



Aspects épidémiologiques et caractérisation moléculaire des souches du virus de l'hépatite E (VHE) au Burkina Faso

Kuan Abdoulaye Traoré

► **To cite this version:**

Kuan Abdoulaye Traoré. Aspects épidémiologiques et caractérisation moléculaire des souches du virus de l'hépatite E (VHE) au Burkina Faso. Microbiologie et Parasitologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français. <NNT : 2015PA114819>. <tel-01249594>

HAL Id: tel-01249594

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01249594>

Submitted on 4 Jan 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

ÉCOLE DOCTORALE 425 :

INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL À L'APPLIQUÉ

PÔLE : MICROBIOLOGIE / THERAPEUTIQUES ANTIINFECTIEUSES

DISCIPLINE : Microbiologie

ANNÉE 2014 - 2015

SÉRIE DOCTORAT N°

THÈSE DE DOCTORAT

soutenue le 02/06/2015

par

Kuan Abdoulaye TRAORÉ

Aspects épidémiologiques et caractérisation moléculaire des
souches du virus de l'hépatite E (VHE) au Burkina Faso

Directeur de thèse : Pierre ROQUES
Co-directeur de thèse : Nicolas BARRO

Chercheur CEA, Fontenay aux Roses
Professeur, Université de Ouagadougou

Composition du jury :

Rapporteurs : François SIMON
Stéphane CHEVALIEZ

Professeur, PU-PH, Université Paris VII
Maitre de Conférence, MCU-PH,
Université Paris XIII

Examineurs : Anne-Marie ROQUE AFONSO
Nicole PAVIO

Professeur, PU-PH, Université Paris Sud XI
Chercheur, HDR, ANSES Maison-Alfort

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

**École Doctorale
Sciences et Technologies**

**Laboratoire : Centre de Recherche en Sciences
Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles
(CRSBAN)**



N° d'ordre..... /

THÈSE

Présentée par

TRAORE Kuan Abdoul aye

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Ouagadougou

Option : Sciences Appliquées

Spécialité : Microbiologie/Immuno-virologie

Aspects épidémiologiques et caractérisation moléculaire des souches du virus de l'hépatite E (VHE) au Burkina Faso

Soutenue le 02/06/2015 devant le Jury composé de:

Directeur de thèse : Nicola BARRO

Professeur, Université de Ouagadougou

Co-directeur de thèse : Pierre ROQUES

Chercheur CEA, Fontenay aux Roses

Rapporteurs : François SIMON

Professeur, PU-PH, Université Paris VII

Stéphane CHEVALIEZ

Maitre de Conférence, MCU-PH, U. Paris XIII

Examineurs : Anne-Marie ROQUE AFONSO

Professeur, PU-PH, Université Paris XI

Nicole PAVIO

Chercheur, HDR, ANSES Maison Alfort

DEDICACES

A mon père Moussa Traoré (In Memorium),

A ma mère Fatoumata Keïta,

A ma deuxième maman Fanta Zerbo, mon oncle Moussa Konaté et famille,

A tous mes frères, sœurs, cousins et cousines,

A tous ceux qui souffrent d'hépatites dans le monde.

REMERCIEMENTS

Ce travail a pu être réalisé grâce au soutien d'institutions et aux conseils de nombreuses personnes ; Il est également le fruit d'une collaboration internationale entre le Laboratoire de Biologie Moléculaire, d'Épidémiologie et de surveillance de bactéries et virus transmissibles par les aliments/CRSBAN (Burkina Faso), Le laboratoire de recherche du Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS) et les Laboratoires de virologie du CEA et du INRA/ANSES/ENVA dans le cadre d'une thèse en cotutelle entre l'Université de Ouagadougou et l'Université Paris Sud XI.

Qu'il nous soit permis de remercier :

Les autorités des Universités Paris Sud XI et de Ouagadougou à qui nous exprimons toute notre reconnaissance ainsi qu'aux membres du jury.

Le docteur Stéphane CHEVALIEZ et le professeur François SIMON qui ont accepté d'être les rapporteurs de mon manuscrit de thèse.

Je remercie également le professeur Anne-Marie ROQUE AFONSO d'avoir accepté d'examiner mon manuscrit.

Le Pr Alfred S. TRAORE, Directeur du Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles (CRSBAN), Responsable Académique des formations Doctorales en Biochimie et Microbiologie/Biotechnologies, de l'Université de Ouagadougou, Président du Réseau Ouest Africaine de Biotechnologie (RA-Biotech). Toute notre reconnaissance pour nous avoir acceptés dans son Centre et de nous avoir encouragé à travailler sur ce thème des hépatites qui a un intérêt capital.

Le Pr Nicolas BARRO, Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire, d'Épidémiologie et de Surveillance de Bactéries et Virus Transmissibles par les Aliments/CRSBAN, Directeur de thèse qui malgré ses multiples occupations a suivi de bout en bout ce travail depuis le DEA. Merci énormément pour le suivi quotidien, les nombreux conseils et toute l'attention accordée à ce travail. Sans oublier votre soutien immense sur le plan social, recevez toute notre profonde gratitude.

Le Dr Roger Le Grand pour son accueil au sein du service d'immuno-virologie/CEA. Le Dr Pierre ROQUES, chercheur au Commissariat à l'Énergie Atomique, Directeur de thèse, à qui je ne saurai être plus reconnaissant, pour avoir été à l'origine de ce

projet, pour s'être investi jusqu'au bout dans cette expérience, pour son dévouement total à ce travail et pour toute sa disponibilité et son soutien matériel.

Le Dr Nicole PAVIO, chercheur INRA/ANSES/ENVA, pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail, ses précieux conseils et son soutien technique en nous acceptant dans son laboratoire.

Les partenaires du Centre National de Transfusion Sanguine : Dr Honorine Dahourou, Directrice du CNTS, Dr Yacouba NEBIE, responsable de la Coordination Scientifique et de l'Assurance Qualité. Que vous découvriez ici notre considération et nos sincères remerciements.

Le Major Sanou, du CNTS : merci pour vos conseils, vos encouragements et votre assistance morale et matérielle pour la réalisation de ce travail ;

Les techniciens du CNTS pour leurs aides multiformes et enseignements reçus lors de mon stage de formation ;

Tous les enseignants-chercheurs du CRSBAN: Pr Aboubakar S. OUATTARA, Pr Yves TRAORE, Dr Philippe A. NIKIEMA, Dr Cheik A. T. OUATTARA, Dr André Jules ILBOUDO, Dr Aly SAVADOGO, Dr Cheikna ZONGO, Dr Marius SOMDA, Dr Assèta KAGAMBEGA pour l'encadrement pédagogique du travail;

L'ensemble des étudiants du CRSBAN (doctorants et autres) pour l'amitié et tous les encouragements reçus au cours de notre travail

L'ensemble des personnes du service d'immuno-virologie, qui ont toutes contribué, de différentes manières, à la conduite de ces travaux.

Toute l'équipe du RA-BIOTECH pour tous les enseignements dont nous avons bénéficié tout au long de notre formation.

Toute l'équipe du Laboratoire de Biologie Moléculaire, d'Épidémiologie et de Surveillance de Bactéries et Virus Transmissibles par les Aliments: Les doctorants Oumar V. TRAORE, Gertrude TCHAMBA, Saïdou KABORE, Larissa WARE, Hadiza Ibrahim BAWA, MAMADOU, Nafissatou OUEDRAOGO, Serge BAGRE, Bienvenue Jean OUOBA, Konaté Ali et Bako étudiants pour leur appui technique et leurs conseils.

L'équipe du RABIO-TECH ainsi que tous mes promotionnaires, amis et connaissances pour toutes les expériences vécues durant le cheminement.

Tous mes oncles, tantes, cousins et cousines pour leurs soutiens et la patience qu'ils ont su garder tout au long de mes études.

La réalisation de l'ensemble des travaux de la présente thèse a été rendue possible grâce à l'appui financier de la **Bourse Nationale Burkinabé de 3ème cycle (CIOPB)**, du Programme **ISP / IPICS** (International Sciences Programme/ International Programme in the Chemical Sciences, Suède), de l'ambassade française au Burkina (**SCAC**), de l'**UPsud XI**. Que ces donateurs soient assurés de mes sincères remerciements.

Table des matières

DEDICACES	i
REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES ARTICLES ET POSTERS	viii
A. ARTICLES	viii
B. POSTERS ET COMMUNICATION.....	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xii
1. Institutions.....	xii
2. Autres	xii
RESUME.....	xv
ABSTRACT	xvii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I. Généralités sur le Virus de l'hépatite E	4
1. Historique	4
2. Biologie du virus de l'hépatite E	4
3. Structure et organisation génomique du VHE	6
4. Multiplication du VHE.....	9
5. Immunité.....	10
5.1. Réponse immunitaire innée	10
5.2. Réponse immunitaire adaptative spécifique	11
6. Clinique.....	11
7. Diagnostic de l'hépatite E.....	13
7.1. Analyses sérologiques.....	14
7.2 Analyses moléculaires	15
8. Diversité Génétique du VHE	16
II. Epidémiologie.....	21
1. Mode de contamination.....	21
1.1. Transmission féco-orale par consommation d'eau et d'aliments souillés	21
1.2. Transmission interhumaine.....	22
1.3. Transmission materno-fœtale	23
1.4. Transmission parentérale (transfusionnelle ou suite à des greffes).	23
1.5. Transmission zoonotique.....	24
2. Répartition géographique.....	27
2.1. Pays endémiques.....	27

2.2. Pays à faible endémies	28
3. VHE chez l'animal.....	29
3.1. Réservoirs animaux.....	29
3.2. Evolution de l'infection dans le principal « réservoir ».....	30
III Prévention et traitement (VHE).....	32
1. Traitement.....	32
2. Prévention.....	32
3. Vaccin.....	33
HYPOTHESE DE RECHERCHE	35
OBJECTIF GENERAL	35
OBJECTIFS SPECIFIQUES	36
DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES.....	38
I. Sites d'études et échantillonnage	38
1. Période et type d'étude	38
2. Zone d'étude.....	38
3. Sites de collectes	38
4. Echantillonnage	39
4.1. Echantillons humains.....	39
4.2. Echantillons porcins.....	39
4.3. Prélèvement et conservation des échantillons.....	39
5. Enquêtes	40
II. Analyses sérologiques et moléculaires.....	40
1. Analyses sérologiques	40
1.1. Test immunochromatographique	41
1.2. Test ELISA	41
2. Caractérisation moléculaire.....	43
2.1. Extraction des ARN viraux sur 100µL de sérum et d'ARN totaux sur 30- 50 mg de tissus de porcs	43
2.2. Dosage d'ARN extrait.....	44
2.3. Recherche des séquences HEV.....	45
Contenu du mode opératoire.....	45
2.3.4. Préparation du gel d'agarose	48
Cycles PCR	51
3. Analyses statistiques	53
TROISIEME PARTIE : RESULTATS-DISCUSSION RESULTATS	55
I-Séroprévalence des virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) transmis par voie féco-orale au Burkina Faso	55
Enquêtes sérologiques supplémentaires (VHA)	64

II. Exposition des charcutiers (bouchers) Burkina Faso au VHE	65
III. Risque transfusionnel du VHE	80
DISCUSSION	98
I. Prévalence des virus hépatiques à transmission féco-orale (VHA et VHE) dans la population générale.....	98
II. Situation des hépatites virales A et E en Afrique de l'Ouest.....	100
II.1 Les hépatites virales A	100
II.2 Les hépatites virales E	103
III. Potentiel Zoonotique du VHE en Afrique de l'Ouest.....	105
III. Risque transfusionnel du VHE	109
Conclusion générale et perspectives	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	115
ANNEXES	144
ANNEXE 1 revue - Les Hépatites virales en Afrique de l'Ouest	144
ANNEXE 2 : Questionnaire comportement population générale	A
ANNEXE 3 : Questionnaire population à risque.....	C
ANNEXE 4 : consentement éclairé et questionnaire enquête vendeur porc au four.....	D
ANNEXE 5 : poster XVIème journée Francophone de Virologie	J
ANNEXE 6 : poster VI AFRAVIH (2014)	K

LISTE DES ARTICLES ET POSTERS

A. ARTICLES

KA Traoré, H Rouamba, Y Nébié, M Sanou, A S. Traoré, N Barro and P Roques. Seroprevalence of Fecal-oral Transmitted Hepatitis A and E Virus Antibodies in Burkina Faso. *PLoS One*. 2012; 7(10):e48125.

KA Troaré, JB Ouoba, N Huo, S Le Porder, M Dumarest , AS Traoré, N Pavio, N Barro, P Roques. Pork associated HEV is a new source of HEV infection in West Africa as demonstrated by the Ouagadougou case. Soumis à *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015.

KA Troaré, Jean Bienvenue Ouoba, SH Poda, H Dahourou, Y Nébié, AS Traoré, N Barro, P Roques. HEV serology in the blood donor population from West African city of Ouagadougou with known HIV, HBV, HCV, and syphilis prevalence. Soumis à *Transfusion*. 2015.

Traoré K.A, Poda S.H, Traoré A.S, Roques P, and Barro N. Viral hepatitis in West Africa: Burkina Faso. *African Journal of Microbiology Research* en preparation.

B. POSTERS ET COMMUNICATION

KA Traoré, H Rouamba, Y Nébié, M Sanou, A S. Traoré, N Barro and P Roques. Etude d'une infection virale transmise par les aliments à Ouagadougou (Burkina Faso): cas du virus de l'hépatite E. Poster aux Journées Portes Ouvertes des doctorants de l'Université de Ouagadougou.2012.

KA Traoré, AS Traoré, N Pavio, N Barro & P Roques. Situation épidémiologique du virus de l'hépatite E chez les porcs de boucherie au Burkina Faso. P-035, XVIème journées francophones de virologie – Paris – Institut Pasteur ; Paris 6-7 mars 2014.

KA Traoré, H Rouamba, Y Nébié, M Sanou, AS Traoré, P Roques & N Barro. Séroprévalence du virus de l'hépatite E chez les donneurs de sang au Burkina Faso. DPo4.7. 7ème Conférence Internationale Francophone sur le VIH et les Hépatites AFRAVIH 2014. Montpellier 27-30 avril 2014. Présentation orale

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Particules virales (27-33nm)

Figure 2- Densité des particules ARN VHE+

Figure 3 - Représentation schématique du génome du virus de l'hépatite E

Figure 4 - Représentation de la protéine de capside du virus de l'hépatite E

Figure 5 - Représentation schématique de la protéine codée par ORF3

Figure 6 - Cycle de répllication putatif du virus de l'hépatite E

Figure 7 - Marqueurs biologiques d'une hépatite E aigüe résolutive

Figure 8 - Répartition des génotypes du VHE dans le monde

Figure 9 - Arbre phylogénétique représentant les 24 sous-types

Figure 10 - Arbre Phylogénétique de la famille des Hepeviridae et espèces apparentées

Figure 11 - Voies de contamination possible par le VHE

Figure 12 - Photo d'une source d'eau polluée

Figure 13 - Photos de quelques potentiels réservoirs animaux du VHE

Figure 14 - Répartition de l'infection par le VHE dans le monde

Figure 15 - Les différentes étapes de l'étude

Figure 16 - Principe d'un test immunochromatographique

Figure17 - Microplaque ELISA : Les puits colorés correspondent à des positivités

Figure 18 - Génome du VHE : zones amplifiées par PCR en rouge

Figure 19 - c1000 thermal cycler cfx96 (Biorad)

Figure 20 - A Cuve d'électrophorèse couplée à un générateur (CEA) ; B course électrophorétique des acides nucléiques du VHE sur gel d'agarose à 1%

Figure 21- Répartition des IgG et IgM anti-VHA en fonction de l'âge des donneurs de sang

Figure 22- comparaison des valeurs de DO obtenus avec les kits Wantai et Diapro

Figure 23 - Test de corrélation avec les échantillons positifs des deux kits (wantai et Diapro)

Figure 24 - Distribution des IgG anti-VHE chez les donneurs de sang en fonction leur âge. A) Janvier 2011 ; B) Mars 2012 ; C) 2011+2012

Figure 25 - Carte de localisation des points de vente et de consommation de la viande de porc

Figure 26 - Analyse phylogénétique de la séquence (341 pb) de la souche porcine burkinabè par la méthode du Maximum de vraisemblance

Figure 27 - répartition des donneurs de sang testés en fonction de leur âge et sexe

Figures 28 - Distribution des donneurs de sang positifs aux agents transmissibles par le sang, en fonction de leur âge et sexe : A - anticorps VHC ; B - antigène HBs ; A - IgG + antigène VIH ; D - syphilis

Figure 29 - Répartition des donneurs de sang positifs aux anticorps VHE en fonction de l'âge et du sexe. A: IgG anti-VHE ; B: IgM anti-VHE ; C: patients positifs aux IgG anti-VHE, selon l'âge ; D: corrélation entre l'exposition au VHE et l'âge des donneurs

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1- Modèles expérimentaux inter-espèces du virus de l'hépatite

Tableau 2 - Génotypes et gamme d'hôtes naturels du VHE

Tableau 3 - Prévalence des IgG et IgM anti-VHA chez les donneurs de sang et femmes enceintes

Tableau 4 - Prévalence des IgG anti-VHE chez les donneurs de sang et femmes enceintes (2011-2012)

Tableau 5 - Caractéristiques épidémiologiques des bouchers inclus dans l'étude

Tableau 6- Prévalence des IgG et IgM anti-VHE chez les donneurs de sang et bouchers (2013)

Tableau 7 - Description statistiques de la population des donneurs de sang

Tableau 8 - Prévalence des marqueurs sérologiques des infections chez les nouveaux donneurs

Tableau 9 - Prévalence des marqueurs sérologiques des infections chez les nouveaux donneurs en 2009 à Ouagadougou.

Tableau 10 - Prévalence des IgG anti-VHE en fonction de l'âge chez les hommes et femmes donneurs de sang

Tableau 11 - Prévalences du VHA en Afrique de l'Ouest

Tableau 12 - Prévalences du VHE en Afrique de l'Ouest

Tableau 13- Le VHE chez le porc, sanglier et cerf

En annexe :

Tableau 14 - Prévalences du VHB en Afrique de l'Ouest

Tableau 15 - Prévalences du VHC en Afrique de l'Ouest

Tableau 16 - Prévalences du VHD en Afrique de l'Ouest

LISTE DES ABRÉVIATIONS

1. Institutions

ANSES: Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (France)

CDC: Center for Disease Control (USA)

CEA/IMETI/SIV : Commissariat à l'Energie Atomique/Service d'Immuno-Virologie

CMS : Centre Médical de Samadin

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine (Burkina)

CRSBAN/ LaBESTA : Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles/ Laboratoire de Biologie Moléculaire, d'Épidémiologie et de Surveillance de Bactéries et Virus Transmissibles par les Aliments

ICTV: International committee on the taxonomy of viruses

INSD : Institut National de la Statistique et de la Démographie (Burkina Faso)

INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques (Burkina Faso)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

UFR/SVT : Unité de Formation et de Recherche/Sciences de la Vie et de la Terre

UO : Université de Ouagagougou

UPsud XI : Université Paris sud XI

USA: United States of America

2. Autres

A : Adénine

aa : acide aminé

Ac : Anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire

Ag : Antigène

ALAT : Alanine Amino-transférase

ARN : Acide ribonucléique

ARNdb : Acide ribonucléique double brin

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNss(+) : Acide ribonucléique simple brin positif

ARNss(-) : Acide ribonucléique simple brin négatif
ARNt : Acide ribonucléique de transfert
C : Cytosine
dNTP : désoxy nucléotide triphosphate
E Coli: *Escherichia coli*
ELISA: Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay
G : Guanine
IFN : Interféron
Ig : Immunoglobuline
IgG : Immunoglobuline G
IgM : Immunoglobuline M
kb : kilobase
kDa : Kilodalton
mg : Milligramme
min : Minutes
ml: Millilitre
mM : millimolaire
ng : nanogramme
nm : Nanomètre
ORF: Open reading frame
Pb : paire de bases
PCR : Polymerase chain reaction
PTME : Prévention-Transmission-Mère-Enfant
qRT-PCR : Reverse transcriptase polymerase chain reaction quantitative
RdRP: RNA dependant RNA polymerase
RT-PCR : Reverse transcriptase polymerase chain reaction
T : Thymine
U : Uracile
µg : microgramme
µl: Microlitre
UV : Ultraviolet
VHA/HAV : Virus de l'Hépatite A
VHB/HBV : Virus de l'Hépatite B

VHC/HCV : Virus de l'Hépatite C

VHD/HDV : Virus de l'Hépatite D

VHE/HEV : Virus de l'Hépatite E

VHG/HGV : Virus de l'Hépatite G

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

RESUME

Le virus de l'hépatite E (VHE) est l'agent causal d'une partie des hépatites aiguës ou fulminantes qui surviennent essentiellement dans les pays en voie de développement (Afrique, Asie) ou le VHE de génotype 1 semble présenter un profil endémique ponctué de bouffées épidémiques souvent liées à des déplacements de populations (catastrophe climatique ou conflits) (Lui et al., 2013). Récemment il a été montré que ce virus était largement distribué dans des réservoirs animaux (génotype 3 et 4) et la cause d'un grand nombre d'infections zoonotiques aussi bien dans les pays du nord que du sud.

Dans la plupart des cas, il s'agit d'une infection spontanément résolutive avec une clairance virale rapide, mais il peut évoluer vers des formes plus sévères avec un niveau de mortalité variant de 1 à 4% dans la population générale et à près de 20% chez la femme enceinte lors des flambées épidémiques (OMS, 2014). Au Burkina Faso, très peu de données existent sur la prévalence chez l'homme, l'épidémiologie moléculaire du VHE ou la présence de ce virus dans le réservoir animal principal que constituent les porcs. De plus, l'ignorance de la population quant aux causes de cette infection d'origine alimentaire, est un facteur de risque qu'on ne peut pas ignorer. L'objectif de ce travail est donc d'améliorer notre connaissance sur cet agent des hépatites.

La première partie de notre étude s'est consacrée à l'évaluation de la séroprévalence du VHE chez les donneurs de sang et les femmes venant en consultation prénatale à Ouagadougou. Au total plus de 1700 échantillons de sérums de volontaires ont été collectés dans les banques de sang et centres médicaux: entre 2010 et 2012, sur les 178 donneurs de sang et 189 femmes enceintes testés, 19,1% [IC95, 13,3-24,9%] et 11,6% [IC95, 7,1-16,2%] étaient respectivement positifs aux IgG anti-VHE. Ces taux élevés sont peut-être associés au faible statut socioéconomique et à l'absence de réseaux d'assainissement des eaux (Traoré et al., 2012). En 2014, 1,9% [IC95, 1,2-2,6%] des 1485 donneurs de sang testés étaient positifs aux IgM anti-VHE. Ces résultats montrent un risque résiduel transfusionnel non négligeable associé à une transmission à bas bruit et confirme l'intérêt d'identifier la ou les sources de ce virus.

La seconde partie de ce travail a été de vérifier le rôle d'une source zoonotique des infections à VHE, via l'évaluation du VHE (par sérologie et typage moléculaire après PCR) dans le réservoir potentiel que sont les porcs et la population à risques exposé à ce réservoir (bouchers et éleveurs). Pour cela nous avons réalisé un recensement des sites de ventes de porcs et évalué la consommation d'animaux. Un taux de séroprévalence de

76% [IC95, 67,6-84,4%] a été mesuré dans une cohorte de 100 bouchers de Ouagadougou avec un facteur de risque de séropositivité 3 fois plus élevé par rapport à la population générale (OR = 3,46 [95%CI 2,85 - 4,21] p <0.001). Les IgG anti-VHE chez les porcs abattus ont été estimés à 80% IC95 [72-87%]. Cette forte prévalence confirme une circulation silencieuse du VHE dans l'élevage porcin au Burkina Faso comme en témoigne l'échantillon positif de foie pour l'ARN VHE qui soutient fermement le risque de zoonose. L'analyse des séquences des produits de PCR des foies de porcs positifs pour VHE a révélé la présence de VHE génotype 3 et 99,8 % d'homologie avec les souches Yaoundé et Madagascar.

En conclusion, notre étude, la première caractérisation moléculaire des souches du VHE au Burkina, montre la présence de souches VHE génotype 3 dans la région sahélienne où seul le génotype 1 avait été identifié jusqu'alors. L'évaluation du risque transfusionnel associé nécessite des études complémentaires afin d'évaluer le bénéfice/coût de l'ajout de dépistage du VHE dans les examens de routines des banques de sang, afin de garantir la sécurité du receveur de sang.

Mots clés : Épidémiologie, VHE, transfusion sanguine, incidence, génotypage, Burkina Faso.

EPIDEMIOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF HEPATITIS E VIRUS (HEV) STRAINS IN BURKINA FASO

ABSTRACT

The hepatitis E virus (HEV) is causative agent several acute or fulminant hepatitis which mainly occur in developing countries where HEV genotype 1 or 2 appears to have a endemic profile punctuated with epidemic outbreaks (Africa, Asia) (Lui et al., 2013). Genotype 3 and 4 distributed widely in animal reservoirs, were the cause many zoonotic infection in northern and southern countries. In most cases, it is a self-limited infection with rapid viral clearance, but it can evolve into more severe forms with a mortality level ranging from 1 to 4% in the general population to nearly 20% in pregnancy during outbreaks (WHO, 2014).

In Burkina Faso, very little epidemiological data are available on HEV. The objective of this work is to improve our understanding of this agent hepatitis.

The first part of our study was devoted to the evaluation HEV seroprevalence among blood donors and women attending antenatal care in Ouagadougou. In total more than 1,700 volunteers serum samples were collected in blood banks and medical centers in Burkina Faso. Between 2010 and 2012 on 178 blood donors and 189 pregnant women tested, 19.1% [CI95, 13.3-24.9%] and 11.6% [CI95, 7.1-16.2%], were respectively positive for anti-HEV IgG. These high rates in the general population may be associated a low income and the poor hygienic status (Traoré et al., 2012).

In 2014, 1.9% [CI95, 1.2-2.6%] on 1485 blood donors tested, were positive for anti-HEV IgM. These results indicate a residual risk for transfusion, probably associated with silent infections and confirm the importance to identify the sources of the virus.

The second part of this work was 1) to assess HEV infection among humans in Burkina Faso by exploring the HEV seroprevalence in a high risk population, i.e., butchers; 2) to explore a possible pig-to-human zoonotic transmission cycle by assessing the HEV seroprevalence in slaughter swine; and 3) to identify the genotype of HEV circulating in pigs. The global HEV prevalence among Ouagadougou butchers was estimated to 76%,

CI95 [67, 63–84.37%] with a significant risk factor, 3 times higher compared with the general population (OR = 3.46 [95%CI 2.85 - 4.21] p <0.001). IgG anti-HEV in pigs older than 6 months of age were estimated at 80% CI95 [72-87%]. This high prevalence confirms the presence and active circulation

HEV among domestic pigs in Burkina Faso as evidenced by the positive sample of liver for HEV RNA which strongly supports the risk of zoonosis. Phylogenetic analyses revealed that genotype 3 HEV is circulating among swine population in Burkina. A similarity >98% was found between swHEV- BF from Yaounde and Madagascar. This data showed the presence of HEV genotype 3 in sub-Sahel areas where only HEV genotype 1 had been identified or suspected until now.

In conclusion, these results latter sign a persistent introduction of HEV infection in the population and hence deserved to be taken in account in transfusion associated risk. Further assessments of the transfusion risk associated require an evaluation of the cost/benefit ratio for the addition of routine HEV RNA screening to the panel of tests on donated blood, to guarantee transfusion safety for the recipient.

Keywords: Epidemiology, HEV, blood transfusion, incidence, genotyping, Burkina Faso.

INTRODUCTION GENERALE

L'hépatite E, une des principales causes d'hépatites virales aiguës dans le monde, est devenue une préoccupation majeure en santé publique. Dans les pays en voie de développement, l'endémicité de cette infection est associée à une mauvaise hygiène, en particulier à l'insuffisance d'approvisionnement en eau potable, et dans certains domaines, à un manque d'assainissement adéquat (Buisson et Teyssou, 1995 ; Rezig et al., 2008). Environ deux milliards de personnes (le tiers de la population mondiale) vivent dans les zones endémiques de VHE (Holla et al., 2013). Le nombre de cas symptomatiques annuel de VHE s'élève à plus de 3 millions et le nombre de décès à 70000 par ans (Rein et al., 2011). Ce virus à transmission féco-orale se propage généralement, soit par contact entre personnes (Severo et al., 1997), soit par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (Buisson et al., 1993).

Le VHE a une vaste répartition mondiale, se manifestant sur un mode épidémique ou endémo-sporadique dans de nombreux pays défavorisés où l'approvisionnement en eau peut être contaminé par les eaux usées (Nicand et al., 2009). Ce virus est responsable d'une mortalité élevée qui peut atteindre 20 % chez les femmes enceintes surtout celles infectées au cours du troisième trimestre de la grossesse (Khuroo, 1991). En revanche, dans les pays développés d'endémie faible, il est responsable, le plus souvent, d'une pathologie sévère chez l'homme de plus de 50 ans (Wu et al., 1998 ; Peron et al., 2006). Les groupes de personnes à risque sont les porteurs d'une insuffisance hépatique préexistante, les personnes âgées, les femmes enceintes et les immunodéprimés où l'infection peut devenir chronique (Haagsma et al., 2008 ; Kamar et al., 2008).

En Afrique, de grandes épidémies d'origine hydrique sont survenues dans les camps de réfugiés en Somalie (Bile et al., 1994) et au Soudan (Guthmann et al., 2006), la maladie causant de nombreux décès (1,7% des cas recensés et 18% des cas hospitalisés). Dans d'autres pays (Afrique Centrale, RDC etc.) des cas sporadiques sont relevés et la séroprévalence mesurée dans quelques régions est élevée (cf. notre revue en annexe). Cependant peu de données existent en Afrique de l'Ouest pour valider la carte du CDC (Center of Disease Control and Prevention ; www.cdc.gov/hepatitis/HEV/HEVfaq.html).

Au Burkina, quelques données sur les virus transmissibles par les aliments ont été rapportées par Barro et al. (2005 ; 2008). Cependant, au regard des conditions de vie, du niveau d'hygiène et du mode alimentaire, les populations sont certainement exposées à ces virus. Ceci a été mis en évidence dans le cas des Rotavirus et Adénovirus (Simpore et al., 2009, Bonkougou et al., 2010 ; Nitiema et al., 2011). Les seules données existantes sur les hépatites virales proviennent des études des virus hépatiques transmis par le sang. Ainsi, en 2003, les virus des Hépatite B (VHB) et C (VHC) avaient respectivement une prévalence de 17,3% (HBsAg) et 1,5% (anti-HCV) au Burkina (Collenberg et al., 2006). La séroprévalence de VHC semble stable, 1,7 à 2% en 2010 (Zeba et al. 2011). Ces données soulignent l'absence de donnée dans une région où l'endémicité est probablement très forte et pourrait contribuer à une mauvaise interprétation des cas d'ictère non-A non B à l'hôpital.

