

## SEROPREVALENCE DU VIRUS DE L'HEPATITE C PARMI LES PERSONNES FREQUENTANT LES SERVICES DE SOINS DU BURUNDI

par

V. NTAKARUTIMANA<sup>1</sup>, E. DELAPORTE<sup>2</sup>, D. POLLET<sup>3</sup>, P. DEMEDTS<sup>4</sup> & S. SCHARPE<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Université du Burundi, Faculté des Sciences, B.P. 2700 Bujumbura, Burundi

<sup>2</sup> ORSTOM-SIDA, Laboratoire de Retrovirus, 911, avenue Agropolis,  
F-34032 Montpellier Cedex 1, France

<sup>3</sup> INNOGENETICS, Canadastraat 21, Haven 1009, B-2070 Zwijndrecht, Belgique

<sup>4</sup> Algemeen Ziekenhuis Middelheim, Laboratoire de Biochimie Médicale,  
Lindendreef 1, B-2020 Antwerpen, Belgique

<sup>5</sup> Universitaire Instelling Antwerpen, Laboratoire de Biochimie Médicale,  
Universiteitsplein 1, B-2610 Wilrijk, Belgique

**Résumé** — L'épidémiologie du virus de l'hépatite C, est encore mal connue tout spécialement en Afrique. Dans cette étude, nous avons recherché la présence d'anticorps anti-VHC chez 685 personnes suivies en consultation dans les centres de santé et/ou hôpitaux de différentes régions du Burundi pendant la période de janvier-février 1991, en utilisant des tests sérologiques de seconde génération.

La prévalence globale variait de 3,2% à 14,1% selon l'endroit d'échantillonnage et était plus élevée en milieu urbain qu'en milieu rural. La séroprévalence augmentait avec l'âge variant de l'absence de positivité chez les personnes de moins de 21 ans à 23,1% chez les plus de 50 ans.

Bien que le pourcentage de séropositivité était plus élevé chez les hommes (10,4%) que chez les femmes (7,4%), cette différence n'était pas statistiquement significative. Vu le mode d'échantillonnage, il est difficile d'extrapoler ces résultats à la population générale.

Aucune association entre le virus de l'hépatite C (HCV) et celui de l'immunodéficience humaine (HIV) n'a été trouvée dans cette étude.

Contrairement aux autres résultats obtenus avec des tests de première génération, aucune réaction croisée non spécifique avec les anticorps anti-paludéens n'a été observée.

**KEYWORDS:** Hepatitis C; Seroprevalence; Burundi.

### 1. Introduction

Les hépatites non A, non B résultaient jusqu'en 1989 d'un diagnostic d'exclusion (11).

La découverte du virus de l'hépatite C (6), l'un des agents principaux responsables de ces hépatites a été suivie par la mise au point rapide de tests de diagnostic sérologique.

L'exposition au virus est suivie d'une infection chronique dans plus de 50% des cas. L'infection par le virus C peut entraîner le développement d'une cirrhose, après une évolution de quelques années ou de quelques dizaines d'années.

La virémie est prolongée et, chez plus de 50% des sujets contaminés, permanente (4).

Dans les pays industrialisés, la contamination se fait essentiellement par voie parentérale. Les sujets contaminés appartiennent souvent à des groupes



à risque (sujets recevant des transfusions ou des dérivés du sang, toxicomanes). La fréquence, relativement basse de la détection d'anti-HCV chez les hommes homosexuels, en Europe comme aux Etats-Unis, suggère que la transmission sexuelle ne joue pas un rôle majeur dans la propagation du virus dans les pays industrialisés (19). Des études relatives à la transmission familiale évoquent aussi une possibilité de contamination horizontale non liée au sexe, rare mais possible (16). Enfin la fréquence relative de la transmission mère-enfant apparaît extrêmement faible mais pourrait être plus importante en cas d'infection par le HIV associée.

La distribution du virus de l'hépatite C dans le monde est mal connue, les études ayant porté essentiellement sur les pays industrialisés. En Afrique, les données concernant la distribution, le mode de transmission et les conséquences pathologiques de l'hépatite C sont encore fragmentaires.

