidence :

- Réactions de précipitation
- Réactions de précipitation en GEL
- Immunoélectrophorèse
- Réaction d'hémmaglutination
- Séroneutralisation
- ELISA