PREMIERE PARTIE

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le Virus de l'hépatite E

1. Historique

Le virus de l'hépatite E (VHE) est l'agent causal d'une forme d'hépatite virale aiguë non A, non B, dont l'existence a été postulée pour la première fois en 1980 suite à une épidémie qui s'est déroulée au Cachemire (Inde) en 1978. Balayan identifia pour la première fois les particules en microscopie électronique après avoir transmis avec succès la maladie à un volontaire à partir des selles de patients infectés (Balayan *et al.*, 1983). En raison de la rareté des particules virales dans les échantillons infectieux, ce n'est que 7 ans plus tard qu'une partie de l'ADN complémentaire de ce nouvel agent fut clonée à partir des billes de macaques infectés expérimentalement par un isolat birman (Reyes *et al.*, 1990). C'est à ce moment que le virus a été nommé virus de l'hépatite E. Cette avancée a rapidement été suivie par le séquençage du génome complet des souches prototype Burma et Mexico (Tam *et al.*, 1991 ; Huang *et al.*, 1992). Par la suite, un test de détection des anticorps anti-VHE fut développé (Yarborough *et al.*, 1991 ; Dawson *et al.*, 1992).

Rétrospectivement des études ont montré que la première épidémie d'hépatite E d'origine hydrique était survenue dans les années 1955-1956 à New Delhi en Inde (Viswanathan, 1957). En outre le VHE a été principalement liée à des épidémies humaines en Inde (Chobe *et al.*, 1997 ; Naik *et al.*, 1992), Pakistan (Rab *et al.*, 1997) et en Chine (Zhuang *et al.*, 1991). La principale voie de transmission au cours de ces épidémies est essentiellement féco-orale par contamination de l'eau de boisson par des déchets humains (Teshale *et al.*, 2010 ; Purcell et Emerson, 2008 ; Howard *et al.*, 2010). La transmission zoonotique du VHE a été pour la première fois évoquée en 1997 aux USA, avec l'identification de VHE isolé du porc (Meng *et al.*, 1997 ; Meng *et al.*, 1998).

2. Biologie du virus de l'hépatite E

L'image par microscopie électronique et l'épidémiologie ressemblant à celle des *Caliciviridae*, il fut tout d'abord considéré comme un membre de cette famille avant d'être classé sur la base de sa structure et de son organisation génomique, dans la nouvelle famille des *Hepeviridae*, genre *Hepevirus* dont il est toujours le seul représentant (Emerson *et al.*, 2004 ; ICTV, 2009 ; Meng *et al.*, 2012). C'est un virus non enveloppé, à symétrie cubique dont les particules virales mesurent entre 27 et 34 nm de diamètre et

présente des projections dentelées à leur surface (Figure 1) (Balayan *et al.*, 1983 ; Bradley *et al.*, 1987 ; Purcell et Emerson, 2001).



Figure 1. Particules virales (27-33nm) (adapté de Bradley *et al.*, 1992).

Tout comme le VHA (Feng *et al.*, 2013), le VHE est enveloppé par des fractions membranaires dans le sang des patients alors que les particules virales sont nues dans les fèces (Takahashi *et al.*, 2010) Figure 2. Ce phénomène protège le virion de la neutralisation médiée par des anticorps (Feng *et al.*, 2013).

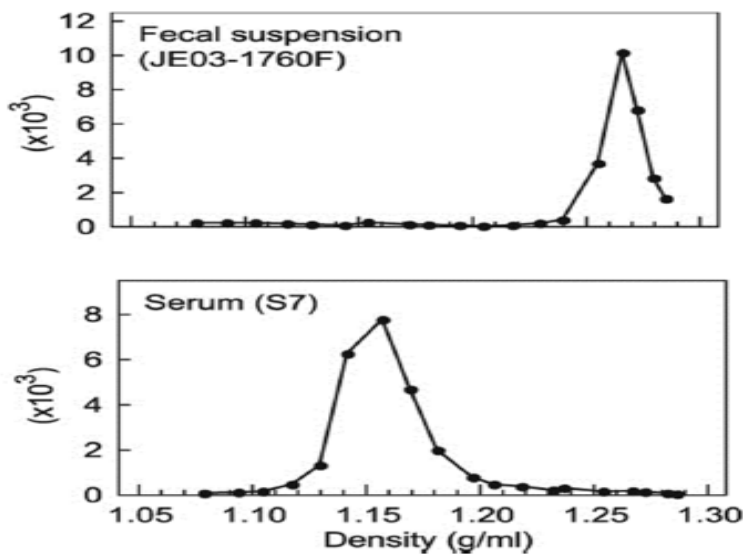


Figure 2- Densité des particules ARN VHE+ (Feng *et al.*, 2013 ; Takahashi *et al.*, 2010)

3. Structure et organisation génomique du VHE

Le VHE possède un génome à ARN simple brin de 7200 nucléotides (nt), et de polarité positive. Il est coiffé à l'extrémité 5' par une 7-méthyl-guanine suivie d'une région non traduite (UTR) de 27 nucléotides (nt) et polyadénylé à l'extrémité 3' précédée d'une UTR de 65 nt (Tam *et al.*, 1991) (Figure 2). Il comporte trois cadres de lecture ouverts (Open Reading Frames : ORF) partiellement chevauchants appelées ORF1, ORF2 et ORF3 (Figure 3).

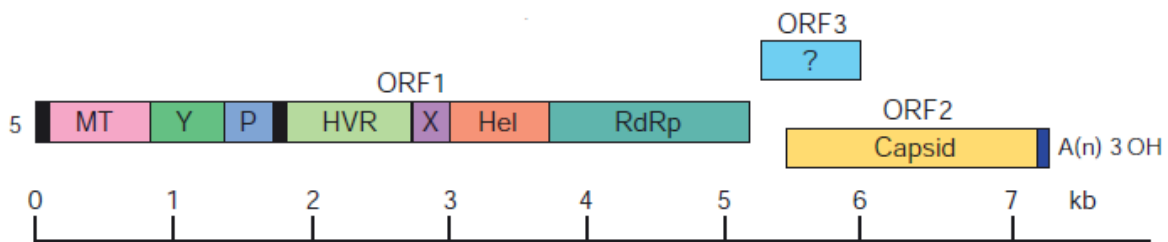


Figure 3 - Représentation schématique du génome du virus de l'hépatite E (adapté de Tam *et al.*, 1991). 7-méthyl-guanine (7mG) : coiffe ; MT : méthyl transférase ; Y : domaine Y ; PCP: papaine cystéine protéase; HVR : région riche en proline ; X : domaine X ou macro domaine; Hel : ARN hélicase ; RdRP: ARN polymérase dépendante de l'ARN ; polyA : queue polyadénylée ; UnTranslated Region (UTR): région non codante

L'ORF1, commence à l'extrémité 5' du génome et comporte 5079 nucléotides soit les 2/3 du génome. Il code pour une polyprotéine non-structurale d'environ 1693 acides aminés, comportant plusieurs domaines fonctionnels dont une région hyper variable riche en proline et 4 régions conservées à savoir une méthyl transférase (MT), une cystéine protéase similaire à la papaine (PCP), une hélicase (Hel), la RdRP : une ARN polymérase dépendante de l'ARN (Koonin *et al.*, 1992 ; Magden *et al.*, 2001). D'autres domaines non caractérisés (X ou macro domaine et Y) ont été identifiés sur l'ORF1 (Figure 3).

La méthyl transférase catalyse le coiffage en 5' de l'ARN génomique et subgénomique (Magden *et al.*, 2001), susceptible d'être à l'origine du processus d'infectiosité in vivo (Emerson *et al.*, 2001). La fonction la plus probable de la protéase PCP est son rôle dans l'évasion antivirale (Karpe *et al.*, 2011) même si elle est supposée être à l'origine du clivage de la polyprotéine virale (Ropp *et al.*, 2000). L'hélicase avec ses activités NTPase et ARN déroulante 5'-3' et la RdRP avec ses activités de synthèse du brin complémentaire et d'attachement à la partie 3' du génome VHE sont des protéines

essentielles à la machinerie de la réplication virale (Koonin *et al.*, 1992 ; Agrawal *et al.*, 2001 ; Ahmad *et al.*, 2011). L'hélicase possède également une activité 5'-triphosphatase, qui aide la méthyl transférase en catalysant la première étape de coiffage de l'ARN viral (Ahmad *et al.*, 2011).

L'ORF2, second cadre de lecture de 1980 nucléotides, est prolongé en 3' par un segment non codant de 65 bases, puis d'une extrémité polyadénylée de longueur variable selon les génotypes du virus (Grandadam *et al.*, 2004). Il code la protéine majeure de capsid qui est glycosylée (660 acides aminés) et qui joue un rôle dans la fixation du virus à la cellule hôte et son entrée dans celle-ci puis dans l'encapsidation du génome viral et l'assemblage de la particule virale (Mori *et al.*, 2011). L'extrémité N-terminale de la protéine de capsid contient une séquence signal servant à la translocation de la protéine dans le réticulum endoplasmique (N-glycosylations sur les résidus asparagines en positions 137, 310 et 562) (Jameel *et al.*, 1996). La structure cristallographique de la protéine de capsid peut être regroupés en trois domaines : le domaine S (Shell) constitue la coque du virus (la capsid), le domaine M (Middle) est le domaine intermédiaire, enfin le domaine P (Protruding) est la partie saillante (Xing *et al.*, 2010; Yamashita *et al.*, 2009) (Figure 4).

La protéine de la capsid présente plusieurs sites immunogènes (épitopes neutralisants conformationnels) situés entre les acides aminés 452 et 617 (Meng *et al.*, 2001 ; Zhang *et al.*, 2008). *In vitro*, il a été démontré que les protéines obtenues à partir de p-ORF2 tronquée à son extrémité N terminale ont la capacité de former des particules pseudo-virales (VLPs) qui induisent de forts titres d'anticorps neutralisants et ont servi donc de source antigénique pour un candidat vaccin (Shrestha *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2010).

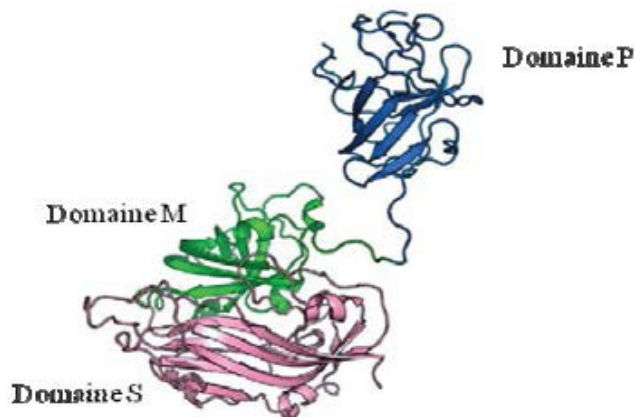


Figure 4 - Représentation de la protéine de capsid du virus de l'hépatite E (Mori *et al.*, 2011)

L'ORF3, troisième cadre de lecture de 369 nucléotides, code une petite phosphoprotéine immunogène de 113 à 123 acides aminés, très variable selon les virus et dont la fonction exacte doit être déterminée. Cependant, localisée au niveau endosomal et au niveau des microtubules, la pORF3 est nécessaire à l'infectiosité in vivo des virions. Son implication dans les fonctions de régulation de la réplication virale, l'assemblage de la nucléocapside ou la sortie des particules virales de la cellule hôte a été suggérée (Tyagi *et al.*, 2004 ; Yamada *et al.*, 2009 ; Graff *et al.*, 2005, Emerson, 2010). Son expression dans les cellules infectées activerait la voie des MAPK (Mitogen- Activated Phosphate Kinases) favorisant la survie et la prolifération cellulaire (Korkaya *et al.*, 2001 ; Moin *et al.*, 2007) (Figure 5).

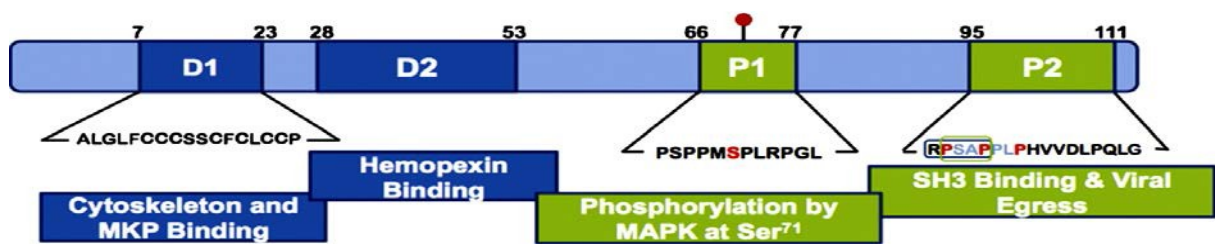


Figure 5 : Représentation schématique de la protéine codée par ORF3 (Ahmad *et al.*, 2011).

4. Multiplication du VHE

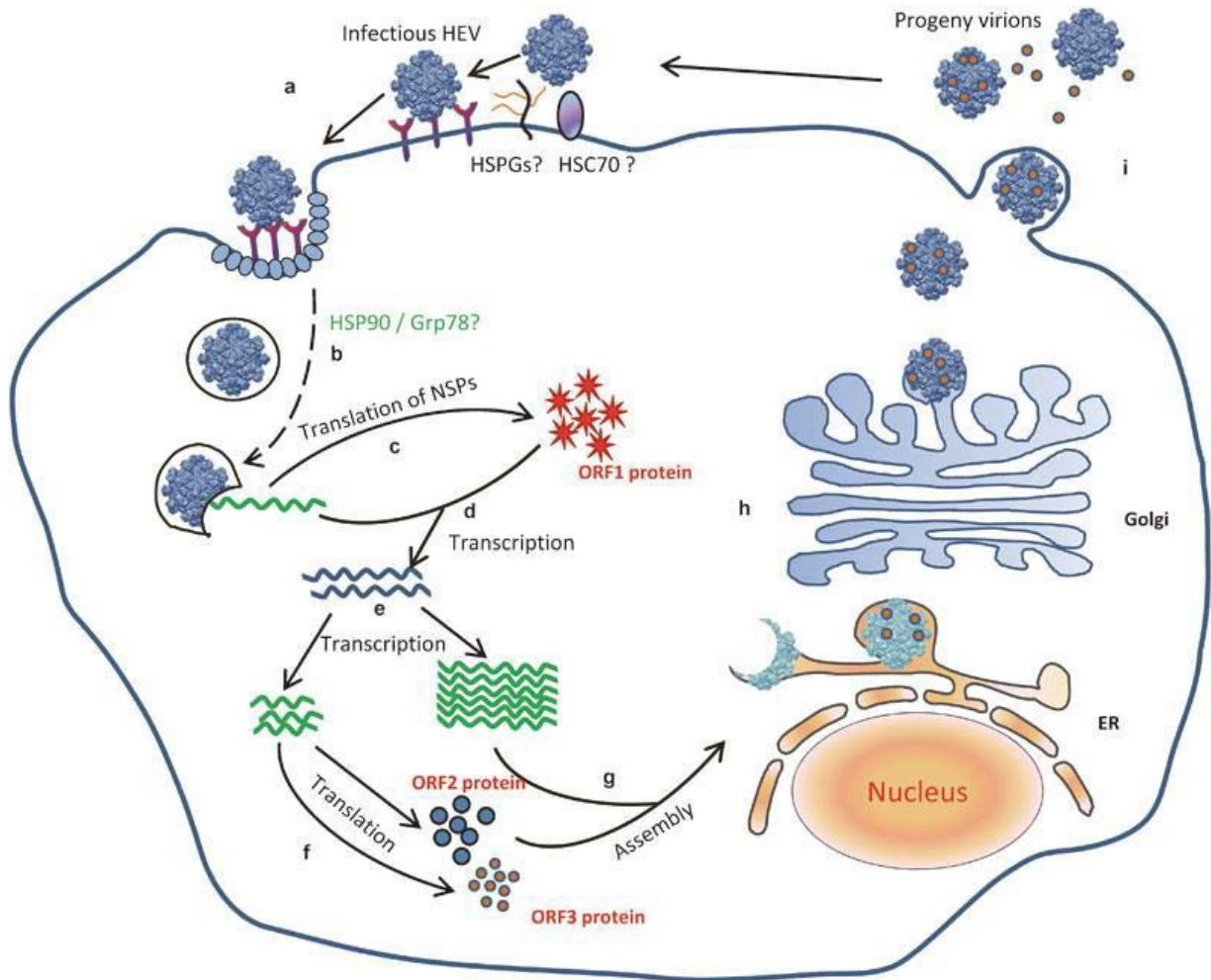


Figure 6 - Cycle de répliation putatif du virus de l'hépatite E (Cao et Meng, 2012)

Les connaissances actuelles sur la répliation du VHE sont, dans une large mesure, basées sur l'analyse de son génome et déduites par analogie avec les autres virus à ARN (Ahmad et al., 2011). Le site principal de répliation du virus est l'hépatocyte. Les principales étapes de répliation virale sont présentées sur la Figure 6. Cependant, en raison de l'absence de systèmes de cultures cellulaires efficaces et de modèles *in vivo* sur petits animaux, ces connaissances sont limitées (Chandra *et al.*, 2008). Récemment, certaines lignées cellulaires du foie (PLC/PRF/5 ; HepaRG, etc.), du poumon (A549) et d'embryon (PCM-19) se sont avérées permissives à l'infection par le VHE (Tanaka *et al.*, 2007 ; Okamoto, 2011 ; Rogee *et al.*, 2013) mais peu d'informations spécifiques au cycle cellulaire du virus ont été obtenues.

Dans un modèle porcin (Rogee *et al.*, 2013), le profil protéomique de cellules de foies a été évalué aux cours de l'infection à VHE (Rogée *et al.*, 2015). L'analyse de ce modèle d'infection non-pathogène a montré qu'au cours de l'infection virale, plusieurs voies cellulaires impliquées dans la survie des cellules ou le métabolisme des lipides et du cholestérol sont modifiés. En outre, des différences ont été observées entre les différentes souches porcines, ce qui suggère que la variabilité génétique du VHE pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse. Certaines protéines dont on sait qu'elles jouent un rôle dans la réplication d'autres virus ont été identifiées dans cette étude, ce qui donne un aperçu des mécanismes cellulaires modulés au cours de l'infection VHE.

Aucun récepteur cellulaire n'est connu à ce jour. Toutefois, les héparane-sulfate protéoglycanes (HSPGs) semblent servir de récepteurs pour la fixation de la capsid virale (Kalia *et al.*, 2009). En outre la protéine de choc thermique HSP90 (Heat-Shock Protein 90) et la tubuline pourraient être impliquées dans l'entrée du virus dans la cellule (Zheng *et al.*, 2010). La localisation ainsi que les mécanismes aboutissant à la décapsidation de l'ARN dans le cytoplasme sont inconnus. Une fois l'ARN viral libéré dans le cytosol de la cellule, la traduction de l'ORF1 par le ribosome et sa transcription en brin négatif intermédiaire du génome viral sont initiées (Panda *et al.*, 2000), permettant la synthèse des ARN génomiques et subgénomiques de sens positifs. Ces brins d'ARN subgénomiques synthétisés serviront ensuite de modèle pour la traduction des ORF2 et ORF3 (Huang *et al.*, 2007, Graff *et al.*, 2006 ; Yamada *et al.*, 2009), ce qui entraînera l'encapsidation et la sortie des nouveaux virions de la cellule infectée. Les mécanismes aboutissant à la libération du virus dans le sang et la bile ne sont pas cytolytique (Tanaka *et al.*, 2007).

5. Immunité

Chez les individus sains, l'infection par le VHE conduit aux réponses immunitaires innées et adaptatives.

5.1. Réponse immunitaire innée

Chez les patients atteints d'hépatite E aiguë, une augmentation importante et réversible du nombre de cellules NK et des lymphocytes T a été constatée en comparaison au nombre observé chez des témoins sains. Elle suggère un rôle de l'immunité innée dans la pathogenèse de l'infection VHE (Srivastava *et al.*, 2008), d'autant plus qu'une

augmentation des titres sériques des IFN- γ et TNF- α a été observée lors de la phase inflammatoire (Srivastava *et al.*, 2011).

5.2. Réponse immunitaire adaptative spécifique

La réponse humorale suit une évolution classique avec l'apparition précoce des IgM au début des signes cliniques mais ceux-ci peuvent persister jusqu'à 32 semaines (Huang *et al.*, 2010). Les IgG apparaissent au pic des transaminases, moins de 10 jours après, augmentent tout au long de la phase aiguë et de convalescence, et persistent habituellement pendant plusieurs années (Favorov *et al.*, 1992; Dawson *et al.*, 1992). Les transaminases reviennent à la normale vers la 10^{ème} semaine. Les anticorps anti-VHE apparus après une infection symptomatique ou non, sont protecteurs, mais ils n'empêchent pas la réplication et l'excrétion virales.

La réponse cellulaire joue un rôle important dans le contrôle de l'infection par le VHE. En effet des études ont montrés que les PBMC des patients atteints d'hépatite aiguë E étaient stimulés par les peptides de la capsid du VHE (Naik *et al.*, 2002; Shata *et al.*, 2007; Srivastava *et al.*, 2007). Cette stimulation des PBMC n'entraîne pas l'augmentation des taux de CD4/CD8+ chez les patients atteints d'hépatite aiguë E par rapport aux personnes contrôles (témoins) (Tripathy *et al.*, 2012). Mais l'association d'une réponse spécifique des lymphocytes T, avec l'élimination de l'infection a été suggérée (Suneetha *et al.*, 2012). Un rôle positif de la réponse T anti-VHE est aussi en accord avec la découverte d'hépatite chronique E chez les patients immunodéprimés qui présentent une faible réponse des cellules T, entraînant l'impossibilité d'éliminer l'infection virale (Kamar *et al.*, 2008). Toutefois la présence de CD8+ a été signalée dans le foie des patients atteints d'hépatite fulminante, suggérant que la balance de la réponse T cytotoxique intervient dans la pathogénèse de l'hépatite E (Husain *et al.*, 2011; Prabhu *et al.*, 2011).

6. Clinique

Le VHE est généralement responsable d'infection asymptomatique spontanément résolutive chez les personnes immunocompétentes. Cependant des formes ictériques ou fulminantes sont possibles avec les taux de létalité de 0,5 % - 4 % (Khuroo, 1980 ; Aggarwal, 2011).

Dans les zones non endémiques (pays industrialisés), la sévérité de l'infection est corrélée à l'âge du patient avec une fréquence plus élevée chez les alcooliques et malades du foie par rapport aux zones endémiques où les formes les plus symptomatiques sont observées chez les jeunes-adultes (Dalton *et al.*, 2008).

Cependant, les signes cliniques associés à l'infections du VHE sont les mêmes dans les pays développés et en développement (Pavio et Mansuy, 2010). Après une période d'incubation de 3 à 5 semaines (40 jours environ), la phase pré-ictérique d'une durée de 1 à 27 jours est caractérisée par un syndrome pseudo-grippal avec une perte d'appétit, anorexie, constipation, diarrhée, fatigue, malaise, myalgie, douleur abdominale parfois, nausées, vomissements, fièvre à 38 et 39 °C pour la majorité des cas (Purcell et Emerson, 2008). A la phase d'état de 10 à 24 jours, l'ictère est associé à des urines foncées et des selles décolorées, une hépatomégalie, voire une splénomégalie (Viswanathan *et al.*, 1957 ; Dalton *et al.*, 2008). En outre, les symptômes sont généralement accompagnés d'augmentation d'enzymes hépatiques, à savoir la bilirubine, l'aspartate aminotransférase (AST) et l'alanine aminotransférase (ALT) (Srivastava *et al.*, 2011 ; Rein *et al.*, 2012). L'évolution de l'infection est le plus souvent favorable dans un délai de 3 à 5 semaines (OMS, 2004).

Curieusement, les formes sévères avec des tableaux d'hépatite fulminante (FHF) sont observées principalement au cours d'épisodes épidémiques. Cette forme fulminante de l'hépatite aigüe E se caractérise par l'apparition d'une encéphalopathie quatre semaines après les premiers symptômes. Les complications associées sont : œdème cérébral, coagulopathie, nécrose hépatocytaire, insuffisance rénale, œdème pulmonaire, troubles cardiovasculaires et coma (Alam *et al.*, 2009). Le taux de survie varie selon l'évolution de la maladie (Vaquero et Blei, 2003). En effet avec un taux de mortalité estimé à 40% (FHF), le taux de survie peut atteindre 42% selon la réponse des patients aux traitements administrés qui restent essentiellement symptomatiques. Cependant 12% des cas de FHF nécessitent une transplantation hépatiques (Bower *et al.*, 2007).

La fréquence des hépatites sévères est de 1 % dans la population générale, mais elle peut atteindre 45 % chez les femmes enceintes. La sévérité de l'infection, maximale au cours du 3ème trimestre de grossesse, est probablement liée à la répllication active du VHE (Kar *et al.*, 2008). Le taux de mortalité maternelle peut atteindre 30 % au cours de cette période avec un risque de transmission verticale (de la mère à l'enfant) dans un

tiers des cas et un taux de mortalité infantile de 10 à 15 % (Kumar *et al.*, 2004 ; Beniwal *et al.*, 2003 ; Khuroo et Kamili, 2009).

Ces cas d'hépatites fulminantes ou sévères chez la femme enceinte semblent être associés à une forte réplication virale du génotype 1 (Kar *et al.*, 2008). En outre, les rares infections à génotype 3 rapportées chez la femmes enceinte étaient aiguës et spontanément résolutive sans transmission à l'enfant (Anty *et al.*, 2012 ; Tabatabai *et al.*, 2014). Le génotype semble donc avoir un effet sur la clinique de l'infection.

Les mutations répertoriées au niveau de l'hélicase du VHE génotype 1 (substitutions nucléotidiques /ou d'acides aminés) pourraient être des marqueurs de pathogénités capable d'influencer l'évolution de l'infection vers une forme fulminante (Mishra *et al.*, 2013).

La surinfection par le VHE de patients atteints d'hépatites chroniques est un facteur aggravant de la décompensation hépatique qui se manifeste par une ascite et une encéphalopathie hépatique plus ou moins prononcée (Aggarwal, 2011). Cette surinfection conduit à une plus forte morbidité et mortalité (Hamid *et al.*, 2002).

Depuis 2006, des formes chroniques d'infection par le VHE, définies par la persistance de l'ARN viral dans le sang ou les selles pendant plus de 6 mois, ont été décrites. Ces cas ont été rapportés chez des patients présentant un déficit immunitaire à savoir les greffés d'organes solides, les patients d'hématologie recevant une chimiothérapie, les patients VIH+ (Péron *et al.*, 2006 ; Izopet *et al.*, 2008 ; Dalton *et al.*, 2011; Koning *et al.*, 2013 ; Kaba *et al.*, 2011). Ces infections chroniques pourraient éventuellement mener à une cirrhose du foie (Gérolami *et al.*, 2008). Tous les cas chroniques de VHE signalés jusqu'à présent étaient de génotype 3.

7. Diagnostic de l'hépatite E

Le VHE ne peut pas être différencié des autres virus hépatiques en se basant uniquement basée sur les signes cliniques (jaunisse ou ictère). Son diagnostic peut s'avérer difficile en raison de ses caractéristiques cliniques et épidémiologiques. Le premier test de détection du VHE reposait sur l'immuno-microscopie électronique (Balayan *et al.*, 1983 ; Bradley *et al.*, 1987). Cette technique n'est pas utilisée en routine du fait de sa sensibilité médiocre et de son application laborieuse à la détection d'un grand nombre d'échantillons (Reyes, 1997 ; Khudyakov et Kamili, 2011).

Par la suite, les analyses au laboratoire basées sur la présence des anticorps spécifiques anti-VHE (analyse sérologique) ou d'ARN viral (analyses moléculaires) dans le sérum ou les selles ont été développées (Herremans *et al.*, 2007). Les tests sérologiques (IgM, IgG) permettent de déterminer si l'infection est récente ou ancienne mais sont inefficaces pour détecter une infection active. A ce jour, seuls les tests moléculaires (PCR) détectant l'ARN viral dans le sérum ou les selles permettent de détecter des infections actives.

Bien que la sérologie donne des informations sur l'infection, un double essai suivi de la détection de l'ARN est recommandé pour éviter les erreurs de diagnostic (Echevarria *et al.*, 2011 ; Huang *et al.*, 2010).

Récemment, certaines lignées cellulaires du foie (PLC/PRF/5 ; HepaRG,...), du poumon (A549) et d'embryon (PCM-19) se sont avérées permissives à l'infection par le VHE (Tanaka *et al.*, 2007 ; Okamoto, 2011 ; Rogee *et al.*, 2013). Cependant la culture cellulaire n'a pas encore été validée comme test diagnostique pour le VHE.

7.1. Analyses sérologiques

Après contagion, le virus est en phase d'éclipse et n'est détectable qu'après 3 à 4 semaines (Figure 7).