Des données préliminaires avaient suggéré que le virus de l'hépatite C était largement prévalent en Afrique mais il s'agissait de résultats obtenus avec les tests sérologiques de première génération qui donnaient de nombreux résultats faussement positifs en région tropicale.

Les tests de seconde génération, basés sur l'association de protéines structurales (core et/ou enveloppe) à des protéines non structurales dont la spécificité et la sensibilité ont été nettement améliorées (11, 10, 22) nous ont permis d'évaluer la distribution du virus de l'hépatite C dans différentes populations du Burundi.

## 2. Matériel et méthodes

### *Population étudiée*

Un total de 685 échantillons de sérums a été prélevé chez des personnes fréquentant des centres de santé ou des hôpitaux pendant la période de janvier-février 1991.

Les localités représentées étaient Bujumbura (n = 272) à l'Ouest, le Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bujumbura (n = 67), Cibitoke (n = 155) au Nord-Ouest, Gitega (n = 95) au Centre, Ngozi (n = 51) au Nord et Rutana (n = 45) au Sud-Est du pays.

Les échantillons de Bujumbura ont été collectés dans le laboratoire national « FOREAMI » de Bujumbura (Capitale du Burundi). Suivant la résidence des patients habitant la province de Bujumbura, ils ont été divisés en trois groupes :

- Bujumbura-ville (n = 54) représentant les quartiers Rohero I, Rohero II, Mutanga, Ngagara, Kinindo, Kabondo, Kinanira et Quartier Industriel. Ces quartiers abritent presque tous les fonctionnaires de la capitale.
- Bujumbura banlieue-ville (n = 142) regroupant les quartiers Bwiza, Buyenzi, Cibitoke, Kinama, Mutakura, Musaga, Kamenge, Nyakabiga et Jabe où habitent des gens plutôt modestes dont la plupart vivent de leurs petits commerces ou travaillent en ville.

- Bujumbura rural (n=76) représenté par les communes de Mwisale, Kanyosha, Kabezi, Gatumba, Guhonga et Mutimbuzi est caractérisé par des activités agricoles et de petits commerces.

Les échantillons de Cibitoke, Gitega et Ngozi ont été collectés dans les hôpitaux des chefs lieu des provinces respectives. Les échantillons de Rutana ont été collectés dans le centre de santé du chef lieu de la province.

La moyenne d'âge et le rapport de sexe (sex ratio) hommes/femmes pour les localités étudiées étaient: 30 ans et 0,74 (23/31) pour Bujumbura-ville, 32 ans et 1,32 (81/61) pour Bujumbura banlieue-ville, 34 ans et 1,37 (44/32) pour Bujumbura rural, 32 ans et 1,68 (42/25) pour CHU, 28 ans et 1,03 (79/76) pour Cibitoke, 24 ans et 1,06 (49/46) pour Gitega, 32 ans et 0,54 (18/33) pour Ngozi, 29 ans et 0,50 (15/30) pour Rutana.

L'échantillonnage portait exclusivement sur des personnes suivies en soins ambulatoires.

Les sérums furent congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$ , puis transportés en Belgique où ils ont été divisés en aliquots de 500  $\mu\text{l}$  et recongelés à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### *Détection des anticorps anti-HCV*

Le dépistage des anticorps anti-HCV a été déterminé par ELISA (Innogenetics, Antwerpen-Belgique). Ce test est basé sur des peptides synthétiques, 2 représentant des épitopes non structurales (NS4 et NS5) et 4 représentant le core viral.

Les sérums positifs ont ensuite été soumis à un test de confirmation utilisant le système LIA (7) de la même firme. La réaction de coloration était comparée aux IgG standards et classée de 1+ à 4+. Un signal de plus de 2+ dans une seule ligne ou 1+ dans 2 lignes est le critère à partir duquel un échantillon a été considéré comme positif. La sensibilité et la spécificité de ces tests sont supérieures à 99,5%.

#### *Autres tests effectués*

- Détection des anticorps anti-HIV: les anticorps contre HIV1/HIV2 ont été mis en évidence en utilisant le système ELISA de Behring (Behring Enzygnost-anti-HIV1+2<sup>®</sup> ELISA system) et leur présence a été confirmée par INNO-LIA (15) dont les critères de positivité sont la présence d'anticorps anti-core viral et anti-enveloppe.
- Détection des anticorps de la malaria: les anticorps contre les formes sanguines de *Plasmodium falciparum* ont été déterminés par immunofluorescence indirecte en utilisant un antigène provenant de culture et un conjugué fluorescent anti-IgGAM humain (Institut Pasteur, Paris).
- Dosage des immunoglobulines totales: les IgA, IgM et IgG totales ont été déterminées par immunonéphélométrie en utilisant les réactifs de Behring ainsi que le néphélomètre de Behring (Behring Nephelometer 100 analy-

ser). L'analyse des résultats a été faite en groupant les valeurs selon les critères de normalité utilisés en Europe à défaut de normes africaines.

### Statistiques

L'analyse statistique des résultats a été effectuée en utilisant le programme Epi-Info version 5.0. Les pourcentages sont donnés avec un intervalle de confiance de 95%.

### 3. Résultats

Cette étude a montré une séroprévalence d'anti-HCV variant de 3,2% à 19,4% (tableau 1) suivant la localité. Selon le sexe aucune différence significative n'était observée bien que les hommes apparaissaient plus infectés (10,4%) que les femmes (7,4%).

TABLEAU 1  
Prévalence des anticorps anti-HCV dans certaines régions du Burundi

Localités	Nombre examiné	Les positifs		
		n	%	IC95%
B. Ville	54	7	13	3,8-22,2
B. Banlieue-V.	142	20	14,1	12,5-15,7
B. Rural	76	8	10,5	3,5-17,5
CHU	67	13	19,4	9,7-28,4
Cibitoke	155	6	3,9	0,8- 7,0
Gitega	95	3	3,2	0,0- 6,8
Ngozi	51	5	9,8	1,5-18,1
Rutana	45	2	4,4	0,0-10,5

B. : Bujumbura; V. : Ville; IC95% : intervalle de confiance à 95%.

Il y a une différence statistiquement significative suivant l'endroit de l'échantillonnage. En effet, chi carré = 63,47 et  $p < 0,001$ .

Aucun des enfants ou adolescents testés n'était positif (0/42 entre 3 mois et 10 ans, 0/102 entre 11 et 20 ans). Les premiers séropositifs ont été observés à partir de 21 ans, la séroprévalence augmente ensuite avec l'âge. En effet,  $4,6 \pm 2,7\%$  (11/239) des personnes testées sont positives entre 21 et 30 ans,  $9,3 \pm 4,6\%$  (15/162) entre 31 et 40 ans,  $30,7 \pm 10,7\%$  (23/75) entre 41 ans et 50 ans et enfin  $23,1 \pm 10,6\%$  (15/65) pour les plus de 50 ans (chi carré = 81,58,  $p < 0,01$ ).

Dans cette population, 151/685 ( $22,0 \pm 2,5\%$ ) personnes présentaient des anticorps anti-HIV1.

La prévalence anti-HCV dans les groupes HIV positifs et HIV négatifs ne montrait pas de différence statistiquement significative (chi-carré = 2,75 et  $p = 0,25$ ) (tableau 2).

TABLEAU 2  
Relation entre HCV et HIV

	HCV positifs (n = 64)	HCV négatifs (n = 621)
HIV positifs (n = 151)	15 (9,9 ± 4,9%)	136 (90,1 ± 4,9%)
HIV négatifs (n = 534)	49 (9,2 ± 2,6%)	485 (90,8 ± 2,6%)

La séroprévalence de HCV dans les groupes de HIV positifs et HIV négatifs ne montre pas de différence statistiquement significative (chi carré = 2,75, p = 0,25).

Les résultats faussement positifs en sérologie HCV observés avec les tests de première génération étaient liés en partie à l'hypergammaglobulinémie et à la malaria. Pour valider notre test et vérifier sa spécificité, nous avons étudiés d'une part, la présence d'anticorps anti-HCV en fonction des taux de différentes immunoglobulines et d'autre part, l'association entre le HCV et la malaria. Les résultats sont présentés dans les tableaux 3 et 4.