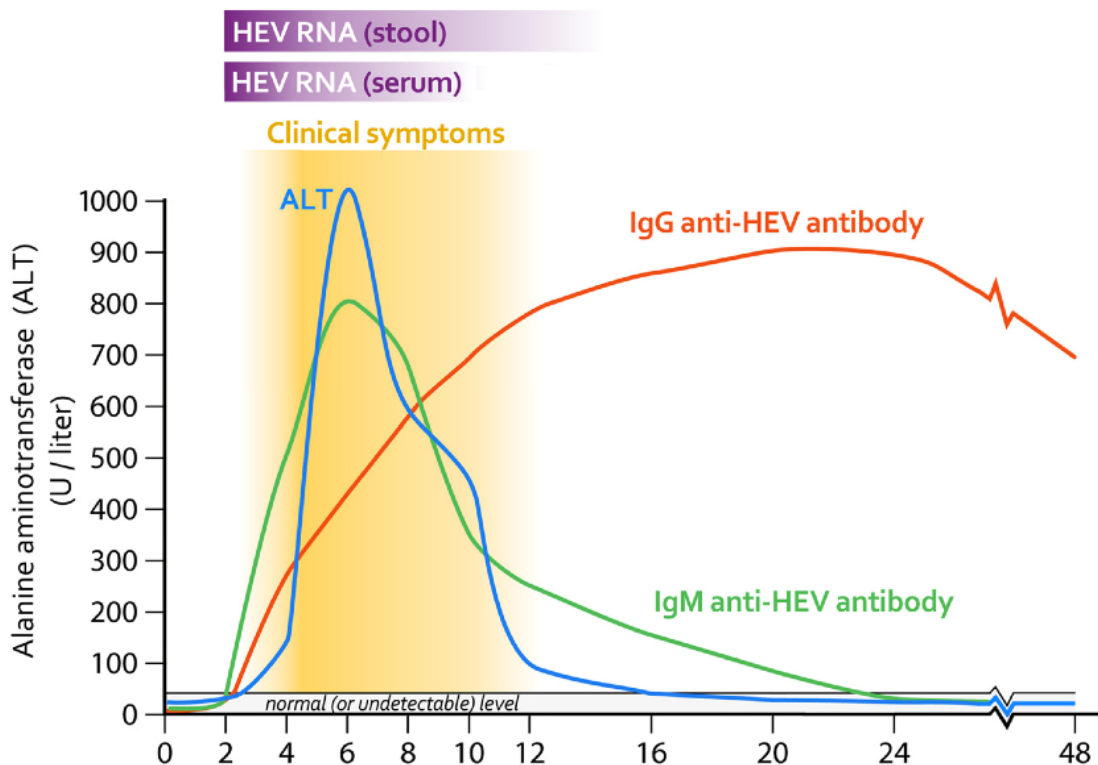


Figure 7 - Marqueurs biologiques d'une hépatite E aiguë résolvante (adapté de Dalton *et al.*, 2008)

Les IgM apparaissent précocement au début de la maladie et peuvent persister jusqu'à 32 semaines (Huang *et al.*, 2010). Les IgG apparaissent peu de temps après les IgM et persistent habituellement plusieurs années (Khuroo *et al.*, 1993 ; Dawson *et al.*, 1992).

Les tests sérologiques sont principalement basés sur la recherche des IgG et IgM anti-VHE par des techniques ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) ou immunochromatographique. L'existence d'un seul sérotype HEV a permis l'utilisation de protéines isolées des génotypes 1 et 2 pour la recherche des anticorps anti-VHE (Emerson *et al.*, 2001). Les antigènes utilisés sont issus d'ORF2 et ORF3. Actuellement plusieurs kits sérologiques issues des protéines recombinantes (Li *et al.*, 1997 ; Yarbough *et al.*, 1991) ou peptides de synthèse (Coursaget *et al.*, 1994; Kaur *et al.*, 1992) sont disponibles en interne ou sur le marché (Medical Biological Service, Italy; Mikrogen Diagnostik, Germany; Beijing Wantai, China; Beijing Bioneovan, China; BioChain Institute, USA and Diagnostic Automation, USA) (Purdy et Khudyakov, 2011; Nicand *et al.*, 2009).

En termes de sensibilité et de spécificité, les performances de ces trousse sont variables, et cela a un effet sur le taux de prévalence rapportés par différentes études (Drobeniuc *et al.*, 2010 ; Khudyakov et Kamili, 2011; Slot *et al.*, 2013). Toutefois les tests ELISA utilisant les protéines recombinantes ont été en générale reconnus plus sensibles que ceux utilisant les peptides synthétiques (Mast *et al.*, 1998).

7.2 Analyses moléculaires

L'ARN viral est présent dans le plasma et les selles des patients infectés. Le pic de virémie se situe au moment de l'apparition des symptômes. Cette virémie deviendra négative à la suite de la régression clinique tandis que l'excrétion fécale est prolongée de 2 semaines (Chandra *et al.*, 2008 ; Renou *et al.*, 2009).

Les tests moléculaires basés sur la PCR reposent sur la présence de l'ARN viral dans le sérum, les tissus, les selles, la bile ou les sources d'eau fortement contaminées par la matière fécale. En effet, les 4 génotypes du VHE peuvent être détectés par PCR nichée (Cooper *et al.*, 2005), PCR en temps réel ou PCR multiplex (Merviel *et al.*, 2010), en utilisant plusieurs couples d'amorces suivant les génotypes, à partir de la région la plus conservée du génome (ORF2) (Nicand *et al.*, 2009). Avec un seuil de détection de 10 à 103 molécules de cDNA/réaction, suivant les techniques, l'excrétion virale dans les selles peut atteindre à 10⁶ molécules d'ADNc. La caractérisation du génotype peut être réalisée dans un second temps par profil de restriction et séquençage (Clayson *et al.*, 1995).

Ces techniques sont essentielles au diagnostic car il a été démontré lors de cas sporadiques survenant principalement dans des régions non endémiques pour le VHE, que la détection du virus par PCR est leur seul critère de diagnostic de certitude, en l'absence de détection des anticorps anti-VHE sérologique, soit par manque de sensibilité des tests sérologiques ou par absence de réponse sérologique. L'expérience a montré que le VHE pouvait être détecté par amplification génique plus de 10 années après la collecte des échantillons conservés à - 20°C (Grandadam *et al.*, 2004).

8. Diversité Génétique du VHE

Alors qu'il n'existe à ce jour qu'un seul sérotype (Emerson *et al.*, 2001), une grande diversité génomique a été observée dans les isolats de VHE. Les souches de VHE infectant l'homme compte quatre principaux génotypes (1 - 4), phylogénétiquement distinct (72 à 77% d'homologie de séquences nucléotidiques) (Schlauder et Mushahwar, 2001) et chacun dominant une région géographique donnée (Purdy and Khudyakov, 2011 ; Holla *et al.*, 2013). Les génotypes 1 et 2, responsables d'épidémies chez l'homme, principalement dans des pays tropicaux et subtropicaux à faible niveau d'hygiène, sont aussi capables d'infecter des primates non humains (Figure 8).

Les prototypes des génotypes 1 et 2 sont respectivement la souche Burma et la souche Mexico.

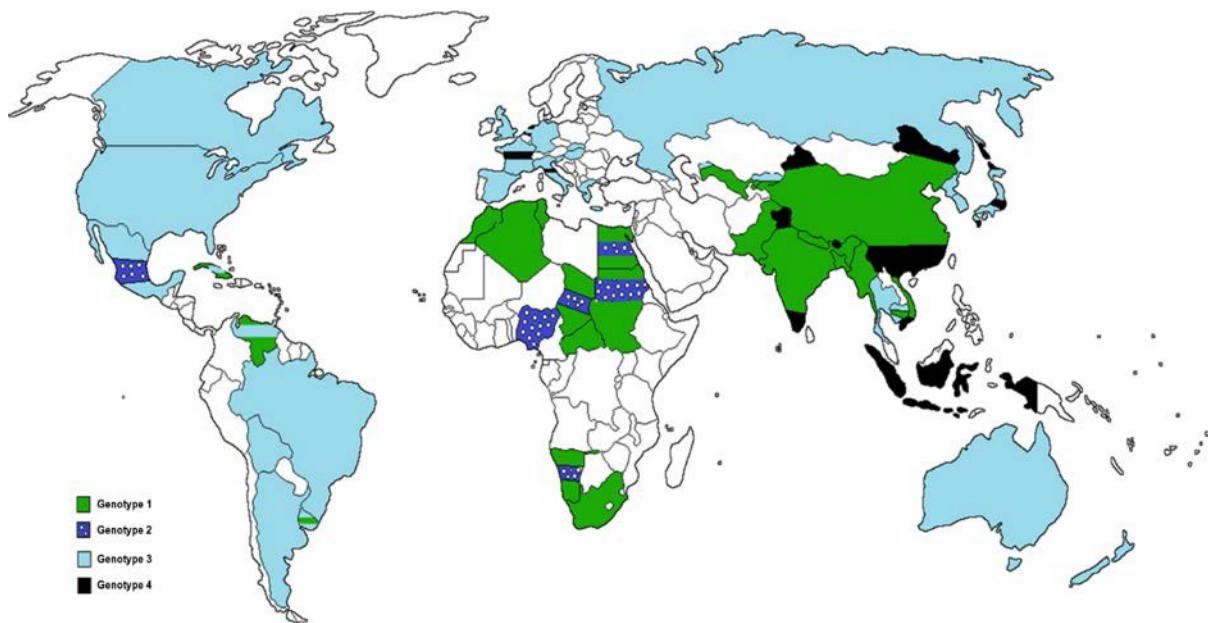


Figure 8 : Répartition des génotypes du VHE dans le monde (Mirazo et al., 2014). Les génotypes 1 et 2 sont retrouvés dans des épidémies en Asie dans plusieurs pays d'Amérique latine en l'Afrique et au Mexique. Génotypes 3 et 4 sont des souches zoonotiques et ont été isolés dans des cas sporadiques chez l'homme et dans plusieurs réservoirs animaux, porcs domestiques et sauvages ou cerfs. Le génotype 3 est distribué dans le monde entier chez les porcs domestiques et chez l'homme à son contact alors que le génotype 4 a été principalement signalé en Europe centrale et d'Asie du sud-est

Les génotypes 3 et 4 sont capables d'infecter non seulement les humains, mais aussi les animaux domestiques dans le monde entier (Figure 7), en particulier les porcs et les sangliers (Yugo et Meng, 2013 ; Liu et al., 2013 ; Holla et al., 2013 ; Cossaboom et al., 2012 ; Sanford et al., 2013).

Les différents sous-types des 4 génotypes majeurs ayant 85 à 90% d'homologie de séquences nucléotidiques, ont été divisés respectivement en 5 sous-types pour le génotype 1 (1a-1e), 2 pour le génotype 2 (2a-2b), 10 pour le génotype 3 (3a-3j) et 7 pour le génotype 4 (4a-4g) (Lu *et al.*, 2006) (Figure 9).

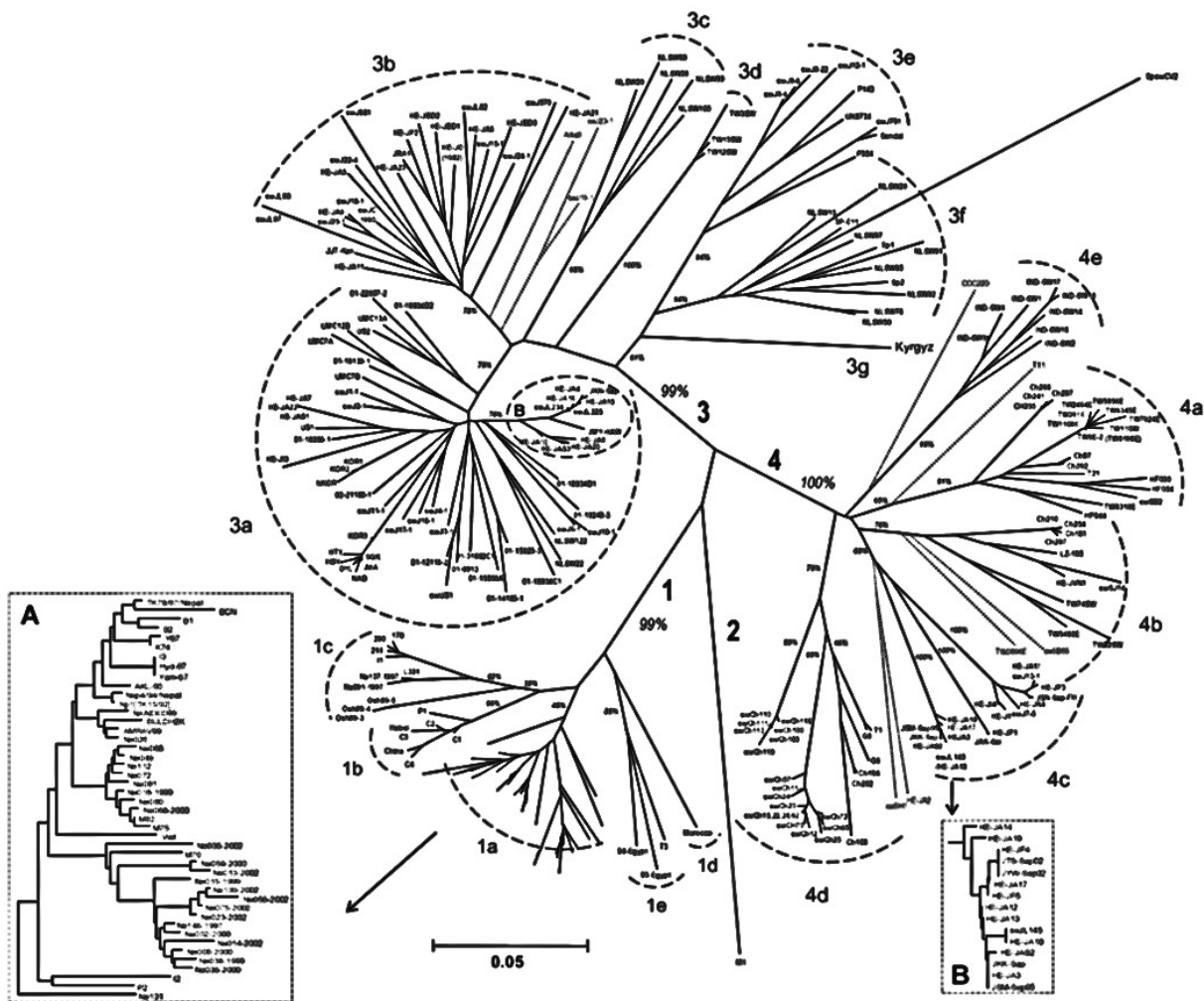


Figure 9 - Arbre phylogénétique représentant les 24 sous-types établis par Lu *et al.* en 2006 à partir de 275 séquences de 301nt de la partie 5' de l'ORF2

Cette classification proposée par Lu et al, est largement utilisée comme référence, mais peut être critiquée par l'utilisation massive de séquences partielles. En effet, parmi les dernières séquences complètes ou partielles obtenues (9173 séquences et 277 génomes complets désormais disponibles ; VIPR, 2015), certains sous-types n'ont pas pu être classifiés. La classification des sous-groupes proposée jusqu'à présent devait être reconsidérée (Smith *et al.*, 2013).

Comme pour de nombreux virus à ARN, la classification génétique du VHE est rendue d'autant plus complexe par la présence de quasi-espèces c'est-à-dire l'existence d'une population virale hétérogène d'un même virus chez un même individu (Grandadam *et al.*, 2004 ; Kamar *et al.*, 2010), la possibilité de surinfection par différentes

souches et la mise en évidence de recombinaison inter et intragénotypiques (Van-cuyck *et al.*, 2005 ; Chen *et al.*, 2012).

Ces dernières années, l'identification de nouveaux génotypes de VHE (Figure 10), infectant le sanglier (Takahashi *et al.*, 2011), le cerf (Boadella *et al.*, 2010; Rutjes *et al.*, 2010), le rat (Johns *et al.*, 2010; Purcell *et al.*, 2011), le lapin (Zhao *et al.*, 2009; Cossaboom *et al.*, 2011), le furet (Raj *et al.*, 2012), la mangouste (Nakamura *et al.*, 2006), la chauve-souris (Drexler *et al.*, 2012), le poulet (Haqshenas *et al.*, 2001 ; Meng *et al.*, 2011 ; Marek *et al.*, 2010), la truite fardée (Meng, 2013), et le chameau (Woo *et al.*, 2014) pourrait faire évoluer la classification actuelle du virus.

Smith *et al.*, suggèrent une classification des *Hepeviridae* (soit les VHE) en 4 groupes partageant 50 à 77,4% d'identités nucléotidiques qui correspondront aux VHE infectants : A) l'homme, B) les poulets, C) les chauves-souris, et D) les rats et furets. Les VHE infectant la truite fardée et partageant 13 – 27 % d'identités avec les quatre groupes précédents, constituera un nouveau genre à part (Smith *et al.*, 2013). Le groupe A, responsable d'infections chez les espèces mammifères se compose de sept génotypes qui ont environ 72 à 82% d'homologie de séquences nucléotidiques (Van-Chuck *et al.*, 2005 ; Bouquet *et al.*, 2011) : Les génotypes 1 et 2 sont retrouvés exclusivement chez l'homme, les génotypes 3 et 4 chez quelques mammifères (hommes, suidés, cerfs, mangouste, lapin) (Takahashi *et al.*, 2011), et enfin les nouveaux génotypes 5, 6 et 7 respectivement chez le sanglier et le chameau (Yugo et Meng, 2013 ; Pavo *et al.*, 2015). A côté des souches de mammifères, 3 génotypes distincts (aHEV 1, 2 et 3) appartiennent aux souches aviaires, avec des répartitions géographiques distinctes : USA, Europe et Australie (Marek *et al.*, 2010 ; Peralta *et al.*, 2009).

Oliveira-Filho *et al.* proposent une classification du VHE en 5 génotypes tout en modifiant la taxonomie actuelle du génotype 3 : les 4 génotypes majeurs associés à un 5ème génotype correspondant aux souches isolées chez le sanglier. Cependant le génotype 3 est divisé en 3 sous-groupes partageant 18-20% de divergences nucléotidiques entre eux : le sous-groupe 3.1 (contenant les séquences humaines et animales obtenues en Asie (Japon, Chine, Corée, Mongolie), Amérique du Nord (USA, Canada) et Allemagne, le sous-groupe 3.2 (contenant les séquences récemment obtenues en Europe, Japon, Thaïlande et au Kirghizistan) et enfin le sous-groupe 3.3 (contenant les souches VHE de lapins obtenues en Chine). Les virus infectant les rats, chauves-souris et

furets pourraient constituer de nouveaux genres, tout comme les souches aviaires. La souche isolée chez la truite fardée, quant à elle, pourrait être classée dans une nouvelle famille (Oliveira-Filho *et al.*, 2013).

Meng propose une classification du VHE en plusieurs genres : le genre Orthohepevirus infectant une large gamme d'espèces mammifères (les 4 génotypes majeurs et les génotypes isolés chez le sanglier, le chameau, le rat et le furet), le genre Avihepevirus pour les souches aviaires, le genre Piscihepevirus pour les souches isolée chez la truite et le genre Chiropteranhepevirus pour les souches isolées chez la chauve-souris (Meng, 2013).

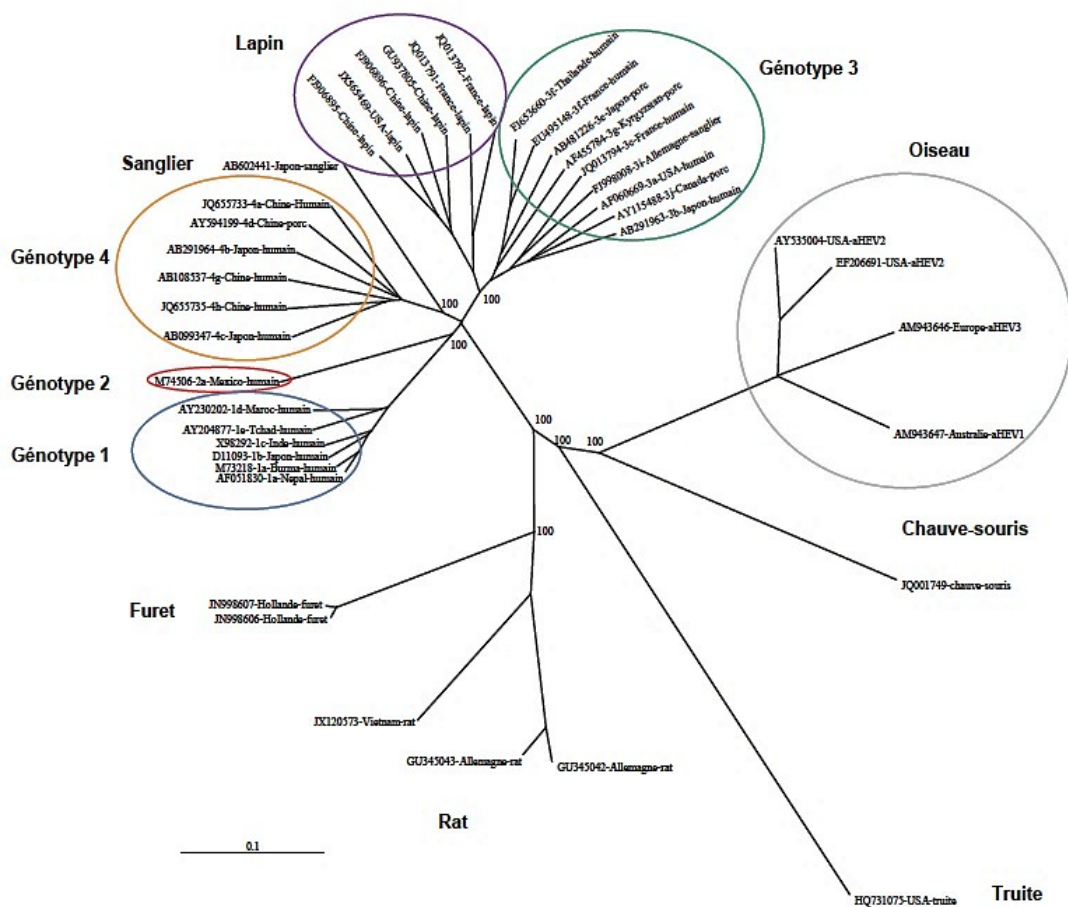


Figure 10 -Arbre Phylogénétique de la famille des *Hepeviridae* et espèces apparentées (L'Homme, 2013)

II. Epidémiologie

1. Mode de contamination

Plusieurs voies de transmission possibles du VHE sont maintenant connues. Elles sont illustrées dans la Figure 11.

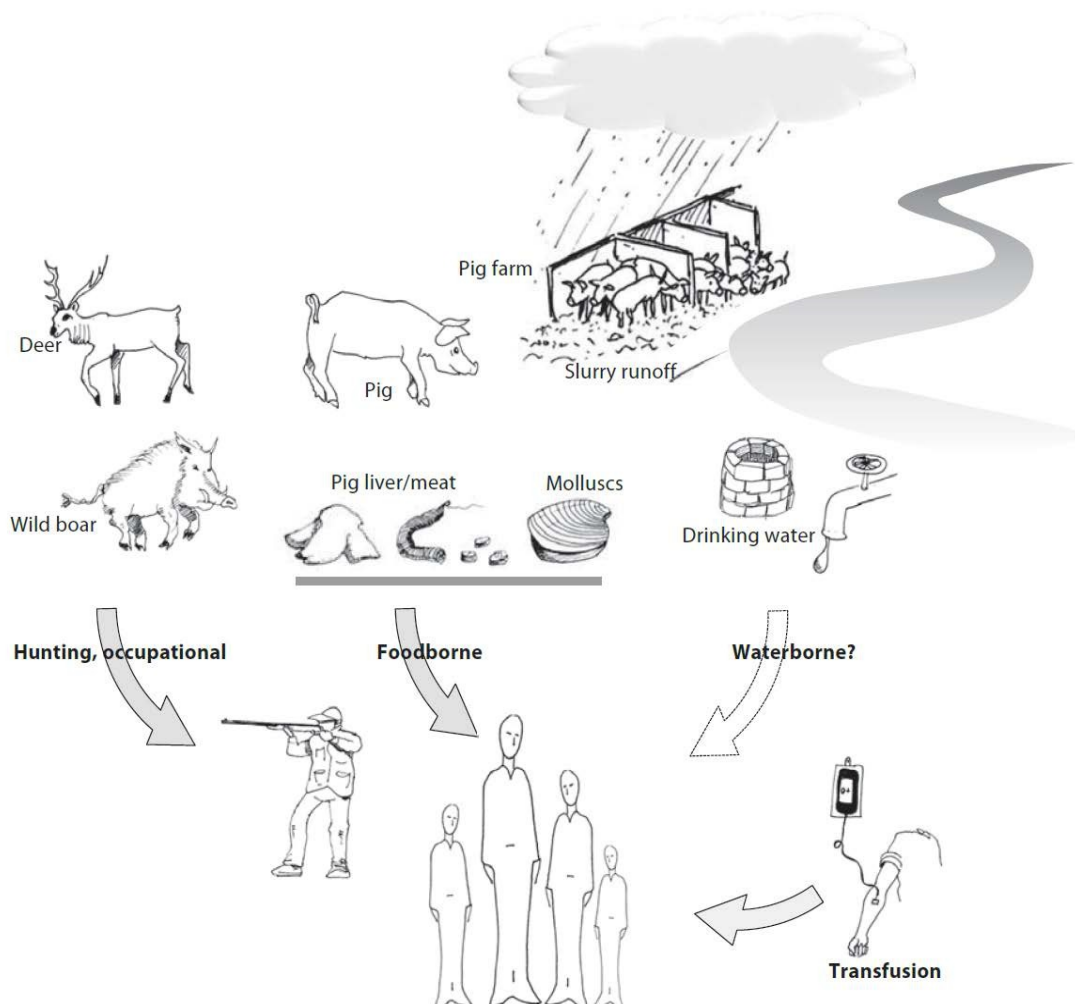


Figure 11 : Voies de contamination possible par le VHE (Kaba *et al.*, 2013)

1.1. Transmission féco-orale par consommation d'eau et d'aliments souillés

Le VHE est généralement transmis à l'homme par voie féco-orale dans les zones où le niveau d'hygiène collectif est insuffisant (Figure 12). En effet, les infections VHE de génotypes 1 et 2 sont favorisées par le manque d'hygiène collective, l'insuffisance voire l'absence de réseaux d'assainissement des eaux usées et certains cas de catastrophes naturelles telles que les inondations, les fortes pluies, les conduites d'eau fendues (Kaba *et al.*, 2013 ; Hazam *et al.*, 2010).

L'eau potable, contaminée par la matière fécale, servira de source de contamination à travers son utilisation dans les activités quotidiennes de la population, en particulier des endroits surpeuplés tels que des camps de réfugiés et les bidonvilles (eau de boisson, de lavage d'aliments ou d'irrigation des champs) : La plupart des épidémies ont été décrites dans les pays à faible niveau d'hygiène, après la consommation d'eau contaminée par des matières fécales (Viswanathan, 1957 ; Naik *et al.*, 1992; Ray *et al.*, 1991 ; Corwin *et al.*, 1996 ; Vivek *et al.*, 2010). En outre le relargage d'eaux contaminées dans l'eau de mer pourrait être à l'origine de la contamination des fruits de mer en particulier des coquillages bivalves (Li *et al.*, 2007 ; Namsai *et al.*, 2011 ; Said *et al.*, 2009 ; Diez-Valcarce *et al.*, 2012 ; Crossan *et al.*, 2012 ; Song *et al.*, 2010).

Ce mode de transmission ne doit pas être exclu dans les pays industrialisés d'autant plus que le VHE a été détecté dans les eaux de surface, les champs, les eaux usées le fumier (Borgen *et al.*, 2008 ; Rutjes *et al.*, 2009; Brassard *et al.*, 2012 ; Steyer *et al.*, 2011, La Rosa *et al.*, 2010).



Figure 12 - Photo d'une source d'eau polluée (Khuroo, 2011). Conditions d'hygiène pauvres autour d'une source d'eau lors d'une épidémie d'hépatites virales E en Inde, 1978.

1.2. Transmission interhumaine

Le rôle de la transmission directe de personne à personne VHE est encore controversée mais reste possible (Aggarwal et Naik, 1992 ; Teshale *et al.*, 2010).

Cependant des facteurs associés à la collectivité (eau de boisson commune, lavage commun des mains ou manger en groupe) peuvent offrir des possibilités répétées de contamination croisée de l'eau et des aliments et favoriser l'apparition de bouffées épidémiques (Tei *et al.*, 2003; Colson *et al.*, 2010 ; Teshale *et al.*, 2010).

1.3. Transmission materno-fœtale

La transmission verticale du VHE de la mère à l'enfant VHE est très fréquente en zone d'endémie (Inde, Émirats Arabes Unis...). Selon les études, elle varie de 33 à 100% (Khuroo *et al.*, 1995; Khuroo et Kamili, 2009 ; Kumar *et al.*, 2004). Le VHE provoque une grave atteinte hépatique chez les nourrissons avec de forts taux de morbidité et mortalité néonatale pouvant atteindre 40 % (Khuroo *et al.*, 2009 ; Kumar *et al.*, 2001 ; Rayis *et al.*, 2013). A ce jour, les nombreux cas d'hépatite E rapportés chez les femmes enceintes ont été associés essentiellement au génotype 1 du VHE. Toutefois, le génotype 3 a été associé à une hépatite aiguë chez la femme enceinte sans transmission verticale (France, Allemagne) (Anty *et al.*, 2012 ; Tabatabai *et al.*, 2014).

1.4. Transmission parentérale (transfusionnelle ou suite à des greffes)

La transmission parentérale du VHE a été initialement décrite de façon expérimentale chez des singes Rhésus (Xia *et al.*, 2004), puis rapportée chez des patients transfusés à partir de donneurs de sang asymptomatiques aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays industrialisés (Khuroo *et al.*, 2004 ; Boxall *et al.*, 2006 ; Colson *et al.*, 2007 ; Kumar *et al.*, 2013). En effet de forts taux d'IgG anti-VHE, indiquant une infection subclinique passée (Dawson *et al.*, 1992), des niveaux élevés de transaminases (ALAT (Fukuda *et al.*, 2004)) et enfin plusieurs cas de transmission du VHE par transfusion (Matsubayashi *et al.*, 2008 ; Huzly *et al.*, 2014), ou après transplantation avec un risque de développer une infection chronique (kamar *et al.*, 2011, Mitsui *et al.*, 2004), ont été signalés à travers le monde. Cette transmission parentérale du virus pourrait s'expliquer par l'existence de phase de virémie d'au moins 2 semaines (Renou *et al.*, 2011) et l'existence d'infections asymptomatiques (Baylis *et al.*, 2012). Ce mode de transmission est une préoccupation pour la sécurité transfusionnelle (Kaufmann *et al.*, 2011 ; Ehteram *et al.*, 2013; Cheng *et al.*, 2012 ; Gajjar *et al.*, 2014), suggérant ainsi son dépistage chez les donneurs.

1.5. Transmission zoonotique

Le rôle potentiel des animaux d'élevage ou domestiques comme réservoir de l'infection est suggéré par le fait que de nombreuses espèces animales sont sensibles à ce virus, en particulier les suidés (Meng *et al.*, 1997 ; Clemente-Casares *et al.*, 2003).

Contrairement aux autres virus hépatiques, la transmission inter-espèce a été démontrée expérimentalement par voie orale ou parentérale (voie veineuse) (Tableau 1), en infectant des macaques et porcs à partir de souches de VHE de génotype 3 ou 4 respectivement d'origine porcine et humaine (Meng *et al.*, 1998 ; Feagins *et al.*, 2008). En outre, le VHE lapin de génotype 3 est capable d'infecter le porc (Cossaboom *et al.*, 2012), et sa transmission à l'homme bien que non directement démontrée, est confortée par l'identification d'une souche VHE humaine ayant 80-85 % d'identité nucléotidique avec celle isolée du lapin (Izopet *et al.*, 2012). Les souches isolées chez les poulets et rats semblent incapables d'infecter le macaque (Huang *et al.*, 2004 ; Purcell *et al.*, 2011) ou le porc (Pavio *et al.*, 2010 ; Cossaboom *et al.*, 2012), et suggèrent l'absence de risque de transmission de ces souches animales à l'homme ou le manque d'outils moléculaires pour les détecter chez l'homme.

Tableau 1 - Modèles expérimentaux inter-espèces du virus de l'hépatite (Bouquet, 2012)

Génotype	Hôte Naturel	Modèle expérimental	Sérologie	Infection	Référence
1	Homme	Macaque	+	+	(Tsarev et al., 1995)
		Porc	-	-	(Meng et al., 1998a)
		Lapin	+	-	(Ma et al., 2010)
2	Homme	Macaque	+	+	(Li et al., 2006)
		Porc	-	-	(Meng et al., 1998a)
3	Homme	Macaque	+	+	(Erker et al., 1999)
		Porc	+	+	(Meng et al., 1998a)
	Porc	Macaque	+	+	(Meng et al., 1998b)
		Porc	+	+	(Meng et al., 1998b)
4	Homme	Macaque	+	+	(Ma et al., 2009)
		Porc	+	+	(Feagins et al., 2008)
		Lapin	+	+	(Ma et al., 2010)
	Porc	Macaque	+	+	(Arankalle et al., 2006)
		Porc	+	+	(Arankalle et al., 2002)
Lapin	Lapin	Lapin	+	+	(Ma et al., 2010)
		Porc	+	+	(Cossaboom et al., 2012)
Rat	Rat	Rat	+	+	(Purcell et al., 2011)
		Macaque	-	-	(Purcell et al., 2011)
		Porc	-	-	(Cossaboom et al., 2012)
Aviaire	Poulet	Poulet	+	+	(Huang et al., 2004)
		Dinde	+	+	(Sun et al., 2004)
		Macaque	-	-	(Huang et al., 2004)
		Porc	-	-	(Pavio et al., 2010)

Le VHE restant infectieux jusqu'à 60° c, suggère la possibilité de sa transmission par la consommation de produits (organes ou tissus) crus ou légèrement cuits à la vapeur (Yugo et Meng, 2013, Pavio *et al.*, 2015) : plusieurs cas de transmission zoonotiques directes du VHE à l'homme ont été recensés après la consommation de denrées contaminées, peu ou mal cuites : viande de cerf sous forme de shushi (Tei *et al.*, 2003), barbecue de porc ou sanglier (Li *et al.*, 2005 ; Riveiro-Barciela *et al.*, 2014 ; Renou *et al.*, 2014), foie de porc grillé ou cru (Yazaki *et al.*, 2003). L'origine animale de l'infection de ces patients, repose en fait sur l'homologie des séquences (99,95% à 100%)

entre les souches humaines et celles isolées dans les denrées alimentaires conservées (Tei *et al.*, 2003).

Des souches de VHE génotypes 3 ou 4, isolés du foie, saucisse de foie de porc, figatelles, abats et viandes de sanglier, ont été rapportés à travers le monde (Feagins *et al.*, 2007 ; Wichmann *et al.*, 2008 ; Colson *et al.*, 2010 ; Rose *et al.*, 2011 ; Wenzel *et al.*, 2011 ; Meng, 2011 ; Miyashita *et al.*, 2012 ; Berto *et al.*, 2012 ; Pavio *et al.*, 2014). En parallèle, la réussite de la culture virale 3D du VHE isolés de saucisses de foies de porc positifs, en utilisant une lignée cellulaire hépatique sensible à l'infection (PLC/PRF/5) a été rapporté (Berto *et al.*, 2013) ; ce qui confirme la présence de virus infectieux dans de ces foies de porc et suggère que des mesures doivent être prises pour garantir la sécurité de ces aliments.

La contamination de l'homme par l'animal est également argumentée par la prévalence plus élevée d'anticorps anti-VHE chez les personnels d'abattoirs ou d'élevage porcins et chez les vétérinaires, par comparaison avec une population témoin non exposée, suggérant ainsi qu'une contamination directe ou indirecte est possible (Bouwknegt *et al.*, 2008; Krumbholz *et al.*, 2012; Meng *et al.*, 2002; Galiana *et al.*, 2008).

2. Répartition géographique

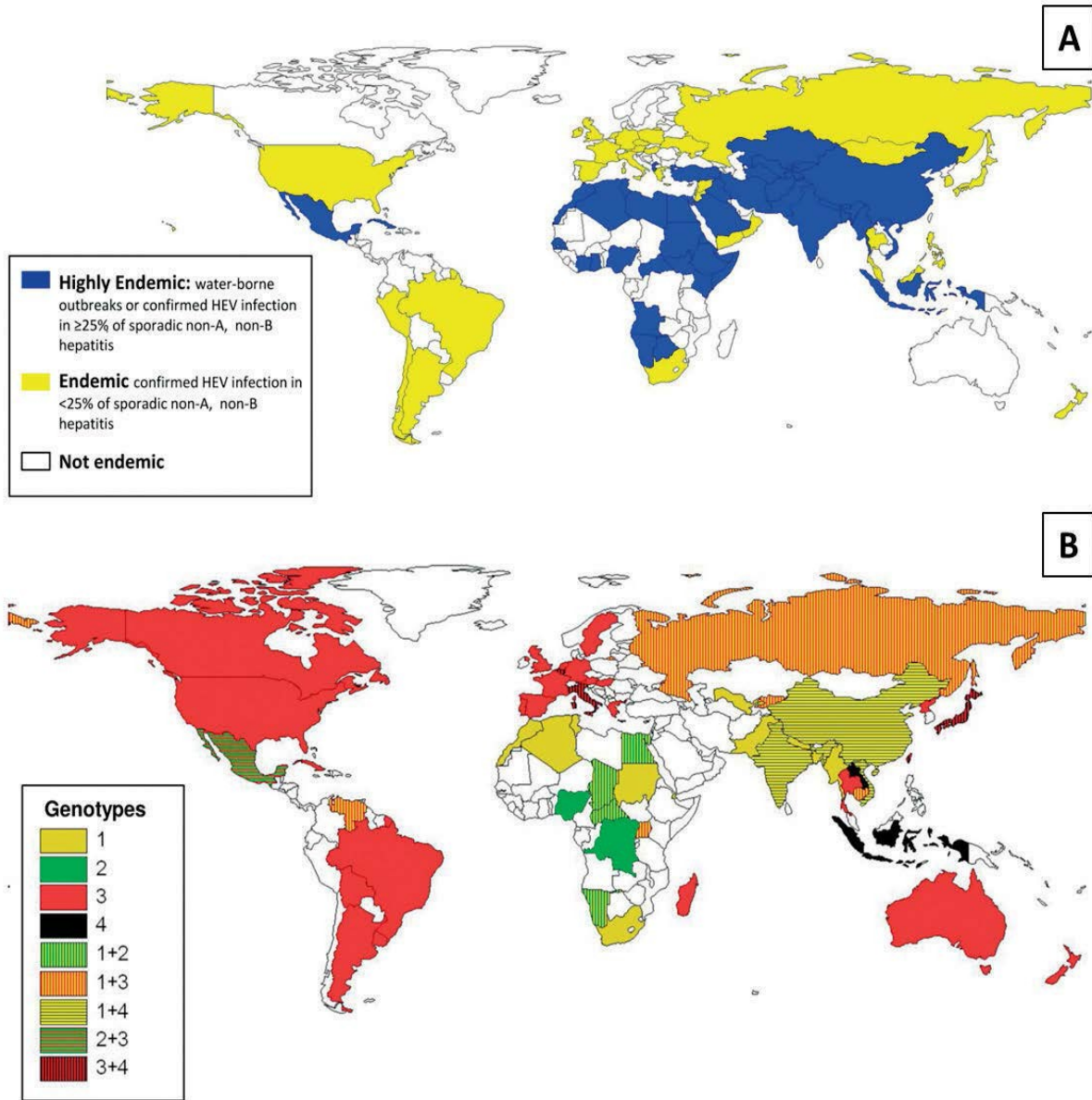


Figure 13 : Répartition des infections humaine par le VHE dans le monde (Ruggeri *et al.*, 2013)

2.1. Pays endémiques

Le VHE, agent causal de l'hépatite E, est responsable d'une forme majeure d'hépatite virale aiguë. La maladie est endémique dans de nombreux pays en voie de développement, notamment dans le sous-continent Indien (Inde, Pakistan, Bangladesh), en Asie du Sud-Est (Birmanie, Thaïlande, Indonésie, Chine, Népal), en Afrique (Pays du Maghreb, Egypte, Somalie, Kenya) et en Amérique Latine (Mexique) (Buisson *et al.*, 1994

; Nicand *et al.*, 2009 ; Panda et Jameel 1997; Jameel, 1999) (Figure 13). Dans ces pays où le niveau d'hygiène collectif est insuffisant, se produisent de grandes épidémies d'origine hydrique et des cas sporadiques qui sont associés généralement aux isolats de génotypes 1 et 2 (Figure 13): le génotype 1 est retrouvé en Asie et en Afrique, et le génotype 2 au Mexique ainsi que dans certains pays d'Afrique (Nigéria, Tchad, etc.) (Lu *et al.*, 2006). Le VHE génotype 3 a récemment été détecté dans les eaux de rivière au Cambodge suggérant une possible transmission hydrique du génotype 3 dans les pays endémiques (Kitajima *et al.*, 2009)

On estime qu'environ 2 milliards de personnes vivent dans des zones endémiques pour le VHE où les forts taux d'infection se produisent. Les données de séroprévalence dans ces zones, peuvent varier jusqu'à 80% (Abe *et al.*, 2006 ; Gad *et al.*, 2011). L'infection touche principalement des jeunes hommes adultes, les patients atteints de maladie chronique du foie et les femmes enceintes (Zhang *et al.*, 2011 ; Martolia *et al.*, 2009 ; Guthmann *et al.*, 2006)

2.2. Pays à faible endémies

Dans les pays industrialisés, les cas d'hépatite E associés probablement aux génotypes 1 et 2, étaient liés aux voyages en zones d'endémies (Bader *et al.*, 1991 ; Balayan *et al.*, 1993 ; Lavanchy *et al.*, 1994 ; Heath *et al.*, 1995). Cependant au début des années 2000, de fortes prévalences d'hépatite E ont été décrits chez des donneurs de sang et personnes à priori saines n'ayant pas d'antécédents de voyage en zone d'endémie (Mast *et al.*, 1997; Meng 2000, Schlauder *et al.*, 1998) (Figure 13).

Ces cas autochtones ont été associés aux génotypes 3 et 4 du VHE retrouvés aussi bien chez l'homme que l'animal (Lack *et al.*, 2012 ; Izopet *et al.*, 2012 ; Dalton *et al.*, 2008) (Figure 13). Le génotype 3, est retrouvé majoritairement dans les cas sporadiques humains en Amérique du Nord et du Sud, en Europe et au Japon (Dalton *et al.*, 2008, Mansuy *et al.*, 2009 ; Wichmann *et al.*, 2008), tandis que le génotype 4, largement identifié en Asie (Japon, Chine, Inde, Indonésie, Taiwan etc.) (Lu *et al.*, 2006), a récemment été signalé en Europe (Italie, Belgique, France, Allemagne) (Monne *et al.*, 2014 ; Hakze-van der Honing *et al.*, 2011 ; Colson *et al.*, 2012).

Dans ces pays l'infection touche essentiellement des personnes âgées, des alcooliques, des hommes, des personnes immunodéprimées, des patients atteints de

maladies chroniques du foie (Takeda *et al.*, 2010 ; Peron *et al.*, 2007). Quant à la séroprévalence observée, elle peut atteindre 53% (Mansuy *et al.*, 2011).

3. VHE chez l'animal

3.1. Réservoirs animaux

Certains animaux (porc, sanglier), hôtes naturels, sont maintenant considérés comme le principal réservoir de génotypes 3 et 4 du VHE (Meng, 2010) (Figure 14). Toutefois, l'ARN VHE a été isolé chez d'autres espèces animales comme la mangouste, lapin, cerf, rat, furet, chauves-souris, poulet, truite fardée qui sont potentiellement des réservoirs du VHE (Pavio *et al.*, 2010 ; Meng *et al.*, 1997 ; Rutjes *et al.*, 2010 ; Nakamura *et al.*, 2006 ; Cossaboom *et al.*, 2012, Nidaira *et al.*, 2012 ; Raj *et al.*, 2012 ; Drexler *et al.*, 2012 ; Haqshenas *et al.*, 2001) (Tableau 2). En outre des anticorps anti-VHE ont été détectés chez d'autres espèces animales à savoir les rongeurs sauvages, le chat, le chien, la vache, le mouton, la chèvre ou le cheval (Arankalle *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2006 ; Mochizuki *et al.*, 2006 ; Peralta *et al.*, 2009 ; Vitral *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2008). Ces animaux sont susceptibles d'abriter de nouvelles espèces de VHE et par conséquent d'élargir la gamme des hôtes naturels du virus (Meng, 2013 ; Sanford *et al.*, 2012).

Tableau 2 - Génotypes et gamme d'hôtes naturels du VHE (adapté de Meng, 2011).

Souches VHE	hôtes naturels	Distribution géographique
Génotype 3	porcs domestiques, sangliers, cerfs, mangouste, lapins	partout dans le monde
Génotype 4	porcs domestiques, sangliers	Asie et Europe
VHE lapin	lapin	USA, Chine
VHE Rat	Rat	USA et Europe
Génotype Sanglier	Sanglier	Japon, Allemagne, Italie, Espagne, Australie et Hongrie
VHE chauve-souris	chauve-souris	Partout dans le monde
VHE furet	furet	Pays-Bas
VHE aviaire	Poulet	USA, Hongrie, Chine, Corée et Australie
VHE truite ?	truite fardée	USA



Figure 14 : Photos de quelques potentiels réservoirs animaux du VHE (Marulier, 2009)

3.2. Evolution de l'infection dans le principal « réservoir ».

De nos jours, le VHE est un agent zoonotique reconnu, présent chez plusieurs espèces animales notamment le porc qui servent de réservoir pour les infections humaines (Yugo et Meng, 2013). En dépit d'une virémie (1 à 2 semaines) et d'une excrétion virale (3 à 7 semaines), l'infection VHE (génotypes 3 et 4) chez le porc est subclinique avec quelques foyers de lésions microscopiques modérées dans le foie et les ganglions lymphatiques (Meng *et al.*, 1997 ; Halbur *et al.*, 2001). En outre cette infection chez le porc est fonction de l'âge avec 86 % des porcs infectés par voie féco-orale vers l'âge de 10-18 semaines (Yugo et Meng, 2013).

Des études supplémentaires ont rapportées que le VHE est fortement excrété dans les fèces entre les âges de 12 et 18 semaines environ, puis il est éliminé. La transmission féco-orale du VHE au sein du troupeau porcin, se fait soit par contact direct entre animaux, ou avec des excréments d'autres animaux, ou avec de l'eau potentiellement contaminé par la matière fécale (Walachowski *et al.*, 2014 ; Andraud *et al.*, 2013). A ce jour aucune maladie n'a pu être associée à l'infection VHE chez le porc (Pavio *et al.*, 2010). Bien que l'infection VHE chez le porc ne pose pas de problème économique majeur dans la production porcine, le risque de transmission zoonotique aux humains est un problème de santé publique majeur.

La possibilité d'infections chroniques chez l'animal a été envisagé, au regard de la dégradation de son système immunitaire par certains facteurs tels qu'une coïnfection. Le vSDRP (virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin), présent dans de nombreux élevages porcins, possède des propriétés immunosuppressives qui atténueraient ou retarderaient les réponses de l'hôte. Une équipe française (Pavio et collaborateurs) a montré qu'en conditions expérimentales, l'effet d'une coïnfection par le VHE et le vSDRP, augmentait la durée de l'infection et la transmission du VHE chez l'animal.

III Prévention et traitement (VHE)

1. Traitement

Le VHE provoque une maladie spontanément résolutive chez les personnes immunocompétentes avec un traitement symptomatique si nécessaire. Chez les patients immunodéprimés développant une hépatite fulminante ou chronique, la monothérapie avec l'interféron-alpha ou la ribavirine a donné des résultats encourageant dans certains cas (Gerolami *et al.*, 2011 ; Péron *et al.*, 2011 ; Kamar *et al.*, 2010 ; Alric *et al.*, 2010). Toutefois ces deux molécules sont contre-indiquées chez les transplantés car induisant des effets indésirables graves (risque de rejet, anémie hémolytique sévère, etc.) (Tan *et al.*, 2011). La diminution de la dose des immunosuppresseurs comme approche thérapeutique de première intention chez les patients greffés doit être envisagé, car cela a conduit à une éradication du virus dans 32 % des cas, même si des rejets ont été observés dans certaines circonstances (Parvez *et al.*, 2013 ; Kamar *et al.*, 2010). Actuellement la transplantation hépatique est le seul traitement efficace en cas d'hépatite fulminante.

2. Prévention

Dans les pays endémiques ou l'infections à VHE se propage principalement par voie féco-orale, les interventions les plus importantes à mettre en œuvre sont de: maintenir les normes de qualité pour les approvisionnements publics en eau; mettre en place des systèmes d'élimination adéquats des déchets sanitaires, et d'évacuation des eaux usées (OMS, 2014).

Au niveau individuel : respecter les pratiques d'hygiène telles que le lavage des mains avec de l'eau propre, en particulier avant de manipuler des aliments; éviter de consommer de l'eau et/ou de la glace de qualité inconnue; respecter les pratiques d'hygiène de l'OMS concernant la manipulation des aliments (OMS, 2014).

Dans les pays industrialisés, les mesures préventives concernent surtout le potentiel zoonotique du VHE : informer les personnes en contact avec les animaux réservoirs du risque potentiel de transmission du VHE : utiliser des gants et autres protections appropriées afin de réduire le risque d'exposition ; garantir la sécurité des aliments consommés par des contrôles ; informer non seulement les consommateurs, en particulier les groupes à haut risque (femmes enceintes, personnes immunodéprimées) sur la cuisson de ces viandes et les industrie alimentaires sur les mesures de biosécurité

à adopter lors de l'abattage ou la manipulation des potentiels animaux réservoirs ainsi que le rôle de coïnfections dans les élevages dans le portage du virus (Barnaud *et al.*, 2012; Colson *et al.*, 2010; Emerson *et al.*, 2005).

3. Vaccin

À ce jour, deux types de vaccins recombinants exprimant la protéine de capsid ORF2 de génotype 1 du VHE ont été développés. Le premier, mis au point par l'armée américaine et GlaxoSmithKline (Brentford, UK) au Népal, correspond à la protéine tronquée de capsid (acides aminés 112-607) d'un isolat du Pakistan. Le vaccin rHEV a montré une sécurité et une efficacité de 95,5% IC95 [85,6 – 98,6%] après administration de 3 doses (Shrestha *et al.*, 2007 ; Safary, 2001). Deux après l'injection de la troisième dose, l'efficacité testé était de 56,3%, suggérant la nécessité d'évaluer la durée maximale de protection conférée par le rHEV (Shrestha *et al.*, 2007). Ce vaccin n'a pas été encore commercialisé. Le deuxième vaccin mis au point par Wantai Biological Pharmaceutical Co et Xiamen Innovax Biotech, basé sur l'expression bactérienne de la protéine recombinante correspondant aux acides aminés 368–660 de l'ORF2 d'un isolat de Chine, a montré 100% IC95 [72,1–100%] d'efficacité après 3 injections (Zhu *et al.*, 2010). Ce vaccin est actuellement commercialisé et disponible en Chine (OMS, 2014). Bien que ces vaccins seraient très utiles non seulement aux femmes enceintes dans les pays en développement où les génotypes 1 et 2 sont endémiques mais également aux voyageurs en régions endémiques, leur efficacité pour prévenir l'infection d'hépatite E dans les zones non endémique (où prédominent les autres génotypes) est un sujet de débat (Mirazo *et al.*, 2014). Le développement de vaccins futurs tenant en compte les autres génotypes, et particulièrement le génotype 3, permettra la prévention de l'infection chronique et pourrait être considérée comme une mesure d'immunoprophylaxie chez les receveurs d'organes (Arends *et al.*, 2014).

Hypothèse de travail

OBJECTIFS

HYPOTHESE DE RECHERCHE

Hypothèse 1 : L'incidence et la gravité de la maladie induite par le VHE dans des cohortes de personnes à risque et vulnérables, notamment la femme enceinte, sont complètement ignorées et sous estimées au Burkina Faso.

Hypothèse 2 : La circulation de l'hépatite E est liée à la présence d'animaux réservoirs proches dans le temps et dans l'espace avec l'homme [liaison étroite entre les souches humaine et animale (porc, lapin etc.) du VHE]

Hypothèse 3 : La séroprévalence élevée du VHE en population générale est liée aux conditions socio-économiques et alimentaires des populations.

Hypothèse 4 : si les sources initiales de virus ne sont pas les porcs, ceux-ci du fait de leur régime alimentaire et de leur contact plus étroit avec les autres animaux, peuvent constituer un animal sentinelle et dans ce cadre nous rechercherons des souches exotiques (rat, lapin, autre) sur les prélèvements de porcs.

OBJECTIF GENERAL

Le Burkina Faso (Afrique de l'Ouest) est un pays à faibles revenus où certaines garanties fondamentales en matière d'alimentation ne sont pas offertes aux populations : des risques sanitaires existent et sont liés à la concentration humaine et animale surtout en milieu urbain. Si dans certains pays la situation des hépatites virales A et E est connue, au Burkina les données épidémiologiques sont parcellaires. Cela est particulièrement dommageable, au moment où le potentiel zoonotique des agents viraux devient de plus en plus inquiétant. Toutefois, la transmission du VHE à l'homme n'est pas totalement comprise. En France par exemple, il a été mis en évidence des séroprévalences élevées chez les porcs (suidés) qui seraient la source de la plupart des contaminations humaines.

Cette situation est un objet d'étude important au plan médical et scientifique. En effet l'évaluation du risque infectieux et la prévention peut être déduite de l'étude des facteurs d'exposition, des variants présents chez l'animal mais non mis en évidence car l'infection est asymptomatique dans son réservoir et des facteurs de permissivité de l'hôte.

Ces dernières années la production de porc destinée à l'alimentation urbaine au Burkina s'est généralisée surtout au niveau de l'alimentation de rue. Il n'y a aucune donnée sur la susceptibilité du VHE chez les espèces améliorées et locales du porc et

sur l'exposition de la population à cette menace au Burkina. Par conséquent, approfondir les connaissances au sujet l'épidémiologie moléculaire du VHE et le rôle de ses potentiels réservoirs dans l'histoire naturelle de l'infection sont nécessaires pour contrôler ce pathogène zoonotique

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- identifier les hépatites entériques présentes chez l'homme (A et E) ;
- caractériser les réservoirs animaux pouvant être à l'origine des cas humains d'hépatite E via l'alimentation ;
- déterminer la prévalence du VHE dans des cohortes de personnes à risque et/ou vulnérables au Burkina ;
- identifier les génotypes impliqués dans les prélèvements humains des hôpitaux et animaux des points de ventes.

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL ET METHODES

DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES

I. Sites d'études et échantillonnage

1. Période et type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale descriptive qui a été réalisée de 2011 jusqu'au début 2015 selon les étapes indiquées sur la Figure 15. Elle a porté essentiellement sur des analyses sérologiques et moléculaires visant d'une part à relever le contact avec les virus entériques (VHA et VHE) à un moment donné de la vie au niveau de la population générale (donneurs de sang du CNTS et femmes enceintes (CMA, Samandin). D'autre part à évaluer les populations à risques (vendeurs ou éleveurs de porcs) et le potentiel réservoir du VHE (porcs des abattoirs ou marchés) au Burkina Faso.

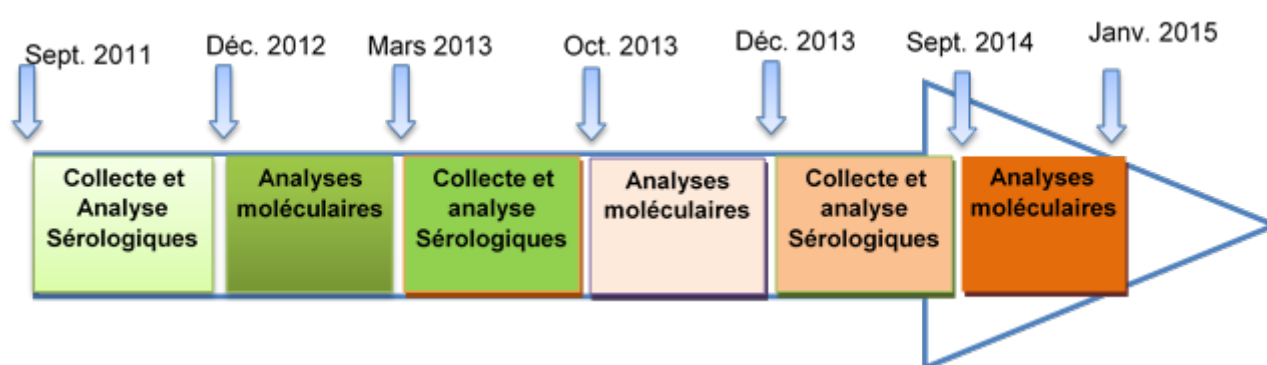


Figure 15: Les différentes étapes de l'étude

2. Zone d'étude

L'étude a été menée au Burkina Faso en collaboration avec la France. Le Burkina Faso est un pays sahélien enclavé situé au cœur de l'Afrique occidentale avec **16 241 811** habitants en **2012** et Ouagadougou, sa capitale administrative concentre près de 1.475.223 d'habitants soit 40% de la population urbaine du pays (INSD, 2006). La France est un pays nordique avec une population de **66 000 000** d'habitants (2014) et Paris, sa capitale compte 2 249 975 habitants (Insee, 2011).

3. Sites de collectes

Notre étude s'est située à différents niveaux :

- Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS), et le Centre Médical de Samandin (CMA) (Ouagadougou);
- les points de ventes de viande crues et cuites de porc dans la ville de Ouagadougou;
- enfin les élevages de porcs dans la ville de Ouagadougou et alentours.

4. Echantillonnage

4.1. Echantillons humains

Pour cette phase nous avons collectés respectivement 1600 et 200 échantillons de sérum des donneurs de sang du CNTS et des femmes enceintes du CMA de Samandin. En revanche, la prévalence attendue étant de 30 à 40% chez les personnes en contact avec les porcs, nous avons collectés 100 échantillons de sérums des vendeurs de porcs sur toute la zone d'étude. Ces prélèvements, associés à des interviews à consentement éclairé des personnes, nous a servi à évaluer de manière « brute » l'incidence de « jaunisse » (ictère).

4.1.1. Critères d'inclusion et de non-inclusion.

Tous les sujets âgés de 16 ans et plus, et apte à donner leur sang après l'entretien médical au CRTS/O, ont été inscrits dans l'étude.

Les femmes enceintes venant en consultation prénatale et ayant acceptés de se soumettre au dépistage sérologique VIH dans le cadre de la PTME (Prévention-Transmission-Mère-Enfant).

Tous les vendeurs ou éleveurs de porcs ayant donnés leur consentement éclairé de participation à l'étude et opérant effectivement sur les sites de vente et d'élevage.

N'ont pas été incluses dans l'étude les personnes ne répondant pas à ces critères, ou toute personne fournissant des données incomplètes à l'issu des enquêtes.

4.2. Echantillons porcins

Pour les porcs nous avons prélevés 100 échantillons de sérums et 155 échantillons de foies de porc, respectivement à l'abattoir de Kambouinsé et sur les points de ventes de viandes de porc (Ouagadougou)

4.3. Prélèvement et conservation des échantillons

4.3.1 Sérums

Un volume de 5 ml de sang a été prélevé de manière aseptique par ponction veineuse franche chez des personnes volontaires, après avoir désinfecté le pli du coude à l'aide d'un tampon imbibé d'alcool. Par contre, chez les porcs, le même volume de 5 ml de sang a été collecté dans des tubes secs lors de la saignée.

Les échantillons de sang ont été laissés au repos à température de labo ($\approx 25^{\circ}\text{C}$) pour

sédimentation, puis centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min afin de séparer le sérum du culot. Le sérum a été ensuite recueilli dans des cryotubes (Nalgène) puis conservé à $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

4.3.2. Tissus (foies de porc)

L'échantillonnage a consisté à acheter des portions de foies dans les conditions naturelles de vente sur différents sites. Ces échantillons ont ensuite été conditionnés dans une glacière munie de glace et acheminés au laboratoire.

Au laboratoire, sur chaque portion, un morceau de foie (0,5g) a été prélevé dans la région portale, puis mis dans un tube de 3,6 ml contenant 2,5 ml de RNAlater (Ambion). Laisse à 4°C pendant 12h, les tubes ont enfin été stockés à -20°C pour des manipulations futures.

5. Enquêtes

Muni d'un GPS Garmin, nous avons effectué en préliminaire un recensement des lieux de ventes et d'élevages dans la ville de Ouagadougou et alentours. Une enquête a été ensuite menée sur les aspects socio-épidémiologiques (conditions d'habitat, habitudes alimentaires, conditions d'hygiène, source d'eau, utilisation d'eau en bouteille, aliments consommés et latrine utilisée, conditions d'exposition, de découpe des différentes carcasses et de leur vente). Une attention particulière a été accordée à l'environnement de vente, d'élevage et aux pratiques hygiéniques des vendeurs/éleveurs (disposition, protection, manipulation et conservation des viandes) (fiche d'enquête, annexe).

II. Analyses sérologiques et moléculaires

1. Analyses sérologiques

Les échantillons de sérums humains ont été testés en sérologie par détection des immunoglobulines anti-VHE totales ELISA DIA.PRO (DIA.PRO Diagnostic Bioprobe Srt, Italy) et Wantai (Biological Pharmacy Enterprise CO., LTD, China) et ceux des porcs avec le test ELISA à usage vétérinaire HEV 4.0 (MP Biomedicals, France). Toutes les instructions des fabricants ont été suivies. Pour le VHA, les échantillons de sérums étaient uniquement humains (donneurs de sang, femmes enceintes) et la sérologie des IgG/IgM anti-VHA a été effectuée par immunochromatographie à l'aide du kit SD.Bioline.

1.1. Test immunochromatographique

Le principe du test SD BIOLINE® VHA IgG / IgM consiste à déposer 5 µl de sérum dans un puits "échantillon" de la cassette-test. Lorsque le sérum contient des VHA, ceux-ci forment un complexe antigène-anticorps avec les anticorps spécifiques de ce virus présents sur les microsphères de polystyrène.