TABLEAU 3  
Relation entre la séropositivité au HCV et les taux d'immunoglobulines

	HCV positifs	HCV négatifs
IgG normaux (11,2%)	5,3 ± 5,2%	94,7 ± 5,2%
IgG élevés (88,8%)	8,3 ± 2,3%	91,7 ± 2,3%
IgA normaux (81,7%)	6,8 ± 2,2%	93,2 ± 2,2%
IgA élevés (18,3%)	13,2 ± 6,2%	86,8 ± 6,2%
IgM normaux (65,3%)	7,8 ± 2,5%	92,2 ± 2,5%
IgM élevés (34,7%)	8,2 ± 3,6%	91,8 ± 3,6%

La séroprévalence de HCV dans les deux groupes de taux de chaque classe d'immunoglobulines montre une différence non statistiquement significative pour IgG et IgM, mais qui est à la limite de la signification statistique pour IgA. En effet, le test « chi-carré » indique respectivement : chi-carré = 0,84 et p = 0,36, chi-carré = 5,66 et p = 0,017, chi-carré = 0,04 et p = 0,84 pour IgG, IgA et IgM.

TABLEAU 4  
Relation entre la séropositivité au HCV et la séropositivité à la malaria

	HCV positifs (7,9%)	HCV négatifs (92,1%)
Malaria positif (57,7%)	8,3 ± 2,8%	91,7 ± 2,8%
Malaria négatif (42,3%)	7,3 ± 3,1%	92,7 ± 3,1%

La différence de la séropositivité au HCV entre les groupes de malaria positifs et de malaria négatifs n'est pas statistiquement significative (chi carré = 0,27 et p = 0,87).

La séroprévalence d'anti-HCV en fonction des taux d'immunoglobulines n'a pas montré de différence statistiquement significative. De même, il n'y avait pas d'association entre la séropositivité HCV et la présence d'anticorps anti-paludiques (chi carré = 0,27 et p = 0,87).

#### 4. Discussion

Bien que le virus de l'hépatite C soit de découverte récente, quelques études ont déjà été menées en Afrique, principalement au Cameroun (12, 19, 3, 13, 14) mais aussi en Ethiopie (24), au Gabon (8), au Niger (5) et en Tunisie (18) où des prévalences élevées ont été rapportées. Certaines de ces

études étaient basées sur des tests de première génération dont la spécificité n'était pas satisfaisante.

Dans notre étude, qui représente l'une des premières études en Afrique avec des tests de seconde génération, nous avons également retrouvé une séroprévalence élevée. Les fausses positivité enregistrées avec les tests de première génération, étaient souvent liées à la malaria et à l'hypergammaglobulinémie (1, 2, 21, 23). Cela n'a pas été retrouvé dans notre étude, ce qui témoigne d'une bonne spécificité des tests utilisés.

Cette étude a montré que, dans notre groupe de patients, la séropositivité au HCV varie suivant les localités et serait plus élevée en milieu urbain ( $13,8 \pm 4,9\%$ ) qu'en milieu rural ( $5,3 \pm 2,1\%$ ). Notre étude descriptive ne permet pas d'expliquer cette différence (importance des transfusions sanguines?, comportements différents?,...). Néanmoins, ces résultats sont à infirmer ou confirmer par des études ultérieures avec un échantillon représentant la population générale.

De même, notre étude ne porte pas sur les modes de transmission du virus de l'hépatite C. Il est cependant intéressant de remarquer qu'aucun enfant ni adolescent n'est positif et que la séroprévalence augmente régulièrement avec l'âge. Cela suggère un rôle limité de la transmission mère-enfant et l'existence d'un ou de facteurs âge-dépendant (rôle de la transmission sexuelle, des transfusions, voire d'autres facteurs).

Il est à noter également que la séropositivité HIV que l'on peut utiliser comme marqueur d'activité sexuelle n'était pas associée à la présence d'anticorps anti-HCV, à la différence d'autres études (9, 17).

Par manque de matériel (épuisement des sérums), les échantillons n'ont pas été testés pour hépatite B (HBV). Pourtant, la comparaison des prévalences de HCV et HBV pourrait être contributive aux études épidémiologiques.

L'importance de l'hépatite C en santé publique est dominée par la gravité de cette infection et de son évolution vers la chronicité. Néanmoins, son rôle dans la carcinogénèse hépatique en Afrique reste mal connue.

En Occident, le dépistage du virus de l'hépatite C est maintenant obligatoire dans les banques de sang. En Afrique, où se pose déjà le problème du dépistage du HIV, de la syphilis et de l'Ag HBs, ce coût supplémentaire sera difficile à assumer. Il est donc essentiel d'évaluer la diffusion de l'HCV et ses conséquences pathologiques dans le continent africain.

#### **Seroprevalence of hepatitis C virus in out-patients of health care services in Burundi.**

*Summary* — The epidemiology of hepatitis C (HCV), especially on the African continent, is not well known. In this study, we investigated the presence of antibodies to HCV in 685 out-patients, seen in several health care centers or hospitals in different regions in Burundi from January to February 1991. Serological tests of the second generation were used.

The global prevalence varied from 3.2% to 14.1% according to the center. Urban seroprevalence tended to be higher than rural prevalence. Also, with increasing age, a higher prevalence was observed. Anti-HCV antibodies were absent in patients younger than 21, while specific antibodies were detected in 23.1% of patients older than 50. Although the prevalence in men (10.4%) was higher than in women (7.4%), this difference was not statistically significant. Taking into account the selection of subjects participating in this evaluation, the results can not be extrapolated to the general population.

No association between HCV and human immunodeficiency virus (HIV) was seen in this study. In contrast to previously described results from studies using reagents of the first generation, no cross-reactions were observed with anti-malarial antibodies.

### Seroprevalentie van hepatitis C virus bij ambulante patiënten van gezondheidsdiensten in Burundi.

*Samenvatting* — De epidemiologie van hepatitis C is slechts ten dele gekend, vooral in Afrika. In deze studie werd de aanwezigheid van anti-Hepatitis C antistofen nagegaan bij 685 ambulante patiënten die consulteerden in gezondheidscentra of ziekenhuizen van verschillende streken in Burundi in de periode januari-februari 1991. Hierbij werd gebruik gemaakt van serologische testen van de tweede generatie.

De globale prevalentie varieerde van 3,2 tot 14,1%, afhankelijk van de centra waar de staalname gebeurde. In stedelijk gebied was de prevalentie hoger dan in landelijke gebieden. De seroprevalentie nam ook toe in functie van de leeftijd van de patiënten, met afwezigheid van antistoffen bij de personen jonger dan 21 jaar en een prevalentie van 23,1% bij personen ouder dan 50 jaar.

Hoewel het percentage positieve testen bij de mannen (10,4%) hoger was dan bij de vrouwen (7,4%), bleek dit verschil niet statistisch significant. Er dient opgemerkt dat, gezien de selectie uitgevoerd bij de staalname, deze resultaten niet kunnen veralgemeend worden voor de gehele bevolking.

Geen enkele associatie tussen hepatitis C (HCV) en humaan immunodeficiëntie virus (HIV) werd aangetoond in deze studie. In tegenstelling met de resultaten beschreven voor testen van de eerste generatie, werden geen specifieke reacties waargenomen te wijten aan malaria-antistoffen.

Reçu pour publication le 11 février 1993.