Ce test est constitué de trois repères M, G et C. La ligne M (ligne des IgM), la ligne G (ligne des IgG), et la ligne (C) ligne de contrôle. Aucune de ces lignes n'est visible avant le test :

- Le succès du test, et la détection des IgG anti-VHA et IgM anti-VHA sont révélés par la visualisation à l'œil nu de trait de réaction dans la cassette ;
- L'absence de ligne de réaction est signe de test négatif ou invalide selon le cas.

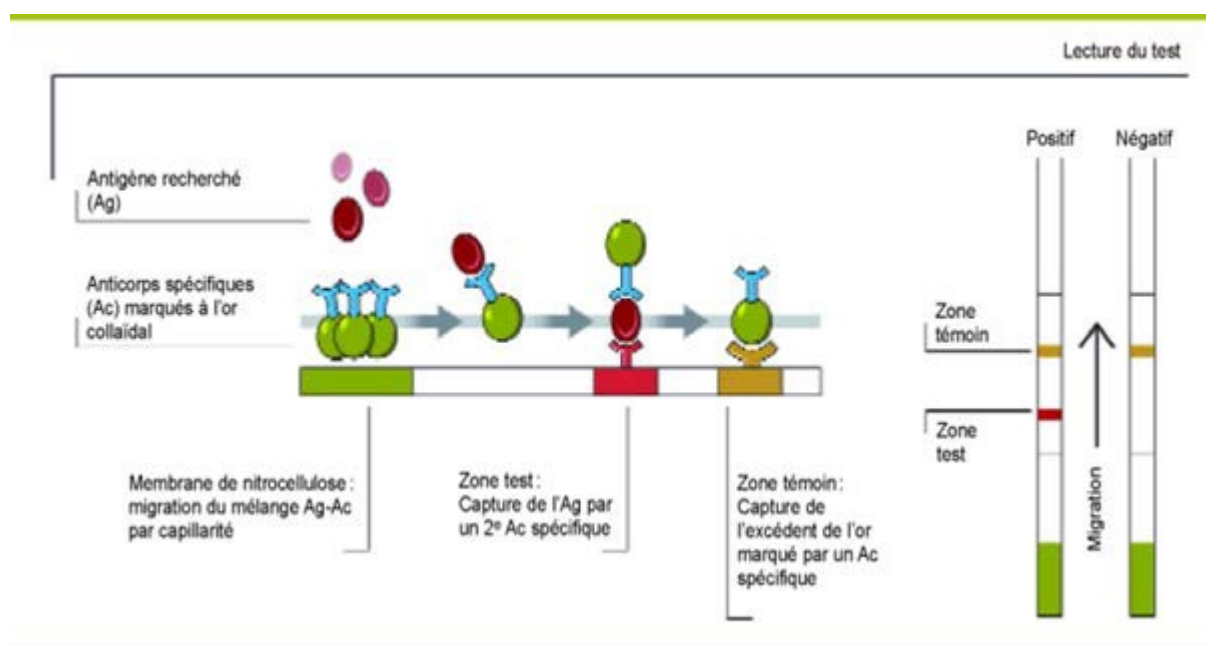


Figure 16 : Principe d'un test immunochromatographique

1.2. Test ELISA

Les kits ELISA de VHE utilisent une technique appelée le dosage immunologique sandwich qualitative. Les plaques de microtitration qui sont fournies dans les kits ont été sensibilisées avec un mélange de trois antigènes synthétiques recombinants, correspondant à des régions structurales du VHE. Les échantillons de sérums à tester et les contrôles sont ensuite ajoutés dans leur puits respectifs de microplaques avant d'être incubés. Si des anticorps spécifiques de VHE y sont présents, ils se lient et donc seront immobilisés par les antigènes préendus. Les puits de microplaques sont

soigneusement lavés pour éliminer les composants non liés de l'échantillon.

Une préparation standardisée de la peroxydase de raifort (HRP) avec l'anticorps polyclonale (conjugué), est ajoutée dans chaque puits afin de créer le "sandwich" avec le complexe antigène-anticorps, présents dans les puits. La microplaque est ensuite soumise à une deuxième incubation.

Les puits sont lavés par la suite afin d'éliminer tous les anticorps non consolidés au conjugué. Enfin le TMB (3,3', 5,5' tétraméthyl-benzidine), qui est la solution de substrat, est rajouté dans chaque puits. L'enzyme (HRP) et le substrat vont alors interagir sur une courte période d'incubation. Seuls les puits qui contiennent des anticorps HEV et l'enzyme conjugué présenteront un changement de couleur.

Par suite la réaction enzymatique est stoppée par l'addition d'une solution d'acide sulfurique et le changement de couleur est mesuré par spectrophotométrie avec le Magellan CE à une longueur d'onde de 450 nm. Les échantillons dont les valeurs de DO sont supérieures ou égales à la valeur seuil, sont considérés comme réactifs ou positifs.

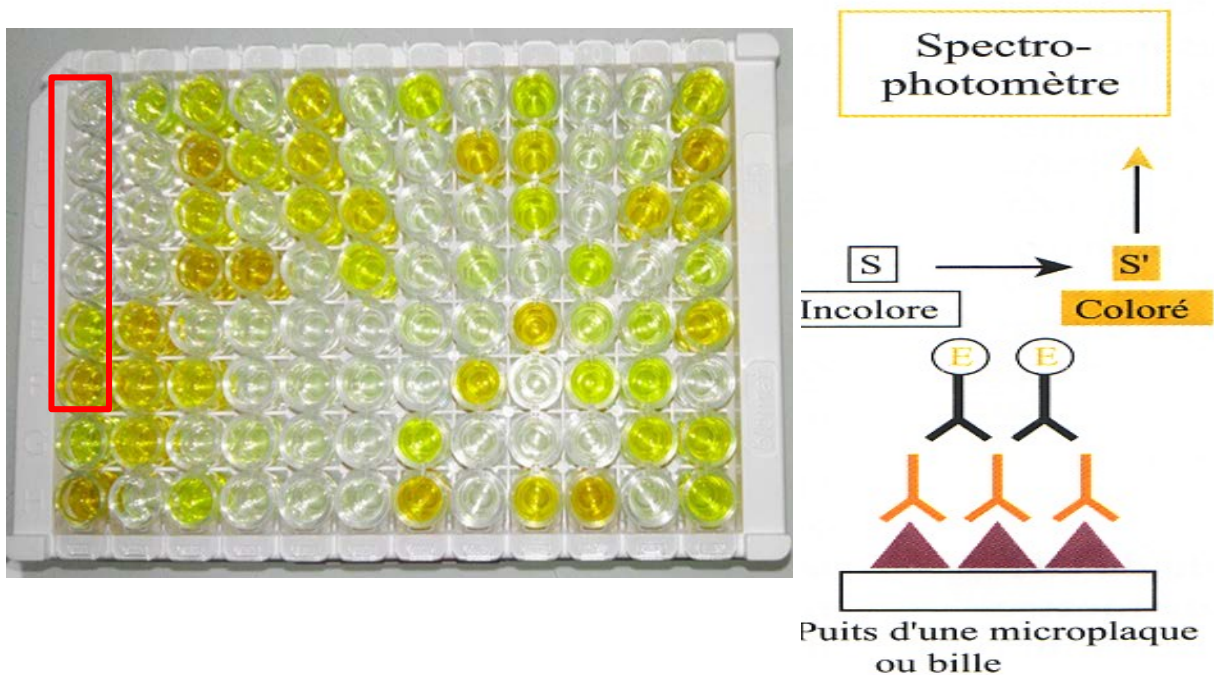


Figure17 : Microplaque ELISA : Les puits colorés correspondent à des positivités. Les contrôles négatifs et positifs sont encadrés en rouge.

2. Caractérisation moléculaire

Cette partie de notre étude a été entièrement réalisée dans les laboratoires du CEA/IMETI et INRA/ENVA/ANSES.

2.1. Extraction des ARN viraux sur 100µL de sérum et d'ARN totaux sur 30-50 mg de tissus de porcs

Le protocole d'extraction de l'ARN varie selon la nature du kit d'extraction utilisé. Au cours de nos travaux de thèse, nous avons eu recours aux kits d'extraction d'ARN QIAGEN (Rneasy Mini Kit) et NucleoSpin 96 Virus » (4x96) de Macherey-Nagel.

2.1.1. Protocole d'extraction du kit «Rneasy Mini Kit»

Après avoir distribué 800 µl de RLT supplémenté avec le 2β-mercapto-éthanol (uniquement pour les ARN) dans les tubes Lysing Matrix D, les fragments de foie (30-50 mg), ont été homogénéisés dans le tampon de lyse (RLT+β-mercapto-éthanol) à l'aide de l'appareil FastPrep 24. NB : le β-mercapto-éthanol (β-MET) est un agent réducteur qui dénature de façon irréversible les RNases en réduisant les liaisons disulfure et en détruisant la conformation native requise pour la fonctionnalité de l'enzyme. En combinaison avec les effets puissants de dénaturation temporaire de l'isothiocyanate de guanidinium (GITC) contenus dans le tampon RLT des kits RNeasy, les RNases présents dans le matériel à extraire sont complètement inactivés.

Ensuite 600 µl d'éthanol 50% a été utilisé pour précipiter l'ARN contenu dans les 600 µl de surnageant (homogénéisé). Ensuite 650 µl de chaque précipité obtenu, a été transféré sur une colonne RNeasy, et centrifugé pendant 30 secondes à 10000 rpm. NB: cette étape a été renouveler autant de fois que nécessaire.

Chaque colonne de silice a d'abord été lavée avec 700µl de tampon RW1, puis centrifugé 30 secs à 10000 rpm. Ensuite le lavage des colonnes RNeasy a été réalisé avec 500 µl de RPE/colonne suivie d'une centrifugation à 10000 rpm pendant 30 secondes. Cette étape a été renouvelée avec une centrifugation cette fois ci à 10000 rpm pendant 2 minutes.

Après les étapes de lavages les colonnes ont été placées dans de nouveaux tubes et centrifugées à vitesse maximale pendant 1 minute afin d'éliminer toute trace de tampon RPE.

Enfin pour éluer l'ARN, 40 µl d'eau RNase free ont été déposées directement sur la membrane de la colonne, puis les colonnes RNeasy ont été incubées pendant une minute avant d'être centrifugées à 10000 rpm pendant une minute. Cette étape a été répétée.

L'ARN a été stocké à -80°C en attendant les futures manipulations

2.1.2. Protocole d'extraction du kit NucleoSpin 96 Virus (4x96) de Macherey-Nagel

Après avoir distribué 400µl de RAV1 + Carrier ARN dans la plaque « Square Well Bloque», 100µl de plasma (échantillon) a été homogénéisé dans le tampon de lyse.

Ensuite 400µl d'éthanol absolu a été ajouté dans chaque puits pour précipiter l'ARN. Les échantillons ou précipités ont été transférés sur plaque filtrante et mis sous vide à 0,2 bar pendant 5mins.

600µl de tampon de lavage RAW a été ajouté dans chaque puits de la plaque filtrante suivie de vide à 0.2 bar pendant 5mins.

Par la suite, avec 800µl de tampon RAV3, la plaque filtrante a été lavée sous vide à 0,2 bar pendant 5mins. L'étape précédente a été répétée en faisant cette fois-ci le vide 0,6bar pendant 5mins.

Après avoir vidé et nettoyé le réservoir (cuve de lavage), les membranes de la plaque filtrante ont été séchées sous vide à 0,6bar pendant 10mins.

Pour éluer l'ARN, une plaque d'élution UV a été placée à la place de la cuve de lavage « wash plate », et 100µl d'eau a été déposée dans chaque puits de la plaque filtrante.

Enfin, la plaque a été incubée pendant 2-5mins, puis mise sous vide à 0,5bar pendant 2mins.

2.2. Dosage d'ARN extrait

Avant d'être conservés, la qualité et la quantité (ng/µl) des ARN extraits ont été vérifiées par lecture de l'absorbance soit au Nanodrop (dosage par échantillons) ; soit au SpectroMax (dosage par plaque).

2.3. Recherche des séquences HEV

2.3.1. Synthèse du cDNA Principe de la méthode

Le principe consiste à transcrire l'ARN en ADNc à l'aide d'une reverse transcriptase (RT Takara), en présence d'amorces aléatoires (Random hexamères) et d'un inhibiteur de RNAses.

Contenu du mode opératoire

Tube 1

Le Mix utilisé pour la rétrotranscription était composé de:

- 0,3µl de H₂O-RNA free
- 2,4µl de Tampon Takara 5X
- 0,3µl de RNase out 40 unit/ml
- 1,2µl de DNTPs (10 mM)
- 0,3µl de Takara RT (200u/µl)

Tube 2

- 2,5µl de Random Hexamères (40 µM)
- 5µl d'ARN extrait

Conditions thermocycleur Tube 2

- 70°C pendant 5mn (Dénaturation)
- 4°C pendant 5mn

La rétrotranscription a été réalisée dans le thermocycleur dans les conditions suivantes:

Tube 2 + 4,5 µl Mix

- 5 min à 25°C
- 60 min à 42°C
- 15 min à 70°C

L'ADNc peut être conservé à -20°C.

2.3.2. Validation de la Retro-transcription en ADNc par PCR en temps réel (GAPDH)

Elle consiste à utiliser dans une PCR en temps réel une sonde de **GAPDH** (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) (gène de ménage), dans le but de vérifier l'état des ADNc transcrit.

2.3.3. Amplification (PCR nichée)

PCR nichée en deux étapes avec les amorces définies par Cooper et al.

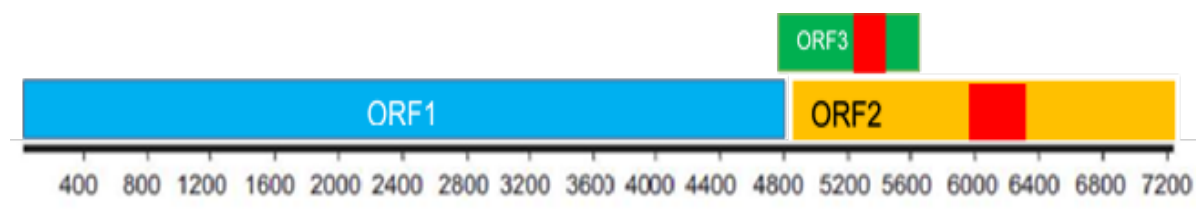


Figure 18 : Génome du VHE : zones amplifiées par PCR en rouge

2.3.3.1. PCR I

Principe de la méthode

Le principe consiste à amplifier l'ADNc à l'aide d'une polymérase en présence d'amorces spécifiques du VHE. L'amplification du fragment cible est faite en utilisant le couple d'amorces suivant :

Amorce sens : 3156N 5'-AATTATGCC(T)CAGTAC(T)CGG(A)GTTG-3'

Antisens:3157N 5'-CCCTTA(G)TCC(T)TGCTGA(C)GCATTCTC-3'

Le fragment d'ADN obtenu après amplification est d'environ 750 pb (génome 3 et4)

Le Mix utilisé pour l'amplification était composé de :

- 2,5µl de tampon 10X
- 0,5 µl dNTPs 10 mM
- 0,5 µl Primer sens 3156N 10 pm
- 0,5 µl Primer anti-sens 3157N 10 pm
- 0,2 µl Taq Platinum 5 U/µl
- 0,8µl de MgCl₂ 50 mM
- 18 µl Eau DEPC

Un volume de 23µl de ce Mix a été ajouté à l'ARN préalablement rétrotranscrit enADNc.

L'amplification a été faite selon le programme suivant :

Étapes	T°C	Temps	Cycles
Dénaturation	94°C	1 min	1
Dénaturation	94°C	30 sec	30
Hybridation	52°C	30 sec	
Elongation	72°C	2 min	
Dénaturation	94°C	30 sec	10
Hybridation	40°C	30 sec	
Elongation	72°C	2 min	
Elongation	72°C	7 min	1
Fin	4°C	00	

2.3.3.2. PCR II

Principe de la méthode

Le principe consiste à amplifier une séquence d'ADN plus petite à l'aide d'une polymérase en présence des amorces internes et spécifiques du premier produit de PCR obtenu. L'amplification du fragment cible est faite en utilisant le couple d'amorces suivant :

Amorce sens: 3158N 5'-GTT(A)ATGCTT(C)TGCATA(T)CATGGCT-3'

Anti sens: 3159N 5'-AGCCGACGAAATCAATTCTGTC-3'

Le fragment d'ADN obtenu après amplification est d'environ 350 pb Le Mix utilisé pour l'amplification était composé de :

- 5µl de tampon 10X
- 1 µl dNTPs 10 mM
- 1 µl Primer sens 3158N 10 pm
- 1 µl Primer anti-sens 3159N 10 pm
- 0,2 µl Taq Platinum 5 U/µl
- 1,5µl de MgCl₂ 50 mM
- 35,3 µl Eau DEPC

Un volume de 45µl de ce Mix a été ajouté à 5 µl d'ADN de référence.

L'amplification a été faite selon le programme suivant :

Etapes	To	Temps	Cycles
Dénaturation	94°C	1 min	1
Dénaturation	94°C	30 sec	35
Hybridation	52°C	30 sec	
Elongation	72°C	2 min	
Elongation	72°C	7 min	1
Fin	4°C	00	

Après la réalisation de la PCR nichée, l'ADN amplifié (les amplicons), a été mis à migrer par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% en présence « d'intercalant » SYBR-green (S7585 Invitrogen, Life technologies).

NB : il s'agit d'une cyanine asymétrique qui se lie au petit sillon de la double hélice d'ADN).

La photographie des gels est faite sous lumière « noire » pour détecter l'ADN+Cybergreen et directement imprimée.

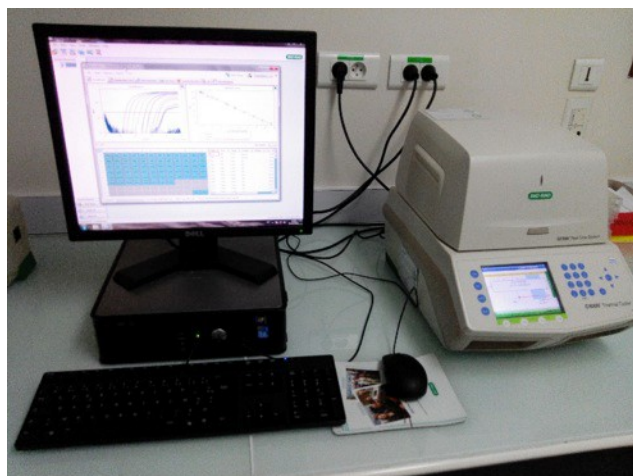


Figure 19: c1000 thermal cycler cfx96 (Biorad)

2.3.4. Préparation du gel d'agarose

Le Tampon TAE (solution tampon Tris Acétate 400 mM, EDTA 10mM, pH 8,3) 1X a été préparé à partir du TAE 10X en ajoutant 100ml de TAE10X à 900ml H₂O.

Pour la préparation du gel d'agarose 1%, 1g d'agarose a été dissout dans 100ml de TAE 1X, puis cuit à la microonde pendant 2mn à 460W. Après avoir ajouté 5µl de Sybr green I (Invitrogen) au gel, celui-ci est coulé délicatement dans la cuve à électrophorèse (BIORAD).

Les échantillons ont été déposés sur le gel après avoir vérifié que le tampon de migration, préalablement versé dans la cuve, couvrait de quelques millimètres le gel.

3 μ l de bleu de migration }
8 μ l d'ADNc amplifié } Par échantillon/puits
3 μ l du DNA ladder dans le puits n°1

Electrophorèse et révélation sous lumière noire (appareil Safe Imager trans-illuminator Invitrogen, émission 470 nm). Electrophorèse à 100V pour 45minutes.

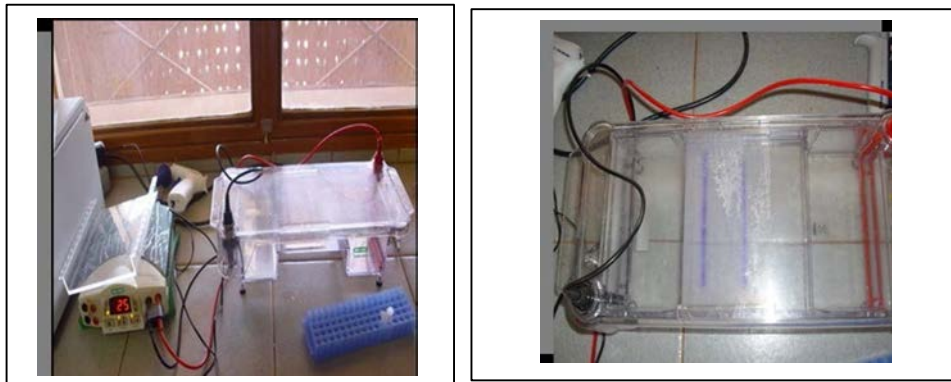


Figure 20 : A gauche une Cuve d'électrophorèse couplée à un générateur (CEA) à droite course électrophorétique des acides nucléiques du VHE sur gel d'agarose à 1%

2.3.5. Screening des produits de Nested suspects par PCR sur colonies

2.3.5.1. Ligation du gène dans le vecteur pJET1.2 (50 ng/ μ l)

3 μ l de produits de PCR ont été mélangés avec 10 μ l de Réaction Buffer (2X), 3 μ l d'H₂O nucléase-free et 1 μ l de DNA Blunting Enzyme, puis incubé à 70° C pendant 5 min dans un bain marie avant d'être placé sur la glace pendant 5 min.

Chaque produit de PCR, a été ligaturé dans 1 μ l de pJET1.2/Blunt Cloning Vector (50 ng/ μ l) avec 1 μ l T4 DNA Ligase. NB : ce plasmide possède deux gènes : un gène de résistance à l'ampicilline, et un gène suicide. Le gène tueur situé au niveau du site d'insertion, est activé lorsque le plasmide se referme sans contenir le gène d'intérêt.

Par suite les tubes ont été incubés sur la paillasse pendant 20 min, puis replacés sur la glace.

2.3.5.2. Transformation des bactéries (DH5 α)

10 μ l de solution bactérienne ont été ajoutés à 3 μ l de produit de ligation, puis mis sur la glace pendant 30 min. Ensuite un choc thermique a été provoqué (permettre aux

plasmides de rentrer dans les bactéries) en mettant les tubes dans un bain marie à 37°C pendant 15 secs.

300 µl de LB (Lysogeny Broth) ou de SOC (Super Optimal broth with Catabolite repression) (milieux nutritifs) ont ensuite été ajoutés au mélange (bactéries+ produits ligation) sous PSM, puis incubé dans un bain marie à 37°C pendant 30 min.

L'étalement sur boîte de Pétri contenant le milieu LB + Antibiotique + gélose (ampicilline ou kanamycine) a été effectué sous PSM, puis les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 h. NB : Après 24h, les boîtes ont été stockées temporairement à 4°C.

2.3.5.3. Repiquage des colonies (toutes ces opérations sont à réaliser sous PSM)

Après 24 h d'incubation à 37° C, les colonies intéressantes ont été repiquées sur nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu LB + Antibiotique (ampicilline ou kanamycine). Avant de repiquer les colonies intéressantes, des lignes numérotées correspondant aux clones qui seront déposés (n° des individus de PCR) ont été tracées.

Pour chaque boîte préalablement mise en culture, un cure-dent stérile ou une pointe de micropipette a été utilisé pour prélever une colonie intéressante, ensuite un ensemencement par strie a été effectué (tracer une ligne vers le haut) dans la colonne correspondante de la boîte de Pétri, puis la pointe a été placée dans un puits de la plaque ou barrette PCR contenant le mix PCR, préparé et distribué au Préalable (25 µl de mix).

La pointe a ensuite été touillée plusieurs fois dans le mix de la plaque PCR, puis jetée dans la poubelle "déchets solides".

Par suite les boîtes de Pétri initiales ont été scellées avec du film alimentaire et stockées en chambre froide. Quant aux nouvelles boîtes de Pétri où les colonies ont été repiquées, elles ont été incubées à 37°C pendant 24 heures en surveillant la croissance des colonies. La PCR a été réalisée immédiatement.

2.3.5.4. PCR sur les clones

Réaliser une PCR avec les amorces universelles ou spécifiques

Mix PCR	[C] initiale	[C] finale	Vf (25 µl) / tube
PCR Buffer ou coral load Buffer	10 X	1 X	2,5
Primer 3158R	100 pm	10 pm	0,5
Primer 3159F	100 pm	10 pm	0,5
dNTPs	100 mM	10 µM	0,5
Qsol	x	x	5
Taq platinum	5U/ µl	5U/ µl	0,125
H2O qsp			15,875

NB : les dNTPs et Primers étant concentré 10x, ils ont été dilués au 10ème (1x)

Cycles PCR

Etapes	To	Temps	Cycles
Denaturation	94°C	5 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	
Hybridation	52°C	30 sec	30
Elongation	72°C	40 sec	
Elongation	72°C	7 min	1
Fin	20°C	infini	

2.3.5.5. Vérification sur gel d'agarose de la taille du fragment cloné

Suivant la taille du fragment cloné et la qualité des amorces spécifiques, il est possible d'envisager un séquençage à ce stade.

2.3.5.6. Sélection des clones (toutes ces opérations ont été réalisées sous PSM)

3 ml de LB a été distribué dans des tubes de culture de 15 ml sous PSM).

Sur de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu LB + Antibiotique (ampicilline ou kanamycine), des lignes numérotées correspondant aux colonies de bactéries de la série ayant permis d'obtenir le bon fragment lors de la PCR, ont été tracées, puis une empreinte de l'ancienne boîte de Pétri contenant nos colonies positives, a été effectuée dans la nouvelle boîte à pétri à l'aide de pointes ou cure-dents stériles qui ont ensuite été utilisés pour ensemercer le tube de culture contenant 3 ml de LB. Les tubes de culture ont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

2.3.5.7. Extraction du plasmide (toutes ces opérations ont été réalisées sous PSM)

Dans un micro-tube, 1-5 ml de la culture bactérienne ont été prélevés et centrifugés à 14,000 x g pendant 30 secs (formation d'un dépôt bactérien au fond du tube). Après avoir jeté le surnageant et enlevé autant de liquide que possible, 250 µl de tampon A1 ont été ajoutés au culot cellulaire, puis vortex ou pipetés de haut en bas, afin de le remettre complètement en suspension. NB : l'EDTA fragilise la membrane bactérienne. La RNase lyse les ARN.

250 µl de tampon A2 ont été ajoutés à notre mélange, puis homogénéisé en inversant le tube 6 - 8 fois. La suspension cellulaire a été incubée à température ambiante pendant 5 minutes maximum, afin qu'elle s'éclaircisse et devient visqueuse (Le SDS est un détergent qui dissout et dégrade les composants lipidiques de la membrane bactérienne, libérant ADN et protéines dans la solution).

300 µl de tampon A3 ont été ensuite ajoutés à la suspension cellulaire, puis mélangés en inversant le Tube 6 - 8 fois, et centrifugés pendant 5 min à 14 000 g à température ambiante. NB : cette étape a été répétée dans le cas où le surnageant n'était pas clair. L'acétate de sodium précipite protéines et ADN chromosomique. Ce précipité et les débris cellulaires sont séparés par centrifugation du surnageant qui contient, entre autres, l'ADN plasmidique.

L'ADN plasmidique a été filtré sur une colonne de silice (NucleoSpin plasmide / plasmide (NoLid) Colonne) après une centrifugation à 14 000 x g pendant 1 min. Le liquide recueilli a été jeté et le NucleoSpin plasmide / plasmide (NoLid) Colonne placé à nouveau dans le tube de collecte. Cette étape a été répétée afin de charger le lysat restant. La silice de la colonne présente une grande affinité pour l'ADN plasmidique et va pouvoir l'adsorber au cours de la filtration.

La colonne replacée sur le microtube a été centrifugée à sec pendant 2 min à 14000 x g pour éliminer l'éthanol. Enfin l'ADN plasmidique a été recueilli par élution (= séparation) en ajoutant 50 µl de tampon AE et en incubant pendant 1 min à la température de la salle, puis en centrifugeant à 14000g pendant 1 min.

3. Analyses statistiques

Les données obtenues ont été analysées par des méthodes statistiques telles que le test de student, la régression Binaire ou la régression de Poisson.

Les logiciels statistiques qui ont été utilisés sont SAS, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) et Epi-info 2002 (CDC, Atlanta et Excel 2007) ou encore Prism6

TROISIEME PARTIE

RESULTATS ET DISCUSSION

TROISIEME PARTIE : RESULTATS-DISCUSSION RESULTATS

I-Séroprévalence des virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) transmis par voie féco-orale au Burkina Faso

Les Virus des hépatites A et E sont les principales causes d'hépatites virales entéro-transmissibles, en particulier dans les zones où les conditions d'hygiène et le niveau socioéconomique sont souvent précaires. Partageant les mêmes voies et mécanismes de propagation, ils provoquent de la même façon des épidémies sévères. Cependant, l'épidémiologie des hépatites A et E reste méconnu dans les zones en paix d'Afrique, à l'exception d'épisodes épidémiques dans des camps militaires ou de réfugiés.

Au Burkina Faso, bien que des enquêtes préliminaires aient été menées sur des agents pathogènes d'origine alimentaire en 2005 et 2008, on en sait peu sur la prévalence de ces agents pathogènes d'origine hydrique et alimentaires (VHA et VHE). En outre, au regard des conditions de vie, du niveau d'hygiène et du mode alimentaire, nos populations sont certainement exposées aux enteropathogènes.

L'objectif de cette première étude était d'évaluer la prévalence de ces virus hépatiques A et E dans des groupes assez représentatifs de la population générale «donneurs de sang et femmes enceintes» dans la ville de Ouagadougou. Ainsi des échantillons de sérums de 178 donneurs de sang (131 hommes et 47 femmes) et de 189 femmes enceintes ont été recueillis dans les banques de sang et centres médicaux entre Novembre et Janvier 2010, puis en Mars 2012. Un test immunochromatographique SD- Bioline IgG/IgM anti-VHA et deux kits ELISA Dia.pro et Wantai IgG anti-VHE ont été utilisés pour mener à bien l'enquête sérologique.

Récemment, l'utilisation du kit Wantai en Europe a montré une plus grande sensibilité par rapport au kit Dia.pro avec des taux élevés de séroprévalences rapportés. Cependant, dans cette étude, il y avait une très bonne corrélation entre les deux kits utilisés, bien que la plage de détection utile soit plus petite au niveau du kit Dia.pro par rapport au kit Wantai.

La séroprévalence globale des IgG anti-VHA était de 14,3% chez les donneurs de sang et 23% chez les femmes enceintes venant en consultation prénatale. Les IgG anti- VHE ont été détectés chez 19,1% des donneurs de sang et 11,6% des femmes enceintes. Il n'y avait pas de différence significative entre les femmes/hommes

donneurs de sang et les femmes enceintes ayant été en contact avec le VHA/VHE à un moment donné de leur vie.