### REFERENCES

1. Aceti A, Taliani G, De Bac C, Sebastiani A: Anti-HCV false positivity in malaria (letter). *Lancet*, 1990, **336**, 1442-1443.
2. Aceti A, Taliani G: Hepatitis C virus antibodies in parasitic infections. *Ann. Intern. Med.*, 1990, **113**, 560.
3. Aceti A, Taliani G: Hepatitis C virus testing in Africa sera (letter). *Ann. Intern. Med.*, 1992, **116**, 427.
4. Benhamou JP: Le spectre virologique et clinique des hépatites virales. *Immunoanal. Biol.*, 1991, **26**, 9-10.
5. Cenac A, Pedroso ML, Djibo A, Develoux M, Pichond C, Lamothe F, Trepo C, Warter A: Hepatitis B, C and D virus infections in patients with chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: a comparative study in Niger. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1995, **52**, 293-296.
6. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M: Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 1989, **244**, 359-362.
7. De Beenhouwer H, Verhaert H, Claeys H, Vermeylen C: Confirmation of hepatitis C virus positive blood donors by immunoblotting and polymerase chain reaction. *Vox Sanguinis*, 1992, **63**, 198-203.
8. Delaporte E, Thiers V, Dazza MC, Romeo R, Milka-Cabanne N, Aptel I, Schrijvers D, Brechot C, Larouze B: High level of hepatitis C endemicity in Gabon, equatorial Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1993, **87**, 636-637.
9. Eyster ME, Alter HJ, Aledort LM, Quan S, Hatzakis A, Goedert JJ: Heterosexual co-transmission of hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV). *Ann. Int. Med.*, 1991, **115**, 764-768.
10. Goodrick MJ, Anderson NAB, Fraser ID, Rouse A, Pearson V: Need for second-generation anti-HCV testing in haemophilia. *Lancet*, 1992, **339**, 501-502.
11. Janot C, Agulles O: Diagnostic sérologique de l'hépatite C. *Immunoanal. Biol.*, 1991, **26**, 61-65.
12. Mencarini P, De-Luca A, Antinori A, Maiuru G, Bailly C, Tamburini E: Prevalence of anti-HCV antibodies in Cameroon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1991, **58**, 654-655.
13. Ndumbe PM, Atchou G, Biwole M, Lob V, Ayuk-Takem J: Infections among pygmies in the Eastern Province of Cameroon. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1993, **182**, 281-284.
14. Ngatchu T, Stroffolini T, Rapicetta M, Chionne P, Lantum D, Chiaramonte M: Seroprevalence of anti-HCV in an urban child population: a pilot survey in a developing area, Cameroon. *J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **95**, 57-61.

15. Pollet DE, Saman EL, Peeters DC, Warmenbol HM, Heyndrickx LM, Wouters CJ, Beelaert G, Van der Groen G, Van Heuverswyn H: Confirmation and differentiation of antibodies to human immunodeficiency virus 1 and 2 with a strip-based assay including recombinant antigens and synthetic peptides. *Clin. Chem.*, 1991, **37**, 1700-1707.
16. Ranger S, Aussel L, Denis F: Virus de l'hépatite C: épidémiologie. *Immunol. Biol.*, 1991, **26**, 57-60.
17. Sherman KE, Freeman S, Harrison S, Andron L: Prevalence of antibody to hepatitis C virus in patients infected with the human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.*, 1991, **163**, 414-415.
18. Slama H, Majaat N, Dahri R, Boukef K: Etude épidémiologique des anticorps anti-HCV chez les donneurs de sang en Tunisie. *Rev. Fr. Transfus. Hémobiol.*, 1991, **34**, 459-464.
19. Tibbs CJ, Palmer SJ, Coker R, Clark SK, Parson GM, Hojvat S, Peterson D, Banatvala JE: Prevalence of hepatitis C in tropical communities: the importance of confirmatory assays. *J. Med. Virol.*, 1991, **34**, 143-147.
20. Trepo C, Couroucé AM, Noel L: La découverte du virus de l'hépatite C. *Presse Méd.*, 1990, **19**, 1582-1586.
21. Van Der Wiel HE, Polman CH, Netelenbos JC: Hepatitis C virus antibodies in parasitic infections (letter). *Ann. Intern. Med.*, 1990, **113**, 560.
22. Watson HG, Ludlam CA, Qi Zhang L, Rebus S, Peutherer JF, Simmonds P: Use of several second generation serological assay to determine the true prevalence of hepatitis C virus infection in haemophiliacs treated with non-virus inactivated factor VIII and IX concentrates. *Br. J. Haematol.*, 1992, **80**, 514-518.
23. Wong DC, Diwan AR, Rosen L, Gerin JL, Johnson RG, Polito A: Non-specificity of anti-HCV test for seroepidemiological analysis (letter). *Lancet*, 1990, **336**, 750-751.
24. Zawde D, Sisay Y: National blood requirement, serum ALT and hepatitis in Ethiopian blood donors. *Ethiop. Med. J.*, 1991, **29**, 175-183.