La distribution de la prévalence dans la population générale (donneur de sang) en fonction de leur âge et du virus entérique étudiés (VHA/VHE) a montré deux profils différents : La prévalence des IgG anti-VHA augmente avec l'âge avec un pic dans la tranche d'âge 46-55 ans. Par contre la plus forte prévalence IgG anti-VHE a été observée dans la tranche d'âge <25 ans. Toutefois il n'y avait pas de différence significative entre l'âge des donneurs et l'augmentation ou la diminution de la prévalence en fonction de l'âge.

Le taux d'incidence (IgM anti-VHA) chez les donneurs de sang (3,3%) similaire à celui des femmes enceintes (2%), et indépendant de la classe d'âge, a montré une circulation faible mais significatives du virus chez des personnes asymptomatiques.

En dépit d'être limité à un petit sous-ensemble de la population de Ouagadougou, nos résultats mettent l'accent sur la nécessité d'établir un système national de surveillance virologique des cas d'hépatites A et E, ainsi qu'à la conduite d'études séroépidémiologiques supplémentaires afin de suivre les changements dans l'épidémiologie, surtout sur les facteurs de persistance et de propagation de ces infections. Les données d'un tel programme pourraient servir comme base à l'introduction de mesures préventives spécifiques. La méthodologie détaillée et les résultats de ce travail ont fait l'objet d'une publication (**Article 1**), d'une communication orale et affichée. AFRAVIH 2014 (en annexe).

Article 1: Seroprevalence of Fecal-Oral Transmitted Hepatitis A and E Virus Antibodies in Burkina Faso.

Kuan Abdoulaye Traore, Hortense Rouamba, Yacouba Nebié, Mahamadou Sanou, Alfred S. Traore, Nicolas Barro, Pierre Roques.

PLoS One. 2012;7(10):e48125.

Seroprevalence of Fecal-Oral Transmitted Hepatitis A and E Virus Antibodies in Burkina Faso

Kuan Abdoulaye Traoré¹, Hortense Rouamba², Yacouba Nébié³, Mahamadou Sanou³, Alfred S. Traoré¹, Nicolas Barro^{1,4,5}, Pierre Roques^{4,5}

1 Centre de Recherche en Sciences Biologique Alimentaire Nutritionnelles (CRSBAN), Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, **2** Centre National de Transfusion Sanguine, Ouagadougou, Burkina Faso, **3** Centre médical de Samandin, Ouagadougou, Burkina Faso, **4** Division of Immuno-Virologie, Institute of Emerging Diseases and Innovative Therapies, Commissariat à l'Energie Atomique (CEA), Fontenay-aux-Roses, France, **5** Unite Mixte de Recherche E1, University Paris Sud 11, Orsay, France

Abstract

Hepatitis A virus (HAV) and hepatitis E virus (HEV) infections occur chiefly as a result of unhygienic conditions. The purpose of this study was to assess the seroprevalence of antibodies to both viruses in central Burkina Faso in the absence of a recorded hepatitis epidemic. Serum samples from 178 blood donors (131 males and 47 females) and from 189 pregnant women were collected from November 2010 to March 2012, at blood banks and medical centers in Burkina Faso. An immunochromatography test was used to screen for Anti-HAV IgM and IgG in a subgroup of 91 blood donors and 100 pregnant women. The seroprevalence of anti-HAV IgG was 14.3% [CI95, 7.1–21.4%] for all blood donors and 23% [CI95, 14.8–31.2%] for pregnant women. Anti-HEV IgG were detected using the ELISA kits Dia.pro and Wantai and were found in 19.1% [CI95, 13.3–24.9%] of the blood donors and 11.6% [CI95, 7.1–16.2%] of the pregnant women. The seroprevalences of anti-HAV and anti-HEV IgGs did not differ significantly between men and women blood donors. Anti-HAV IgM was detected in 3.3% of the blood donors and in 2% of the pregnant women. These findings for asymptomatic individuals indicate that the HAV and HEV circulate at low but significant levels. This is the first evaluation of the acute hepatitis virus burden in Burkina Faso and the underlying epidemiologic status of the population.

Citation: Traoré KA, Rouamba H, Nébié Y, Sanou M, Traoré AS, et al. (2012) Seroprevalence of Fecal-Oral Transmitted Hepatitis A and E Virus Antibodies in Burkina Faso. PLoS ONE 7(10): e48125. doi:10.1371/journal.pone.0048125

Editor: Laurent Rénia, Agency for Science, Technology and Research – Singapore Immunology Network, Singapore

Received: January 18, 2012; **Accepted:** September 27, 2012; **Published:** October 22, 2012

Copyright: © 2012 Traoré et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: TKA is recipient of a thesis grant from Burkina Faso. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: pierre.roques@cea.fr (PR); nicolas_barro@univ-ouaga.bf (NB)

☯ These authors contributed equally to this work.

Introduction

Hepatitis A virus (HAV) and hepatitis E virus (HEV) are the leading causes of acute viral hepatitis in the world. In developing countries, these infections are associated with poor hygiene and, in particular, the lack of clean drinking water and, in some areas, inadequate sanitation [1–3]. It is estimated that 1.5 million new HAV infections occur each year and that one-third of the world's population is infected with HEV [4]. These viruses spread by the fecal-oral route usually through contact between people [5] or by ingestion of contaminated food or water [6].

HAV belongs to the genus *Hepatovirus* and is a member of the *Picornaviridae* family [7–9]. HAV is a non-enveloped virus 27–32 nm in diameter. The viral genome is a single-stranded RNA of positive polarity, which is non-segmented and is packaged in an icosahedral capsid. HAV strains belong to a single serotype. However, there are seven viral genotypes (I–VII) and viral strains of the same genotype share greater than 85% nucleotide identity. Viruses of four of the genotypes (I, II, III and VII) have been recovered from human HAV cases, whereas viruses of the other three genotypes (IV, V and VI) have each been isolated only from a different simian species developing a hepatitis A-like illness during captivity [10,11]. HAV occurs in all countries of the world

and the incidence of infection varies with the local socioeconomic conditions and health standards [9]. HAV infection is almost always clinically silent in children under three years of age but is usually symptomatic in adults and is sometimes severe. In infected individuals aged 40 years or more, the mortality rate exceeds 2% [12].

HEV was classified as a new *Hepeviridae* family on the basis of its structure and genome organization. The *Hepevirus* genus is still the only known member of this family [13]. HEV is a non-enveloped cubic-shaped virus 27–33 nm in diameter and has tooth-like projections on its surface. The viral genome consists of a single-stranded RNA of positive polarity. Four major HEV genotypes, subdivided into 24 subtypes (some being the result of recombination), have been identified through classification and regional genotypic analyses [14]. The different genotypes exhibit 72–77% sequence identity and there is 85–90% identity within subtypes [14,15]. Unlike other hepatitis viruses, humans are not the only natural host of this virus. Recent work shows that there are large reservoirs of HEV in various animal species, especially pigs, rabbits and ferrets, suggesting that HEV is a zoonotic agent [16,17]. HEV has an extensive global distribution, is endemic in many poor countries and causes occasional epidemics [13]. In developed countries, many of the HEV infections are imported,

although there is low background of local infection [18,19]. The endemic background in Western Europe is higher than in other developed zones, and is mainly associated with genotype 3 viruses and a potential reservoir in pigs [20–23]. Although the symptoms are generally mild, HEV infection is responsible for high mortality rates (up to 20%) in pregnant women, especially during the three first month of pregnancy [24–26]. HEV is endemic in regions where the water supply may be contaminated with animal waste, such as in Central Asia, the Middle East, and parts of South America and Africa. There have been major waterborne epidemics in refugee camps in Somalia [27] and Sudan [28], causing sickness and death. The groups of people at risk include those with liver disease, the elderly and the immunocompromised [29,30].

Thus, HAV and HEV are both food and waterborne pathogens. They share the same routes and mechanisms of spread and they both cause similarly severe epidemics.

Although we conducted preliminary evaluations of food-borne viruses in Burkina Faso in 2005 and 2008, little is known about the prevalence of HAV and HEV in food [31,32]. The inhabitants of Ouagadougou are undoubtedly exposed to these viruses as a consequence of the socioeconomic situation, the hygiene standards and the nutritional habits marked by the consumption of street-vended products [32]. Indeed, an evaluation of the etiology of severe diarrhea in infants in Burkina Faso demonstrated the involvement of rotavirus and adenovirus in these disease outbreaks. Both of these viruses are, like HEV and HAV, transmitted by the fecal-oral route [33,34]. Here, we report an analysis of the seroprevalence of HAV- and HEV-specific antibodies in the population of Burkina Faso.

Materials and Methods

Ethics statement

This study was carried out according to the routine practices of the Regional Blood Transfusion Center of Ouagadougou (RBTC-O) and the Medical Center Surgical unit of Samadin (MCS), and was approved by the Ethics Committee for Health Research (ECHR): “Comité national d'éthique pour la recherche en santé (CNER). Ministère de la Santé 03 BP 7009. Ouagadougou 03, Burkina Faso”. All subjects participating in the study signed a voluntary consent form after being given all the information necessary and sufficient to make an informed decision regarding their participation in this study.

Study design and population

The study was carried out between November 2010 and January 2011, and then in March 2012. The study population of blood donors and pregnant women was classified into representative groups. Serum samples from 178 blood donors and 189 pregnant women attending the Medical Center of Samadin for prenatal HIV testing who were found to be fit to donate blood after the medical interview were used (367 samples in total). Blood samples were collected according to the international rules of blood donation as described by Rouger (2006) [35].

Sampling

A volume of 5 ml of whole blood from each donor was obtained by venipuncture and collected into a dry tube. Blood samples were transported to the laboratory and kept at 4°C for overnight for sedimentation. The samples were then centrifuged at 3000 *g* for 10 min at 25°C. Sera were gently collected into cryotubes (Nalgene®) and stored at $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ until the serological analysis.

Serological tests

All serum samples were analyzed for specific anti-HAV IgM and IgG using an immunochromatographic test (SD Bioline IgM/IgG anti-HAV; Standard Diagnostics, Inc., Korea) according to the manufacturer's instructions. This test has a sensitivity of 97.6% and a specificity of 98.0%. Serum samples were also screened for anti-HEV IgG by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) tests (DIA.PRO Diagnostic Bioprobe Srt, Italy or Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise CO., LTD, China). Positive and negative controls were included in all the ELISA microplates. The results were scored as positive or negative according to the standard procedures recommended by the manufacturer.

Data processing

The data were processed, analyzed and plotted using Excel 2007 and GraphPad Prism 5.0d. 95% confidence intervals were calculated (CI95); Chi-2 and corrected P values were obtained using StatView 5.0 software (SAS Institute, USA).

Results

Seroprevalence of anti-HAV immunoglobulin

The results of screening blood donors and pregnant women for anti-HAV IgM and IgG are shown in Table 1. Nine samples from blood donors did not give results that could be interpreted.

The donor population included more men 69/91 than women 22/91, but the prevalence of anti-HAV IgG did not differ between women (18%, CI95 [2–34%]) and men (13%, CI95 [5–20%]). The seroprevalence of anti-HEV was slightly higher among pregnant women (23%, CI95 [14–31%]) than blood donors. The prevalence of anti-HAV IgM was similar for all three groups. The presence of anti-HAV IgM indicates a history of recent HAV infection, but as blood donors are questioned about clinical illness before blood is collected, any these infections were presumably asymptomatic.

The prevalence of anti-HAV antibodies according to age is shown in Figure 1. The anti-HAV prevalence increased slightly from the <25 age group to the >36 age group. Anti-HAV seroprevalence was high in the 46–55 years age group, whereas no positive cases were detected in the 56–65 years age group (data not shown). There were no significant differences between the age groups and no trend for a decrease or an increase of prevalence with age. Few subjects were anti-HAV IgM positive, and all positive subjects were <25 or 36–45 years old.

Seroprevalence of anti-HEV immunoglobulin

Pregnant women and in blood donors were screened for anti-HEV IgG (table 2 shows the prevalence according to age and group). There was no significant difference between general prevalence in January 2011 and that found by subsequent analysis in March 2012. There is recent evidence from England and France that a new ELISA test (the Wantai kit) detects previously unrecognized cases of anti-HEV seropositivity. We therefore compared the values obtained with the Dia.Pro test and the newly available Wantai kit for the samples collected from the blood donor group in 2011. With the Dia.Pro test, 19.1% of 89 blood donor samples from 2011 were positive, whereas 14.6% of the same samples scored positive and 4.5% indeterminate in the Wantai test. We repeated the comparison in a new set of sera obtained in 2012 from blood donors and pregnant women. The distribution of optical density (O.D.) values obtained for the 189 samples with the Dia.Pro and Wantai tests are shown in Figure 2. Despite a large difference in the range of positive values between the two kits, the total number of positive samples was not very

Table 1. Prevalence of anti-HAV IgG and IgM in pregnant women and blood donors.

Serological markers	Blood donors		Pregnant women (n = 100)
	Women (n = 22)	Men (n = 69)	
IgG	4 (18.2%, CI95 [2–34%])	9 (13%, CI95 [5–20%])	23 (23% CI95 [14–31%])
IgM	1 (4.5%)	2 (3%)	2 (2%)
IgG + IgM	1 (4.5%)	2 (3%)	2 (2%)

doi:10.1371/journal.pone.0048125.t001

different; however, as for the previous comparison, samples scored as indeterminate in the Wantai test were positive in the Dia.Pro test (five sera). There was a very good correlation between the O.D. values for the two tests (Figure 3). Although the slopes were the same for the two groups, the correlation coefficient was higher for blood donors ($r^2 = 0.95$) than for pregnant women ($r^2 = 0.71$); indeed, the correlation for pregnant women showed a significant deviation from the linearity (Runs test $p = 0.0092$).

Dia.Pro test data were used for all subsequent analyses of prevalence (Table 2). The anti-HEV IgG seroprevalence in female blood donors (11/47, 23%, CI95 [7–40%]) was not significantly different from that in male donors (23/131, 16%, CI95 [11–24%]). The prevalence of anti-HEV IgG among pregnant women (11%, CI95 [7–16%]) was lower than that in the entire blood donor group (19% CI95 [13–25%]); the difference with the female blood donor (non pregnant) group was highly significant, with an Odds Ratio ratio of 2.3 (CI95 [1.7–3.24], $\chi^2 = 4.31$, $p < 0.05$). This may have been because the women blood donors were older than the pregnant women.

This difference between pregnant women and blood donors remained significant when the data from the two sampling dates were analyzed independently. However, there was an unexpected large difference between the distributions of seroprevalence according to age in 2011 and 2012 (Figure 4A, 4B). In 2011 anti-HEV IgG seropositive blood donors were all in the <25 and 26–35 age groups, and there were no seropositive in the older age groups; the decrease in seroprevalence with age was significant ($\chi^2 = 4.4$ $p = 0.038$ (Figure 4A). This unexpected pattern was not found with the samples collected in 2012 which, by contrast, showed an increase of seroprevalence with age (but not significant $\chi^2 = 1.32$ $p = 0.257$; Figure 4B).

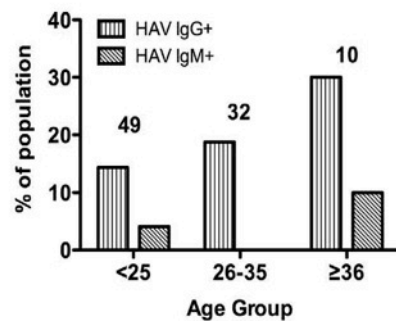


Figure 1. Distribution of anti-HAV IgG and IgM in blood donors according to age group.
doi:10.1371/journal.pone.0048125.g001

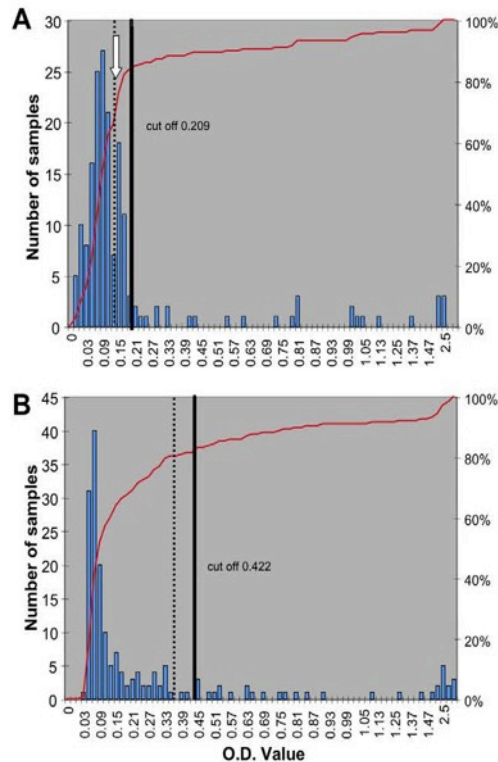


Figure 2. Comparison of results of testing with IgG ELISA kits. A) Wantai kit B) Dia.Pro test. Number of samples per OD value class (blue bars); red line: cumulative % of value: 100% is the 180 tested samples. Negative control value is given by a vertical dotted line and the cut-off value as determined for the kit is given by a vertical continuous line. Arrows in the Wantai graph (A) indicate the OD values for a group of people with sub-detectable IgG.
doi:10.1371/journal.pone.0048125.g002

Discussion

This study investigating the prevalence of anti-HAV and anti-HEV seropositivity in Ouagadougou is the first of its kind in Burkina Faso. For epidemiological purposes, blood donors can be considered to approximate to the healthy “general population”. However, the age criteria for blood donation and the elimination of samples found to be positive for hepatitis B and C antigens or for HIV antibodies could lead to an underestimation of the prevalence of anti-HAV and anti-HEV seropositivity in the general population. The group of pregnant women was not

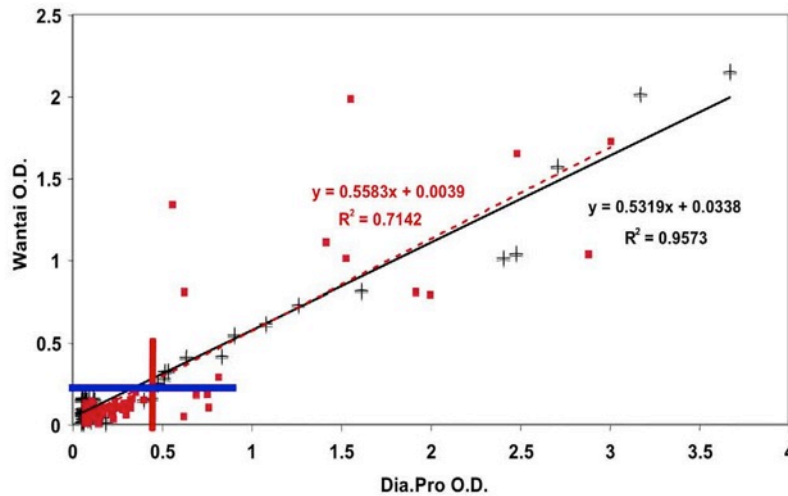


Figure 3. Evaluation of relationship between Wantai and Dia.Pro test results in positive samples. Crosses indicate blood donor samples and red squares samples from pregnant women. Linear correlations are significant within the two group but with significantly less dispersion of the blood donor samples than of the samples from pregnant women. The blue line indicates the cut-off level for the Wantai kit, and the red line the cut-off for the Dia.Pro kit.
doi:10.1371/journal.pone.0048125.g003

subject to such limitations but may have presented other biases as it included only young adult women attending prenatal clinics. Nevertheless, these two groups together may be fairly representative of the general population.

Hepatitis, manifest as jaundice, is common in Burkina Faso, but biological investigations are often conducted late, limited to chronic disease and involve only HCV and HBV testing. Cases of acute hepatitis may be diagnosed without determining either the virology of the infection or whether the jaundice is HBV- (HbsAg) negative. There have been few investigations of anti-HAV seroprevalence [36]. Our study detected HAV infection endemicities of 14.3% (CI95 [7.1–21.5%]) in blood donors and 23% (CI95 [14–31%]) in pregnant women. The difference between these two groups could be due by the close proximity of these women to children who are considered to be potential carriers of the virus [37,38]. The seroprevalence of anti-HAV IgM indicates that the incidence of infections is relatively high and that there is a risk of major outbreaks if vaccination is not continued.

The proportions of anti-HAV seropositives in the different age groups of blood donors revealed a high prevalence (50%) in the group of 46–55 year olds. The different rates of seropositivity between the different age groups suggests age-related HAV exposure in Burkina Faso, a phenomenon probably associated with the severity of the disease increasing with age. In the United States, the hospitalization rates for hepatitis A infections are 3%

for individuals younger than 18 years and 13% for individuals older than 18 years. The fatality rate is 0.3% overall, but it is higher than 2% for individuals over 40 years old [12]. The seroprevalence we observed in the 26–35 year old group (18.7%) agreed with the findings of Dubois *et al.* (1992), Denis *et al.* (2003), and Poda (2010) [36,39,40], and is consistent with the idea that young adults are the most highly exposed and sensitive to infection. Indeed, the dietary habits of young adults, who frequently choose ready-to-eat food and fast-food, have been recognized as health-risk factors because poor quality control and undercooking of these products are commonplace in Burkina Faso [32]. Studies in other emerging or developing countries around the world have shown that the prevalence of HAV infection decreases as the living conditions of the populations improve [41–46]. This in accordance with the situation in Burkina Faso characterized by its low income and the poor hygienic status of a major part of population in the capital Ouagadougou, associated with high prevalence of hepatitis. Indeed, the causes of acute hepatitis, the most common clinical sign of HAV and HEV infection, led us to evaluate the prevalence of these two viruses in parallel in our population.

Recently, the use of the “Wantai” kit in the UK and France led to the identification of higher rates of HEV positivity than suggested by previous studies using the Dia.pro kit. However, when we tested our Burkina Faso cohort in blind using both

Table 2. Prevalence of anti-HEV IgG in pregnant women and blood donors per sampling period (Dia.Pro test).

Year and marker	Blood donors		Pregnant women
	Women (n = 22)	Men (n = 67)	(n = 100)
2011			
IgG	5 (23% CI95 [5–40%])	11 (16.4% CI95 [7–25%])	9 (9% CI95 [3–14%])
March 2012			
IgG	6 (24% CI95 [7–40%])	12 (18.7% CI95 [9–28%])	13 (9% CI95 [7–22%])

doi:10.1371/journal.pone.0048125.t002

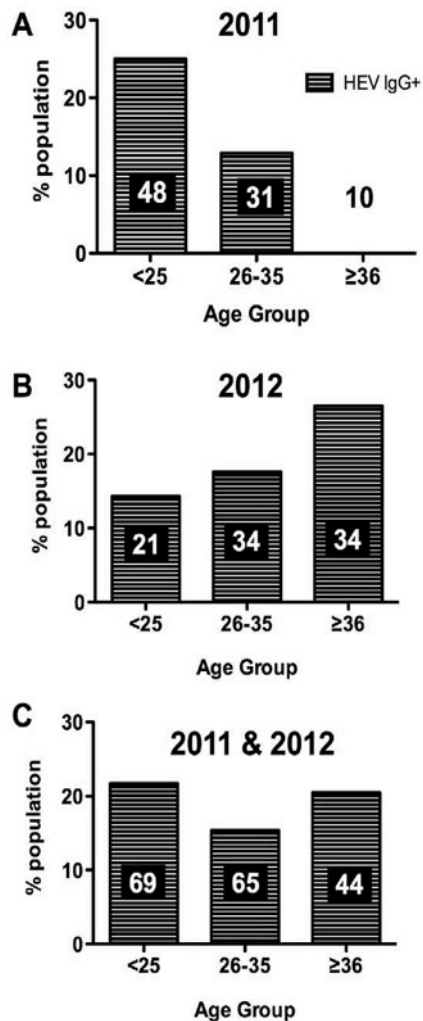


Figure 4. Distribution of anti-HEV IgG in blood donors according to age group. A) in January 2011; B) in March 2012; C) groups 2011 and 2012 combined. doi:10.1371/journal.pone.0048125.g004

methods we found a very similar result for the two tests. If this result was related to the genotype of the circulating HEV or to a specific immune status in the Burkinabe population remained to be assessed. The seroprevalence of anti-HEV IgG among Ouagadougou blood donors (19.1%, CI95 [13–24%]) was higher than those reported for Italy (2.6%), Germany (2.1%) and California (1.2%) but was close to that found in the south of France (16.6%) [47–49]. The seroprevalence of HEV found in this study was similar to those observed in Tunisia (22%), Burundi (14%), Singapore (14.5%) and South Africa (15.3%) [50–52]. The anti-HEV seroprevalence in our group of pregnant women (11.6%, CI95 [7.1–16.2%]) from the Burkina Faso plateau region of which Ouagadougou is the center, was lower than those found in most of these other countries but was comparable to those found in pregnant women in Tunisia (12.1%) and Turkey (12.6%) [53,54]. Low prevalences (1–5%) have been reported for countries with low HEV endemicity, such as the United States or those in

Northern Europe [55,13]. The HEV seroprevalence among pregnant women (11.6%) was slightly lower than that of either men or women blood donors (17.6% and 23.4%, respectively). Other studies of pregnant women reported similar patterns in Gabon (10–20%). These findings may be related to differences in socioeconomic status of the pregnant women, but we did not record any such data in our study [56]. We found the highest anti-HEV seroprevalence in the <25 years of age group (Figure 4C), which has been reported to be at high risk for HEV infection worldwide [13,57,58]. Nevertheless, in endemic areas, childhood hepatitis E infections are frequent than childhood hepatitis A infections. HEV is an infection of young adults, with the peak incidence between the ages of 15 and 35 years [59,60]. Our study was limited to this age class and we did not examine the seroprevalence in children. As HEV infection is particularly serious during pregnancy, our findings indicate that HEV awareness needs to be increased. The distribution of IgG anti-HEV seropositivity among blood donors according to age group showed a significant increase for the age group >36 years, from about 0% in 2011 to 26.4% in 2012. This absence found in the first sampling period in 2011 was quite unusual but could be due to sampling hazard or to HEV being introduced only recently. The 2012 data were more in accordance with those obtained in China by Li *et al.* in 2006 [61], showing that the seroprevalence of HEV could be related to both age and the level of endemicity or dietary exposure factors.

Recent studies in France indicate that HEV higher seroprevalence may be associated with dietary habits, and particularly with consumption of pork or rabbit meat [14,16,20,49]. Despite presence of rabbit breeding in rural areas of Bukina-Faso, little is known about rabbit meat consumption in large cities. In Ouagadougou, pork from locally-bred pigs is found in local fast-foods (grilled pork vending outlets) and is widely consumed by the population. As shown recently, the nature of processing affects the prevalence of HEV in the pork production chain in Europe [62]. Thus, complementary studies addressing eating habits and the serology of exposed population would be the logical continuation of the present study. Several studies have shown that low socioeconomic status, poor hygiene, lack of sewers, and underdeveloped health care facilities constitute the main transmission risk factors for HAV and HEV [32,63,64].

Conclusions

Despite being limited to a small subset of the Ouagadougou population, our findings emphasize the need to establish a national HAV and HEV surveillance program consisting. This program should include additional sero-epidemiological surveys to track changes in the epidemiology of these viruses, and especially factors for their persistence, and the role of eating habits and food processing methods in the spread of these infections. Data from such a program could be used as the basis for designing an HAV vaccination campaign and to enhance HEV surveillance.

In addition, HEV infection should not be considered rare and its presence should be actively investigated, especially in pregnant women given that HEV infection adds significant health risks to pregnancy. Additional studies are needed to detail the incidence and severity of this illness in pregnant women in Burkina Faso.

Finally, addressing the public health problems associated with the enteric transmission of viral hepatitis in developing countries will require implementing stronger measures to prevent fecal contamination of food and water.

Acknowledgments

Traore Kuan Abdoulaye is PhD student co-mentored by University Paris XI and University of Ouagadougou. This work was supported the Laboratory of Foodborne Pathogen Epidemiology and Surveillance of CRSBAN, University of Ouagadougou, Burkina Faso. We are also grateful to the nurses and staff of the National Center of Blood Transfusion and the Samadin Medical Center and to all the blood donors and pregnant women

who participated in the study. We thank Alex Edelman and Associates for English revision.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: PR NB. Performed the experiments: KAT NB. Analyzed the data: KAT NB PR. Contributed reagents/materials/analysis tools: HR YN MS PR AST. Wrote the paper: KAT PR NB.

References

- Rezig D, Ouneissa R, Mhiri L, Mejri S, Haddad-Boubaker S, et al. (2008) Séroprévalences des infections à hépatite A et E en Tunisie. *Pathol Biol* 56(3): 148–53.
- Buisson Y, Teyssou R (1995) Les virus des hépatites à transmission féco-orale. *Med Trop* 55: 305–312.
- Buisson Y (1996) Les virus des hépatites A et E. In: *Les virus transmissibles par le sang*. Ouvrage collectif (textes réunis par Jean-Jaques Lefrère), collection dirigée par Pascale Briand. Sélection Médecine Sciences: 95–104.
- W.H.O./EBI26 (2009) Hépatites virales. Conseil exécutif/rapport secretariat.
- Severo CA, Abensur P, Buisson Y, Detournay B, Pechevis M (1997) An outbreak of hepatitis A in a French day-care center and efforts to combat it. *Eur J Epidemiol* 13: 139–144.
- Law B, Diaz Mitoma F, Safary A (1997) Combined vaccination against hepatitis A and B in children and adolescents. Abstract on 9th Asian Congress of Paediatrics, 23–27 Mars 1997, Hong Kong. *J Paediatr Child Health* 33 (1): S58.
- Buisson Y, Joussenet M, Schill H (1994) Epidémiologie et prophylaxie de l'hépatite A. *Med Trop* 54: 98–138.
- Emerson SU, Anderson D, Arankalle A, Meng X-J, Purdy M, et al. (2004) Hepatitis E. In: *Faucet MC, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (ed.), Virus taxonomy. Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, London, United Kingdom: 851–855.
- Roque-Afonso AM, Mackiewicz V, Dussaix E (2006) Hepatitis A virus: an update. *Immunology and biology spécialisée* 21: 202–209.
- Costa-Mattioli M, Di Napoli A, Ferre V, Billaudel S, Perez-Bercoff R, et al. (2003) Genetic variability of hepatitis A virus. *J Gen Virol* 84: 3191–3201.
- Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OV, et al. (1992) Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol* 73(6): 1365–1377.
- Centers for disease control (1996) Prevention of hepatitis A through active or passive immunization. Recommendations of the advisory committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 45 (n° RR-15): 1–30.
- Nicand E, Bigaillon G, Tessed S (2006) Hépatite E: maladie émergente? *Pathol Biol Paris* 57: 203–211.
- Van Cuyck H, Fan J, Robertson DL, Roques P (2005) Evidence of recombination between divergent Hepatitis E virus. *J Virol* 79(14): 9305–14.
- Lu L, Li C, Hagedorn CH (2006) Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol* 16: 5–36.
- Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, Lhomme S, Marchandeu S, et al. (2012) Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerging Infect Dis* 18(8): 1274–1281.
- Stalin Raj J, Smits SL, Pas SD, Provacia LBV, Mooman-Roest H, et al. (2012) Novel Hepatitis E virus in ferrets, the Netherlands. *Emerging Infect Dis* 18(8): 1369–1370.
- Wu JC, Sheen IJ, Chang TY, Sheng WY, Wang YJ, et al. (1998) The impact of traveling to endemic areas on the spread of hepatitis E virus infection: epidemiological and molecular analyses. *Hepatology* 27(5): 1415–1420.
- Peron JM, Mansuy JM, Poupon H, Bureau C, Dupuis E, et al. (2006) Hepatitis E is an autochthonous disease in industrialized countries: analysis of 23 patients' insouthwest France over a 13-month period and comparison with hepatitis A. *Gastroenterol Clin Biol* 30: 757–62.
- Bouquet J, Tesse S, Lunazzi A, Eloit M, Rose N, et al. (2011) Close similarity between sequences of hepatitis E virus recovered from humans and swine, France, 2008–2009. *Emerging Infect Dis* 17: 2018–2025.
- Pavio N, Meng XJ, Renou C (2010) Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Veterinary research* 41: 46.
- Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, Canellini G, Burgisser P, et al. (2011) Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. *PLoS one* 6: e21150.
- Mansuy JM, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Saune K, Miedouge M, et al. (2011) Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerging Infect Dis* 17: 2309–2312.
- Khuroo MS, Teli MR, Skidmore S, Sofi MA, Khuroo MI (1981) Incidence and severity of viral hepatitis in pregnancy. *Am J Med* 70: 252–255.
- Khuroo MS, Kamili S (2003) Aetiology, clinical course and outcome of sporadic acute viral hepatitis in pregnancy. *J Viral Hepat* 2003. 10: 61–69.
- Nicand E, Buisson Y (1999) Virus de l'hépatite E. In: DENIS. F (Direction scientifique). *Les virus transmissibles de la mère à l'enfant*. John Libbey Eurotext, Paris: 125–135.
- Bile K, Isse A, Mohamud O, Allebeck P, Nilsson L, et al. (1994) Contrasting roles of rivers and wells as sources of drinking water on attack and fatality rates in a hepatitis E epidemic in Somalia. *Am J Trop Med Hyg* 51: 466–474.
- Guthmann JP, Klovstad H, Boccia D, Hamid N, Pinoges L, et al. (2006) A large outbreak of hepatitis E among a displaced population in Darfur, Sudan, 2004: the role of water treatment methods. *Clin Infect Dis* 42: 1685–1691.
- Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezranni L, Peron JM, et al. (2008) Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 358 (8): 811–817.
- Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Xia N-S, Ijaz S, et al. (2012) Hepatitis E. *Lancet*, 379(9835), 2477–2488.
- Barro N, Sangaré L, Tahita MC, Ouattara CT, Traoré AS (2005) Les principaux agents du péril identifiés dans les aliments de rue et ceux des cantines et leur prévalence en milieu hospitalier. *Maîtrise des Procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments, Utilisation des OGM, Analyse des risques en agroalimentaire*. Ouagadougou, 8–11 Novembre 2005.
- Barro N, Tahita MC, Traoré O, Sangaré L, de Souza C, et al. (2008) Risks associated with practices, processes and environment of ready-to-eat and street-vended foods that lead to contamination by common foodborne viruses. In *Hygiene and Its Role in Health* Ed. Aderson PL and Calhan JP: 129–153.
- Simpore J, Ouermi D, Ilboudo D, Kabre A, Zeba B, et al. (2009) Aetiology of Acute Gastro-Enteritis in Children at Saint Camille Medical Centre, Ouagadougou, Burkina Faso. *Pakistan J Biol Sci* 12 (3): 258–263.
- Bonkoungou IJO, Sanou I, Bon F, Benon B, Coulibaly SO, et al. (2010) Epidemiology of rotavirus infection among young children with acute diarrhoea in Burkina Faso. *BMC Pediatrics* 10: 94.
- Rouger P, Lefrère J J (2006) *Pratique nouvelle de la transfusion sanguine*. Elsevier Masson.
- Poda SH (2010) Séroprévalence du virus de l'hépatite A (VHA) chez les femmes enceintes venant en consultation prénatale dans le centre médical de Samadin. Université de Ouagadougou, 30p.
- Smith PF, Grabau JC, Werzberger A, Gunn RA, Rolka HR, et al. (1997) The role of young children in a community-wide outbreak of hepatitis A. *Epidemiol Infect* 118: 243–252.
- Victor JC, Surdina TY, Suleimeova S, Favorov MO, Bell BP, et al. (2006) The increasing prominence of household transmission of hepatitis A in an area undergoing a shift in endemicity. *Epidemiol Infect* 134: 492–497.
- Dalekos GN, Zervou E, Elisaf M, Germanos N, Galanakis E, et al. (1998) Antibodies to hepatitis E virus among several populations in Greece: increased prevalence in a hemodialysis unit. *Transfusion* 38(6): 589–595.
- Lee A, Cheng F, Lau L, Lo A, Fabb WE (1999) Changing hepatitis A epidemiology among Hong Kong Chinese adolescents: what are the implications? *Public Health* 113(4): 185–188.
- Barzaga BN (2000) Hepatitis A shifting epidemiology in South-East Asia and China. *Vaccine* 18(1): S61–64.
- Sohn YM, Rho HO, Park MS, Park JH, Choi BY, et al. (2000) The changing epidemiology of hepatitis A in children and the consideration of active immunization in Korea. *Yonsei Med J* 41(1): 34–39.
- Fix AD, Martin OS, Gallicchio L, Vial PA, Lagos R (2002) Age-specific prevalence of antibodies to hepatitis A in Santiago, Chile: risk factors and shift in age of infection among children and young adults. *Am J Trop Med Hyg* 66(5): 628–632.
- Sacy RG, Haddad M, Baasiri G, Khoriaty A, Gerbaka BJ, et al. (2005) Hepatitis A in Lebanon: a changing epidemiological pattern. *Am J Trop Med Hyg* 73(2): 453–456.
- Dubois F, Thevenas C, Caces E, Vol S, Doctoriarena A, et al. (1991) Séroépidémiologie de l'hépatite A dans six départements du centre-ouest de la France en 1992. *BEH* n° 49.
- Denis F, Delpeyroux C, Debrock C, Rogez S, Alain S (2003) Séroprévalence de l'hépatite A chez les maladies hospitalisées au CHU de Limoges. *Gastroenterol Clin Biol* 27: 727–731.
- Balayan MS, Fedorova O E, Mikhailov MI, Rytick PG, Pankova GY, et al. (1997) Epidemiology of hepatitis E virus infection. *J Viral Hepat* 4: 155–65.
- Mateos ML, Camarero C, Casa E, Teruel J L, Mir N, et al. (1999) HEV: prevalence in blood donors and risk groups. *Vox sang* 76: 78–80.
- Mansuy JM, Legrand-Abravanel F, Calot JP, Peron JM, Alric L, et al. (2008) High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. *J Med Virol* 80(2): 289–293.
- Ben HM, Arroji Z, Slim A, Lakhouna R, Ben-Redjeb S (1996) Epidémiologie de l'hépatite E en Tunisie. *Tun Méd* 76(5): 129–131.

51. Aubry P, Niel L, Niyongabo T, Kerguelen SBL (1997) Seroprevalence of hepatitis E virus in an adult urban population from Burundi. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57: 272-273.
52. Tucker TJ, Kirsch RE, Louw SJ, Isaacs S, Kannemeyer J, et al. (1996) Hepatitis E in South Africa: evidence for sporadic spread and increased seroprevalence in rural areas. *J Med Virol* 50: 117-119.
53. Hannachi N, Hidar S, Harrabi I, Mhalla S, Marzouk M, et al. (2009) Seroprevalence and risk factors of hepatitis E among pregnant women in central Tunisia. *Pathol Biol (Paris)* doi:10.1016/j.pathbio.2009.06.004.
54. Cevrioglu AS, Altindis M, Tanir HM, Aksoy F (2004) Investigation of the incidence of hepatitis E virus among pregnant women in Turkey. *J Obstet Gynaecol Res* 30(1): 48-52.
55. Atabek ME, Fyndy KD, Gulyuz A, Erkul I (2004) Prevalence of anti-HAV and anti-HEV antibodies in Konya, Turkey. *Health Policy* 67(3): 265-269.
56. Caron M, Kazanji M (2008). Hepatitis E virus is highly prevalent among pregnant women in Gabon, central Africa, with different patterns between rural and urban areas. *Virology* 475: 158.
57. Taremi M, Mohammad AAH, Ardalan A, Ansari S, Zali MR (2008) Seroprevalence of hepatitis E in Nahavand, Islamic Republic of Iran: a population-based study. *East Mediterr Health J* 14(1): 157-162.
58. Adjei AA, Tettey Y, Awiase JT, Adu-Gyamfi C, Obed S, et al. (2009) Hepatitis E virus infection is highly prevalent among pregnant women in Accra, Ghana. *Virology* 493: 108.
59. Arankalle VA, Tsarev SA, Chadha MS, Alling DW, Emerson SU, et al. (1992) Age-specific prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses in Pune, India, 1982 and 1992. *J Infect Dis* 171: 447-450.
60. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M (2008) Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis* 8(11): 698-709.
61. Li RC, Ge SX, Li YP, Zheng YJ, Nong Y, et al. (2006) Seroprevalence of hepatitis E virus infection, rural southern People's Republic of China. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1682-1688.
62. Di Bartolo I, Diez-Valcarce M, Vasichkova P, Kralik P, Hernandez M, et al. (2012) Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy and Spain, 2010. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1283-1289.
63. Castera L, Pawlotsky JM (2001) Hepatitis E virus infection: epidemiology and prevention. *Gastroenterol Clin Biol* 25: 521-537.
64. Stoszek SK, Abdel-Hamid M, Saleh DA, El Kafrawy S, Narooz S, et al. (2006) High prevalence of hepatitis E antibodies in pregnant Egyptian women. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 100(2): 95-101.

Enquêtes sérologiques supplémentaires (VHA)

Nos résultats de l'enquête sérologique sur l'hépatite A dans la population générale en 2012, indiquaient qu'environ 17,6-35,2% des sujets de 18-55 ans avaient déjà été exposés au VHA. Ce chiffre surprenant, était très faible et rejoignait des évaluations récentes de prévalence de VHA qui décroît de façon phénoménale en Asie.

Au regard des conditions de vie de la population burkinabè, le VHA est probablement endémique. Afin de vérifier ou confirmer ce paradoxe apparent une nouvelle cohorte des donneurs aptes à donner leur sang a été prélevée, et les échantillons de sérum ont été testés à l'aide de l'ARCHITECT HAVAb-IgG.

Le taux de prévalence IgG anti-VHA estimé à 99%, était en accord avec le profil endémique soupçonné dans la région. La grande discordance observée entre nos résultats de 2012 et ceux de 2013, pourrait être due non seulement à des méthodes différentes de collecte d'échantillons dans les deux cohortes (2012 et 2013), mais également à la technique sérologique et aux tests de diagnostic utilisés au cours des différentes enquêtes : Ainsi en 2012, les donneurs de sang inclus dans l'étude, étaient ceux, à la fois déclarés aptes à donner leur sang après l'entretien médical et ayant donné leur accord de participation à l'étude. Quant à la technique sérologique et test de diagnostic utilisé, il s'agissait du test immunochromatographique SD-Bioline IgG/IgM anti VHA dont les performances (sensibilité/spécificité) en zone d'endémie n'ont pas été validées. Par contre en 2013, tous les donneurs déclarés aptes ont été inclus dans l'étude et l'ARCHITECT HAV Ab-IgG, une technique immunoenzymatique validée dans un laboratoire du nord (GH, Saint Louis, Lariboisiere Fernand Widal), a été utilisée pour la recherche d'IgG anti-VHA.

II. Exposition des charcutiers (bouchers) Burkina Faso au VHE

L'hépatite E est une maladie à transmission féco-orale qui peut déclencher des hépatites fulminantes et atteindre un niveau de mortalité de quelques % voire à près de 20% chez la femme enceinte lors de flambées épidémiques. Le virus de l'hépatite E (VHE), responsable de la maladie, est divisé en 4 grands génotypes. Les génotypes 1 et 2 sont retrouvés uniquement chez l'homme et sont responsables d'épidémies dans les pays en développement lors de crises sanitaires liées aux conditions climatiques ou sanitaires (camps de réfugiés). Les génotypes 3 et 4, responsables de cas sporadiques en clinique humaine, sont des agents zoonotiques et semblent inféodés aux populations de suidés en Asie (type 4) en Europe et aux Etats-Unis (type 3). Des variants des souches 3 et 4 sont aussi associés aux lagomorphes. Cependant l'infection VHE étant asymptomatique chez le porc, les souches VHE de génotype 3 et 4 ont été largement distribuées dans les élevages du monde entier. Cependant, à ce jour, aucune étude n'a été conduite pour évaluer le portage du VHE chez les porcs destinés à la consommation de rue ni sur les risques de transmission zoonotique locale des souches de VHE de types 3 ou 4.

Afin d'évaluer la consommation de porc à Ouagadougou, un recensement des sites de ventes et du nombre de carcasses de porc vendues/site/ jour a été réalisé dans les différents quartiers de la ville de Ouagadougou. La consommation de viande de porc est portée à plus de 290 sites de vente permanents, distribués essentiellement au centre de la ville de Ouagadougou. En moyenne 1 à 2 carcasses de porc était vendues/jour/site. Afin d'évaluer la séroprévalence de l'infection à VHE dans la population à risque élevé, c'est-à-dire les bouchers en comparaison avec la population générale, 190 échantillons de sérums ont été collectés en 2013 dont 100 bouchers et 90 donneurs de sang, et analysés à l'aide du Kit ELISA IgG/IgM anti-VHE Dia-Pro. Les IgG anti-VHE dans cette nouvelle cohorte des donneurs de sang prélevés pendant la saison humide au CNTS, était 47,78 [IC95%, 37,5 – 58,1%]. En revanche chez les bouchers, elle était de 76%, [IC95%, 67,63–84,37%]. En outre l'analyse statistique a montré que les bouchers avaient un facteur de risque significativement 3 fois plus élevé par rapport à la population générale (rapport de cote ou Odds Ratio OR = 3,46 [IC 95% 2,85 – 4,21] p <0,001).

L'augmentation de la prévalence des IgG anti-VHE en fonction de l'âge des bouchers n'était pas une surprise. T o u t e f o i s , les différences de prévalence entre les

groupes d'âge étaient non significatives (test Chi-2).

Les IgM anti-VHE étaient respectivement de 3,19% [IC 95%, 0,95- 2,95%] dans la population générale et 1% [IC 95%, 1,70-4,68%] chez les bouchers. Toutefois, cette différence n'était pas significative.

Afin d'évaluer la circulation et la présence active du VHE dans l'élevage porcin à Ouagadougou, 100 échantillons de sang de porc ont été prélevés lors du saignement sur l'un des principaux sites d'abattage en périphérie de la ville (Kambouinsin) et 157 foies de porc ont été achetés sur les différents sites de ventes dans le grand Ouagadougou.

La sérologie a été réalisée avec le kit HEV ELISA4.0v de MP diagnostic. La détection du virus a été réalisée sur broyats de foie selon une méthode de PCR nichée dérivée de Barnaud *et al.* 2012. La sérologie sur les sérums prélevés sur le site d'abattage a donné une séroprévalence de 80% [IC 95%, 72-87%].

L'ARN VHE a été détectés dans un foie de porc sur les 157 échantillons de foies collectés. L'analyse phylogénétique de cette souche porcine burkinabé a montré qu'il s'agissait d'une souche VHE de génotype 3 dans une région sahélienne où seul le génotype 1 avait été identifié jusqu'alors (Tchad, Maroc).

Cette étude est la première à mettre en évidence la présence et la circulation active du Génotype 3 VHE chez les suidés au Burkina. Ces résultats suggèrent que les porcs pourraient être une source de contamination pour l'homme par contact direct avec des animaux infectés (bouchers, éleveurs) ou par consommation de viande infectée en cas de cuisson insuffisante. Ce travail a fait l'objet d'un article soumis (**Article 2**) et d'un poster, Journée Francophone de Virologie 2014.

Article 2: Hepatitis E virus exposure is increased in pork butchers from BurkinaFaso.

Kuan A Traoré, Jean Bienvenue Ouoba, Nicolas Huo, Sophie Rogée, Marine Dumarest, Alfred S Traoré, Nicole Pavio, Nicolas Barro, Pierre Roques.

Soumis à *Am. J. Trop. Med. Hyg*

1 **Hepatitis E virus exposure is increased in pork butchers from Burkina Faso**

2

3 **Kuan Abdoulaye Troaré^{1,2}, Jean Bienvenu Ouoba¹, Nicolas Huot², Sophie Rogée³,**
4 **Marine Dumarest³, Alfred S Traoré¹, Nicole Pavio³, Nicolas Barro¹, Pierre**
5 **Roques^{2,4*}.**

6

7 **Author affiliations :**

8 1 Université de Ouagadougou, EDST- Service: CRSBAN, Ouagadougou, Burkina Faso

9 2 CEA, Institut des Maladies Emergentes et Thérapeutiques Innovantes, Service
10 d'Immuno-Virologie, Fontenay-aux-Roses, France ; and Université Paris-Sud XI, Orsay,
11 France

12 3 ANSES, UMR 1161 Virologie, Maisons-Alfort, France ; and INRA, Maison-Alfort ; and
13 University Paris-Est, ENVA, Maisons-Alfort, France

14 4 Inserm, U1184, Center for immunology of viral infections and autoimmune diseases,
15 France

16

17 **Key wordk :** Hepatitis E virus, Zoonotic Transmission, Swine, Risk population

18

19 **Runing Head :** HEV genotype 3 exposure through contact with West-African pigs

20

21 **Word count: Abstract 105 words ; Text 1258 words = 1375**

22

23 **1 table and 2 figures**

24

25 **Corresponding Author address:** Dr. Pierre Roques, CEA, Service d'Immuno-Virologie,
26 iMETI, 18 route du panorama, 92265 Fontenay-aux-Roses, France ; Tel : +33 1
27 46549167 ; fax : +33146547726 pierre.roques@cea.fr

28

29 **ABSTRACT 105 words**

30 We conducted the first survey of zoonotic risk of HEV transmissions in
31 Ouagadougou, Burkina Faso, through the direct contact with pork meat during
32 professional activity. Anti-HEV antibodies were more prevalent in pork butchers, 76%
33 than in the general population, 47.8% in 2013 (OD ration 3.46 [CI 95% 2.85-4.21]
34 $p < 0.001$). Amongst slaughter aged swine, HEV seroprevalence was of 80% and HEV RNA
35 was detected in 1% of pork livers. Phylogenetic analysis pointed out HEV genotype 3.
36 Thus, in addition to possible HEV contamination through the water source, as in
37 endemic region, zoonotic transmissions of HEV probably occur in West Africa.

38

39 **Main text: 1258 words**

40 Hepatitis E virus (HEV) is a causative agent of acute or fulminant hepatitis in
41 humans occurring in many areas of the World.¹ In most cases, it is a self-limited infection
42 with a rapid viral clearance, but it can evolve into more severe forms as the mortality
43 rate ranges from 1 to 4% in the general population and to nearly 20% in pregnancies
44 during outbreaks (WHO 2014). HEV epidemiology involves fecal and oral transmission
45 either through the water source in endemic regions or through zoonotic exposure
46 (direct contact with infected animal, meat or consumption of infected foods) in non-
47 endemic areas.² More recently, cases of chronic hepatitis E have been reported in
48 patients under immunosuppressive treatment such as solid organ transplants, and has

49 progressed to more serious conditions, including fibrosis, liver cirrhosis and liver
50 failure.³

51 In addition to humans, HEV has been identified in several other animal species,
52 especially pigs where infections are asymptomatic.⁴ Hepatitis E is now a recognized
53 zoonotic disease with swine being the main source of human infections.⁵ In addition,
54 people working in contact with swine and at slaughterhouses are known to be at higher
55 risk of HEV exposure.^{6,7}

56 In Burkina Faso, there is very little epidemiological data available on HEV
57 infection and it is unknown if zoonotic transmissions occur. To assess if population in
58 contact with pork meat are at higher risk of HEV infections, a survey was performed in
59 butchers from Burkina Faso and in pigs at slaughterhouse. Thus the objectives of this
60 study were to 1) determine HEV seroprevalence in pork butchers in comparison to the
61 general population, 2) determine HEV serological and virological prevalences in
62 slaughter age pigs and 3) identify the HEV genotype present in pigs

63 Human Sera were collected during a serologic survey in Ouagadougou, the capital
64 city of Burkina Faso of blood donor (90 sera sampled in July 2013 in Ouagadougou blood
65 bank) and among people working daily with pork meat and preparing street food, after
66 obtaining informed consent (Authorization no. 2014-12-128 - 3 December 2014). First,
67 pork sale sites were recorded in the great Ouagadougou area in 2013. The sales sites
68 were geographically displayed with ArcGIS 10.0 (ESRI, Redlands, CA) (figure 1).
69 Behavior investigations were conducted in 155 sites from the 292 butchers' shop found.
70 Thus 100 serum samples were collected on-site from volunteer butchers. Anti-HEV
71 immunoglobulin G (IgG) were determined using DIA.PRO (Diagnostic Bioprobe srl,
72 Milan, Italy) while Anti-HEV IgM were determined using Wantai kit (Biological
73 Pharmacy Enterprise CO., Beijing, China). The tests were carried out according the

74 manufacturer's instructions including positive and negative controls. Both tests detect
75 IgG IgM antibodies against the four major HEV genotypes. For the Burkinabe population,
76 DIA.PRO and Wantai detection of IgG are correlated.¹⁰ The epidemiological
77 characteristics of butchers are presented in table 1.

78 Swine sera and liver samples were collected from November to December, 2012
79 and July to August 2013 from 257 pigs of local herds. From the sale sites investigation,
80 an average of 8 700 to 17 400 pigs were estimated to be slaughtered per months in
81 Ouagadougou. The age of animals ready for slaughter ranged from 6 to more than 18
82 months. One hundred samples of blood were collected during the bleeding at the
83 slaughterhouse of Kambouinsin and 157 pieces of liver were bought in the various sale
84 sites. A commercial test validated for veterinary analysis was used to detect anti-HEV
85 antibodies by ELISA 4.0v (MP Diagnostics, Illkirch, France) according to the
86 manufacturer's instructions except that 10 μ L of sera was used.⁸

87 For each liver tissue sample, 30-50 mg were crushed and homogenized with
88 ceramics beads in 1 ml of RNA lysis buffer (QIAGEN, Hilden, Germany) by using a
89 PRECELLYS[®]24 apparatus (Bertin technology, Montigny-le-Bretonneux, France). Total
90 RNA was extracted from 500 μ L suspension by using the Rneasy Mini Kit (QIAGEN),
91 according to the manufacturer's recommendations. HEV RNA was detected by using
92 quantitative RT-PCR adapted from Barnaud et al.^{8,9} From the 157 liver tissues analyzed,
93 one was found positive. For sequence analysis, a region from the ORF-2 region (capsid
94 protein) was amplified by RT-nested PCR from the positive sample. The PCR product
95 (348 bp) was purified on a 1%(w/v) agarose gel electrophoresis with a PCR clean up kit,
96 extracted (MACHEREY-NAGEL, Düren, Germany), cloned in a PJET1.2 Easy vector
97 (Thermo Scientific) and then sequenced (Beckman Coulter Genomics Inc). HEV
98 sequences with strong similarities with the HEV-BF strain (accession number

99 LN831924) were retrieved from databases using BLAST
100 (<http://blast.ncbi.nlm.gov/Blast.cgi>). The serological data from human and pigs, was
101 processed, analyzed and plotted using Excel 2013 (Microsoft,USA), Statview (SAS
102 Institute, USA) and Prism 6.0e (GraphPad Software).

103 The Humans prevalence of IgG anti-HEV among blood donors in 2012 was 19.1%
104 [95% CI, 13.3 - 24.9%] but reached 47.8% [95%CI, 37.5-58.1] in 2013 amongst the
105 blood donor cohort sampled for this study during the wet season.¹⁰ This increase is not
106 fully understood but might be associated with seasonal movement of population with
107 poor hygienic status. In contrast, the global HEV prevalence among Ouagadougou
108 butchers was estimated to be 76% (CI 95% [67.-84]). Thus, butchers had a significant
109 risk factor 3.5 times higher compared to the general population sampled and tested in
110 2013 (Odd Ratio = 3.46 [95% CI 2.85 - 4.21] p <0.001). These findings suggest that HEV
111 zoonotic transmissions occur through frequent contacts with biological samples (feces,
112 blood) and organs of infected animals.¹¹ These results are consistent with similar
113 studies worldwide that shown a high prevalence of HEV infections in people who work
114 in direct contact with pigs or pig meat.¹²⁻¹⁴

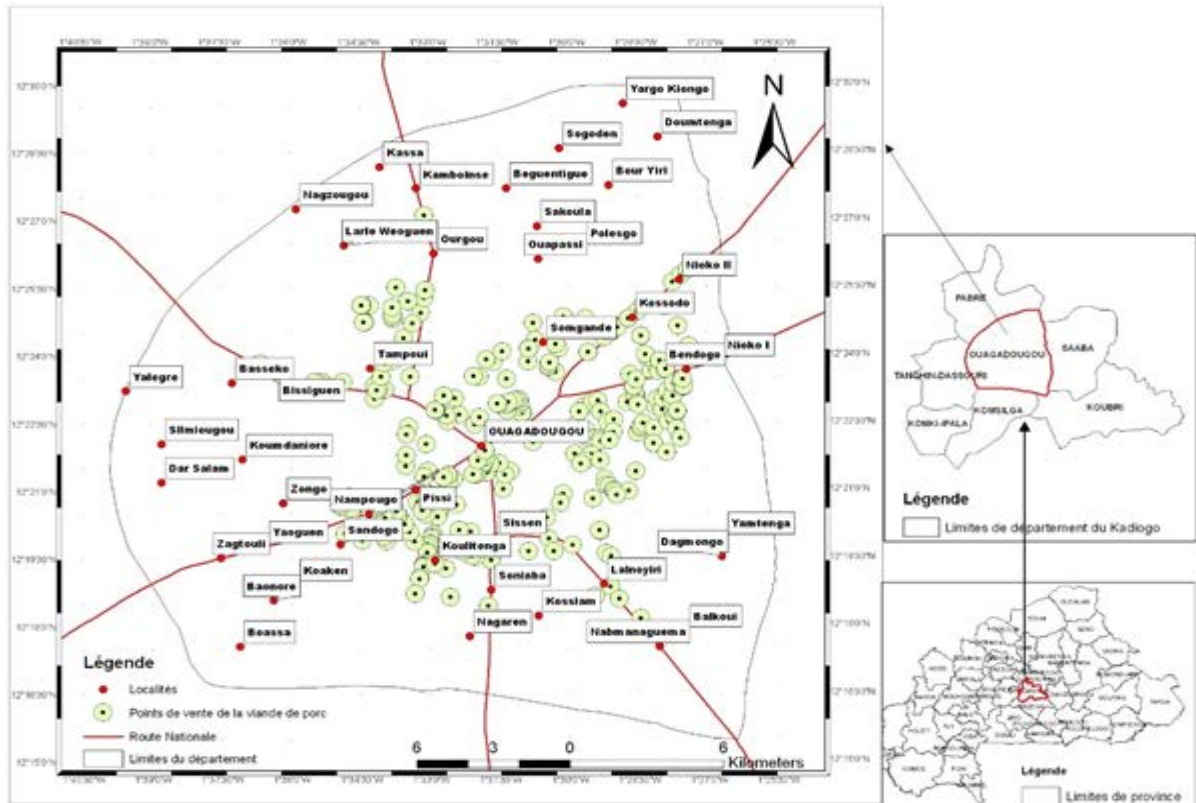
115 Anti-HEV IgM were present in 3.19% [95% CI, 0.95 - 2.95] of 2013 blood donor
116 population and in 1% [95% CI, 1.70 - 4.68] of butchers. However, this difference is not
117 significant. The low percentage of recent infection (IgM positive) amongst butchers can
118 be explained by the high percentage of Anti-HEV IgG antibodies and possibly by the time
119 spent in the activity. Despite the absence of registered HEV epidemics, these results
120 indicate a high incidence of HEV infections. This is illustrated by the increase of IgG
121 seroprevalence between 2011-2012 and 2013 and is probably associated with
122 subclinical infections. As expected, we observed an increased prevalence with age

123 among butchers (55% below 25 years of age, n=40; 90% older than 25 years of age)
124 which could be explained by a longer time of exposure.¹³
125 In the swine reservoir, a high seroprevalence rate of 80% [95CI, 72-87%] was found in
126 pigs older than 6 months of age. These results show an active HEV circulation among
127 domestic pigs in Burkina Faso. Furthermore one liver sample was found positive for
128 HEV RNA. Because the sampling of slaughter age pigs, this discrepancy between high
129 seroprevalence and low HEV portage was not surprising.¹⁴ The HEV sequence identified
130 in this Burkinabe pig, was clustered with an African sequence of genotype 3 HEV from
131 Yaounde (Cameroun) and Madagascar and had a >98% similarity but was very different
132 from the Nigerian strains as showed by BLAST analysis.¹⁵ The phylogenetic analysis of
133 the swine HEV-Burkina sequence, together with retrieved sequences and reference
134 sequences, showed that the Burkinabe sequence is related to swine HEV strains from
135 Cameroun and Madagascar but not from Congo (Boostrap value = 85; Figure 2). Addition
136 of other published swine HEV sequences showed that our strain is part of a group of
137 sequence with no sub-type or geographical origin cluster (Supl. Fig 1). Thus, other
138 factors, such as pork species and their international trade, should be investigated.

139 In conclusion, this study showed the presence of HEV genotype 3 in sub-Sahel
140 areas where only HEV genotype 1 had been identified or suspected until now. Thus the
141 HEV from pigs may be a new source of human contamination by direct contact with
142 infected animals (butchers, farmers) or consumption of infected meat due to
143 insufficient cooking.⁵ Additional studies are needed to explore the different HEV
144 genotypes associated with clinical hepatitis E in human and investigate the possible role
145 of the pig reservoir and zoonotic transmission in HEV epidemiology in West Africa.

146

147 **Legend to the figures**



149

150

151 **Figure 1:** Map of Ouagadougou, showing location sales sites in 2013. Pork food points of
152 sale are displayed as circles with central dot, and locality in Ouagadougou within square.

153

154

155

156

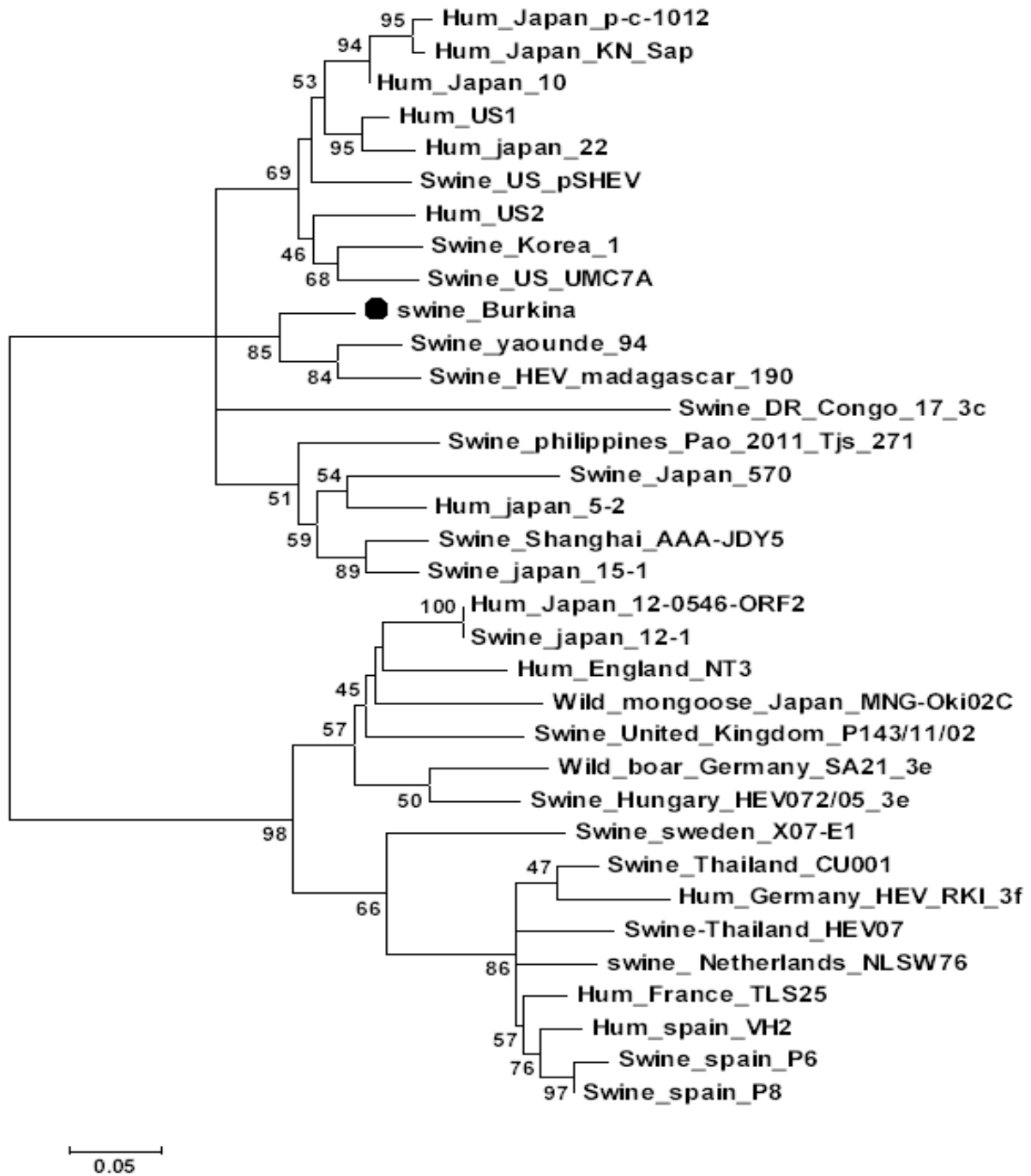
157

158

159

160

161



163

164 **Figure 2:** Phylogenetic analysis from the partial HEV-ORF2 sequence obtained from
 165 Burkinabe swine (swine Burkina AC#LN831924; indicated by a dot and an arrow)
 166 aligned with 33 references sequences retrieved from Genbank using MEGA6 software.¹⁶
 167 Maximum Likelihood method based on the Kimura 2 parameters model was used with a

168 discrete Gamma distribution (+G) and portion of invariable sites (+I) to model
169 evolutionary rate differences among sites (+G = 0.4606; +I = 64.018% sites). The tree
170 with the highest log likelihood (-2304.6559) is shown. The percentage of trees in which
171 the associated taxa clustered together as assessed by Bootstrap method (200 replicates)
172 is shown next to the branches. Branch lengths scale is the number of substitutions per
173 site. Sequence name were given as Species-HEV-country-strain-name and Accession
174 number are given in supplemental table I. All positions containing gaps and missing
175 data were eliminated, leaving 276 positions in the final dataset.

176

177 **Acknowledgments.** We thank Essia Belarbi, Claire Torres, and Judicael Tarama for their
178 help respectively in France and Burkina Faso.

179 Financial support was provided by the French Government through the 3rd cycle
180 university scholarship program Cooperation of the French Embassy in Burkina Faso
181 (www.burkina.campusfrance.org) and a cotutelle thesis grant from the University Paris-
182 SudXI.

183

184 **Author contributions.** Conceived and designed the study: PR, NB, NP. Performed the
185 experiments: AKT, JBO, NU, SR, MD. Analyzed the data: AKT, AST, NU, NP, PR.
186 Contributed cohort data collection: AKT, JBO, NB. Wrote the paper: AKT, NP, NB, PR. All
187 authors read and approved the final version of the manuscript.

188

189 **Disclosure statement.** The authors declare no competing interests.

190

191 **References**

- 192 **1.** Liu P, Bu QN, Wang L, Han J, Du RJ, Lei YX, et al. Transmission of hepatitis E virus
193 from rabbits to cynomolgus macaques. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(4):559-65.
- 194 **2.** Xing D, Chen D, Zhenxian Z, Jiuhong L, Min D, Yan Y, Jianguang F, et al. Hepatitis E
195 Virus Genotype 4, Nanjing, China, 2001–2011. *Emerg Infect Dis.* 2013.Vol. 19(9).
196 1528-1530
- 197 **3.** Kamar N, Abravanel F, Selves J, Garrouste C, Esposito L, Lavayssiere L, et al.
198 Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of genotype 3
199 hepatitis-E virus infection after organ transplantation. *Transplantation.*
200 2010;89:353–60. <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0b013e3181c4096c>
- 201 **4.** Yugo DM, Meng XJ. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic
202 transmission. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10(10):4507-33.
- 203 **5.** Pavio N, Meng XJ, Doceul V. Zoonotic origin of hepatitis E. *Curr Opin Virol.*
204 2015;10C:34-41
- 205 **6.** Di Martino B, Di Profio F, Martella V, Di Felice E, Di Francesco CE, Ceci C, et al.
206 Detection of hepatitis E virus in slaughtered pigs in Italy. *Arch Virol.*
207 2010;155(1):103-6.
- 208 **7.** Carpentier A, Chaussade H, Rigaud E, Rodriguez J, Berthault C, Boue F, et al. High
209 hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France. *J*
210 *Clin Microbiol.* 2012;50(9):2888-93.
- 211 **8.** Barnaud E, Rogee S, Garry P, Rose N, Pavio N. Thermal inactivation of infectious
212 hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Appl Environ Microbiol.*
213 2012;78(15):5153-9.
- 214 **9.** Cooper K, Huang FF, Batista L, Rayo CD, Bezanilla JC, Toth TE, et al. Identification
215 of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in

216 Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the
217 respective human populations. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1684-8.

218 **10.**Traore KA, Rouamba H, Nebie Y, Sanou M, Traore AS, Barro N, et al.
219 Seroprevalence of fecal-oral transmitted hepatitis A and E virus antibodies in
220 Burkina Faso. *PloS ONE.* 2012;7(10):e48125.

221 **11.**Temmam S, Besnard L, Andriamandimby SF, Foray C, Rasamoelina-Andriamanivo
222 H, Heraud JM, et al. High prevalence of hepatitis E in humans and pigs and
223 evidence of genotype-3 virus in swine, Madagascar. *Am J Trop Med Hyg.*
224 2013;88(2):329-38.

225 **12.**Krumbholz A, Mohn U, Lange J, Motz M, Wenzel JJ, Jilg W, et al. Prevalence of
226 hepatitis E virus-specific antibodies in humans with occupational exposure to
227 pigs. *Med Microbiol Immunol.* 2012;201(2):239-44.

228 **13.**Adjei AA, Aviyase JT, Tettey Y, Adu-Gyamfi C, Mingle JA, Ayeh-Kumi PF, et al.
229 Hepatitis E virus infection among pig handlers in Accra, Ghana. *East Afr Med J.*
230 2009;86(8):359-63.

231 **14.**Pavio N, Meng XJ, Renou C. Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging
232 risks. *Vet Res.* 2010;41:46. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres/2010018>

233 **15.**Owolodun OA, Gerber PF, Giménez-Lirola LG, Kwaga JKP & Opriessnig T. First
234 report of hepatitis E virus circulation in domestic pigs in Nigeria. *Am J Trop Med*
235 *Hyg.* 2014;91, 699–704.

236 **16.**Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013). MEGA6:
237 Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*30: 2725-
238 2729.

239

240

241

242 **Table 1: Socio-demographic characteristics of the butchers.**

Characteristics of individuals	Number (%)
Gender	
Male	152 (98.1)
Female	3 (1.9)
Age group (years)	
≤25	48 (30.9)
26-35	80 (51.6)
>36	27 (17.4)
Duration of activity (years)	
<5	90 (58.1)
5-10	46 (29.7)
10-20	19 (12.2)
Hygiene training (BPH)	16 (10.3)
No knowledge of zoonotic diseases	155 (100)

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

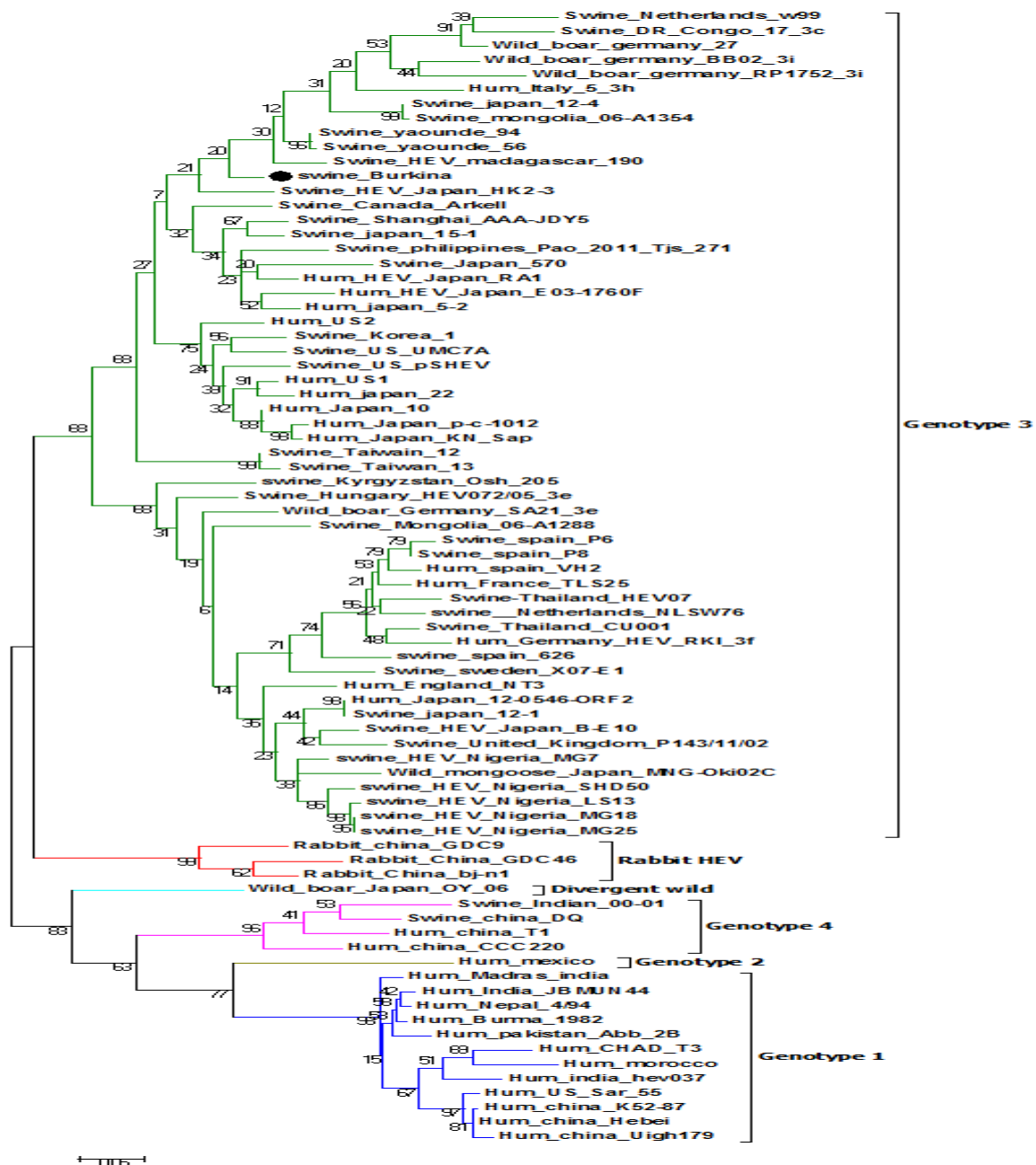
253

254

255

256

257



258
259

260 **Supplemental figure 1:** Phylogenetic analysis from the partial HEV-ORF2 sequence
 261 obtained from Burkinabe swine (swine Burkina AC#LN831924; indicated by a dot and
 262 an arrow) aligned with 78 references sequences retrieved from Genbank using MEGA6
 263 software.16 Maximum Likelihood method based on the Tamura-Nei model was used. A
 264 discrete Gamma distribution was used to model evolutionary rate differences among
 265 sites (5 categories (+G, parameter = 0.4981)). The rate variation model allowed for some
 266 sites to be evolutionarily invariable ([+I], 60.5475% sites). The tree with the highest log
 267 likelihood (-3545.17) is shown. The percentage of trees in which the associated taxa
 268 clustered together as assessed by Boostrap method (200 replicates) is shown next to the
 269 branches. Branch lengths scale is the number of substitutions per site. Sequence name
 270 were given as Species-HEV-country-strain-name and Accession number are given in
 271 supplemental table I. All positions containing gaps and missing data were eliminated
 272 and there were 276 positions in the final dataset. 549x793mm (72 x 72 DPI)

III. Risque transfusionnel du VHE

La sécurité transfusionnelle des produits sanguins n'a cessé de s'améliorer au cours de ces dernières années. La mise en place de méthodes efficaces sur le plan immuno-virologique, et la gestion de la qualité, a beaucoup contribué à l'innocuité de la transfusion sanguine. A l'heure actuelle, les principaux tests sérologiques effectués dans la plupart des banques de sang du continent ciblent le VIH, VHB, VHC et le tréponème pallidum. Cependant, les pathogènes inconnus ou émergents transmissible par le sang, tels que le VHE, peut également compromettre la sécurité transfusionnelle du receveur. En effet ce virus est en train de devenir une menace potentielle pour la sécurité du sang, avec des études montrant de fortes prévalences et la description de cas de transmission par transfusion ou transplantation dans le monde.

Cette étude visait à évaluer la prévalence des anticorps anti-IgG sur une population de donneur de sang pour laquelle la prévalence des infections classiquement transmissibles par transfusion est connue (VIH, VHB, VHC, Syphilis). Les IgM anti-VHE qui signent des infections potentiellement actives et possiblement transmissibles lors du don du sang ont été déterminés par la suite dans cette nouvelle cohorte des donneurs de sang.

L'étude a été réalisée sur 1497 prélèvements sanguins provenant de donneurs bénévoles non rémunéré du CNTS durant la période juin et juillet 2014. Tous les donneurs recrutés après entretien médical étaient apparemment en bonne santé.

L'âge des donneurs était compris entre 17 et 65 ans avec une tranche d'âge majoritaire de 20 à 36 ans comprenant 1203 (80,4 %) donneurs. Cette population de donneurs de sang était jeune, avec un âge moyen de 29,9 ans et une forte prédominance du sexe masculin (1099 soit 73,4 % [IC95: 71,2-75,6]). Seules 398 soit 26,6% des donneurs étaient de sexe féminin soit un sexe ratio de 3/1.

Parmi les sujets testés, 46 (3,07 %), 116 (7,75 %), 11 (0,73 %) et 15 (1 %) étaient respectivement positifs pour les anticorps anti-VHC, l'AgHBs, les anticorps anti- VIH, et les anticorps anti *T pallidum*. Il n'y avait pas de différence significative entre les sexes. Toutefois les femmes séropositives avaient tendance à être plus jeunes par rapport aux hommes séropositifs. Seule 11 donneurs de sang avaient une double infections : trois femmes (1 VHB + VIH; 1 VHB + syphilis; 1 VHB + VHC) et huit hommes (7 VHC + VHB, 1 VHC + VIH).

La prévalence des donneurs de sang exposés au VHE était très forte (39 % IgG

anti-VHE). Le marqueur d'infection récente (IgM anti-VHE) a été estimé à 1,9 % [IC 95%: 1,2-2,6 %] soit 13 donneurs de sang (2 femmes et 11 hommes). Trois des hommes présentant des IgM anti-VHE étaient positifs pour un autre pathogène testé (1 VHB+ et 2 VHC+).

En conclusion, 11,3 % [IC à 95 %, 9,7-12,9] de l'ensemble des donneurs testés (168/1485) étaient infectés par au moins un agent pathogène. La distribution de L'AgHBs et l'anticorps anti-VHC était indépendant de l'âge comme celle des IgM anti-HEV (test Anova non significatif). En revanche la prévalence des IgG anti-VHE des hommes et femmes donneurs de sang, augmente significativement avec l'âge montrant une exposition continue à l'agent et un profil caractéristique d'un pathogène endémique.

Les infections virales demeurent la plus grande menace pour la sécurité transfusionnelle au Burkina Faso. Malgré l'efficacité de la stratégie de gestion des risques des infections virales en transfusion, l'introduction des techniques d'inactivation de produits secondaires est nécessaire au regard du risque résiduel en transfusion qui demeurent non négligeable. Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'un article (**Article 3**).

Article 3: HEV serology in the blood donor population from West African city of Ouagadougou with known HIV, HBV, HCV, and syphilis prevalence.

Kuan A Traore, Jean Bienvenue Ouoba, Hortense Rouamba, Yacouba K. Nébié , Honorine Dahourou, Alfred S Traore, Nicolas Barro, Pierre Roques.

Soumis à Transfusion

1 **HEV serology in the blood donor population from West African city of**
2 **Ouagadougou with known HIV, HBV, HCV, and syphilis prevalence.**

3
4 **Kuan A Troaré (1,2), Jean Bienvenue Ouoba (1), Hortense Rouamba (1,3), Yacouba**
5 **K. Nébié (3), Honorine Dahourou(3), Alfred S Traoré (1), Nicolas Barro (1), Pierre**
6 **Roques (2,5).**

7
8 (1) Université de Ouagadougou, EDST- Service : CRSBAN, BP 7021 Ouagadougou -
9 Burkina Faso,

10 (2) Université Paris-Sud XI, UMR-E1, 91000 Orsay - France,

11 (3) Centre National de Transfusion Sanguine, Ouagadougou 03, Burkina Faso

12 (4) Centre médical de Samandin, Ouagadougou 03, Burkina Faso

13 (5) CEA, Institut des Maladies Emergentes et Therapeutique Innovantes, Service
14 d'Immuno-Virologie, 92265 Fontenay-aux-Roses - France,

15
16 **Corresponding authors:**

17 Pierre **Roques**: CEA, Division of Immuno-Virologie, Institute of Emerging Diseases and
18 Innovative Therapies, Fontenay-aux-Roses, France.

19 E-mail: pierre.roques@cea.fr

20
21 **Barro Nicolas**: Laboratoire de Biologie Moléculaire et d'Epidémiologie et de
22 Surveillance Bactéries et Virus transmis par les Aliments, CRSBAN/ Département de
23 Biochimie-Microbiologie, UFR-SVT/Université de Ouagadougou, 03 B.P. 7021
24 Ouagadougou 03, Burkina Faso

25
26 **SOURCES OF SUPPORT:**

27 Kuan Abdoulaye Traoré received funding from the 3rd-cycle university scholarship
28 program of the Embassy of France in Burkina Faso (www.burkina.campusfrance.org)
29 and University Paris-Sud XI.

30
31 **CONFLICT OF INTEREST**

32 The authors have no conflicts of interest relating to this manuscript to declare.

33

34 Word count: abstract 245 words ; full text 2491 words (3506 including figure legends,
35 acknowledgments and references)

36

37 **RUNNING HEAD: HEV risk in blood donors in Ouagadougou**

38

39 **Abstract - 245 words**

40 **BACKGROUND** Quality assurance and routine testing for chronic infectious diseases are
41 essential, to reduce the risks associated with blood transfusion. In African countries, the
42 principal serologic tests carried out target the AIDS virus (HIV-1 and HIV-2) and
43 hepatitis B and C viruses (HBV, HCV). However, unknown or emerging infections in the
44 population of blood donors, such as hepatitis E virus (HEV) infection, may also
45 jeopardize transfusion safety.

46

47 **STUDY DESIGN AND METHODS** We estimated the prevalence of infectious disease
48 serological markers (HIV, HBV, HCV and syphilis) in 1497 successive first-time blood
49 donors recruited during June and July 2014 at the regional blood transfusion centers of
50 Ouagadougou (CRTS/O). Prevalences of HEV IgG and IgM were determined thereafter in
51 a representative subset of these blood donors.

52

53 **RESULTS** The prevalence values obtained were 0.73% [95% CI, 0.3-1.17%] for HIV;
54 7.75% [95% CI, 6.4-9.1%] for HBsAg; 3.1% [95% CI, 2.2-3.9%] for HCV and 1% [95% CI,
55 0.5-1.51%] for syphilis. The prevalences of IgG and IgM against HEV were 39% [95% CI,
56 36.5-41,5%] and 1.9% [95% CI, 1.2-2.6%], respectively. These findings for
57 asymptomatic individuals indicate that HEV is circulating at low, but significant levels.

58

59 **CONCLUSION** The lower estimated prevalence of blood born viral infections in first-
60 time donors in 2015 compared to 2009 suggested that the viral infection risk
61 management strategy used is effective. However, our results indicate that the recently
62 recognized HEV risk in blood transfusion might arise in wests Africa as it is currently
63 described in European countries.

64

65 **Keywords:** (3 to 5): **HIV, HBV, HCV, syphilis, HEV, blood transfusion.**

66 **INTRODUCTION**

67 The safety of blood product use has continually improved in recent years. However,
68 blood transfusion remains a challenge, given the high prevalence of blood-borne
69 pathogens and the difficulties involved in ensuring a safe blood supply.^{1,2} Indeed, blood
70 safety remains a public health problem in most developing countries, despite the high
71 sensitivity of the screening tests used. The irregular nature of many blood donations in
72 West Africa is an additional problem.³ Irregular donors are less aware of the importance
73 of blood donation and may be engaged in more risky behavior, that result in a higher
74 level of contamination with blood-transmissible diseases. Thus this may increase the
75 risk of recruiting donors with primary infections or undergoing seroconversion. ⁴

76
77 The chronic shortage of blood, particularly during the winter (malaria) and the school
78 holidays (many donations are collected at schools and academic institutions), and the
79 lack of remuneration of volunteer donors or the so called “traditional
80 family/replacement donors” make it difficult to establish a rigorous system for retaining
81 donors and ensuring donor loyalty.⁴ The residual risk is difficult to estimate, but relates
82 to both the collection of infectious blood from donors during the immunologically silent
83 period of infection and the emergence of infectious agents that can be transmitted by
84 transfusion and for which tests are not currently carried out.

85
86 HEV is emerging as a potential threat to blood safety, with reports of high anti-HEV IgG
87 prevalence in blood donors as determined using Wantai ELISA from European countries
88 (13.5%, 16.6%, 19.6% and 20.6 % in England, France, Catalonia [Spain] and Denmark
89 respectively) Middle East (14.3% in Iran [using Dia.Pro ELISA]) but also in Americas and
90 up to 22.7% in blood donors in China ⁵⁻⁹. Thus several cases of transmission by
91 transfusion or transplantation were reported around the world.^{10,11} The Intercept
92 methods used to decrease pathogen levels in blood products in developed countries
93 combine treatment with a synthetic psoralen, amotosalen-HCl, with exposure to
94 ultraviolet A (UVA) light, to block the replication of DNA and RNA. However several
95 cases of HEV transmission have been observed after the transfusion of Intercept-treated
96 plasma.¹² Moreover, the use of IgG and IgM tests to screen donated blood would not
97 prevent the transfusion of contaminated blood from asymptomatic seronegative and
98 RNA-positive donors.¹²⁻¹⁵ Finally recent studies in France and England showed a risk of

99 positive HEV blood in blood donation ranging from 1/2218 to 1/3800.¹⁶⁻¹⁸ This drive to
100 the conclusion that systematic screening of donated blood for HEV RNA should be
101 implemented in countries in which hepatitis E is endemic.^{18,19}

102
103 In Burkina Faso the prevalence of IgG antibodies against HEV has been reported for
104 some
105 populations.²⁰ We investigated issues relating to blood safety and the risk of HEV
106 transmission through transfusion in Burkina Faso, by evaluating the levels of IgG and
107 IgM antibodies against HEV in a population of blood donors of known serologic status
108 for other diseases (HCV, HBV, HIV and syphilis), in Ouagadougou.

109

110 **MATERIALS AND METHODS**

111 We carried out a cross-sectional study of blood donors at CRTS/O in June and July 2014.
112 We recruited 1497 blood donors by consecutive sampling at the CRTS/O. Individuals
113 17-65 years old and weighing more than 50 kg were included for blood donation. All
114 donors were in good health and answered questions designed to exclude donors that
115 had previously received blood transfusions, those who had had jaundice or signs of
116 hepatitis, individuals who had had multiple transfusions, pregnant women and people
117 who had engaged in high-risk sexual behavior in the two weeks preceding the intended
118 donation. The sociodemographic characteristics of the selected donors were recorded in
119 a CRTS/O database (EDGE BLOOD, Inlog ®, Limonest, France), in which donors were
120 classified as “first-time” donors or “regular” donors. Venous blood was collected in
121 blood banking bags via a dry tube in which blood clotted to allow serum separation, in
122 accordance with standard procedures. Serum samples from blood donors were tested
123 with the following kits: ELISA HIV Ag/Ab Combo Architect system (ref 4J27-27,
124 ABBOTT, Wiesbaden Germany); Hepatitis B (HBsAg) surface antigen Qualitative II (ref
125 2G22-25, ABBOTT); anti-HCV Architech System (REF : 6C37-25, ABBOTT). This highly
126 sensitive and specific combination of fourth-generation ELISA tests was used to
127 compensate in part for the absence of molecular tests. In routine practice, before the
128 donated blood is used, all plasma samples testing positive for HIV, HBsAg or HCV
129 undergo a second ELISA test (Bio - Rad ®, Marnes la Coquette, France) for confirmation.
130 The Rapid Plasma Reagin test (RPR, BioMérieux SA, Marcy-l’Etoile, France) was used to
131 test for *Treponema pallidum* (syphilis). Patient with positive results for HIV, HBV, HCV

132 and syphilis were informed of their status following the CRT0/S procedure and positive
133 blood bags were destroyed.

134
135 The analysis for this study focusing on the existence of HEV seropositives within the
136 very same donors involved the collection of minimal amounts of information, limited to
137 age and sex. HEV antibody levels were evaluated from anonymized residual serum
138 obtained from the dry tubes. Consequently, the HEV serology results were not shared
139 with the donors. This approach was approved by the ethics committee of the National
140 Blood Transfusion Centre.

141 Anti-HEV IgG and IgM detection was based on enzyme-linked immunosorbent assay
142 (ELISA) tests. During a preliminary study performed in 2011 we found a good
143 correlation between IgG ELISA from Dia.Pro (Diagnostic Bioprobe Srl, Sesto San
144 Giovanni, Italy) and

145 Wantai (Beijing, China) in the Burkinabe population, that we confirmed here and thus
146 we used the former.²⁰ This assay uses HEV-specific synthetic antigens derived from
147 open reading frame (ORF) 2 and ORF3 of all 4 HEV subtypes. For the detection of IgM
148 anti-HEV, there is no gold standard but the Wantai test is given to have a sensitivity of
149 97.1% (CI 95% 94.6-98.5%) and a specificity ranging from 95.3% with sera from patient
150 with acute hepatitis A to 100% in healthy donor. The anti-HEV IgM positive samples
151 were tested twice for accuracy.

152 All tests were performed according to the provider and included positive and negative
153 control in each plate.

154
155 **Statistical analyses.** Serologic data for the blood donors were processed, analyzed and
156 plotted with Excel 2013 (Microsoft, USA) or Prism 6.0e (GraphPad Software, La Jolla,
157 California, USA) for Chi-square and chi-square tendencies as well as for survival curves.

158

159 **RESULTS**

160
161 **Characteristics of blood donors**

162
163 We included 1497 non-remunerated volunteer blood donors in this study (Figure 1).
164 This population of blood donors was young, with a mean age of 29.9 years, and most

165 donors (1203 or 80.4%) were aged between 20 and 36 years (median age 27 years
166 [10%-90% percentile,
167 21-44 years old]). There was a strong predominance of male donors (1099 or 73.4%
168 [95% CI, 71.2-75.6]), as previously reported by Nagalo *et al.* in 2009 for blood donors
169 from Ouagadougou (74.9% [CI95, 74.2-75.5]). Only 398 (26.6%) blood donors were
170 female.³ The female donors tended to be younger than the male blood donors, but this
171 difference was not significant (Table 1; Figure 1). Below the age of 21 years, the
172 proportions of male and female blood donors were similar. Above this age, most of the
173 donors were male. As reported by Nagalo *et al.*, the risk of multiple blood donations
174 from a single donor over the sampling period was very low, as no more than 10% of
175 donors give their blood more than once annually, with a maximum frequency of twice
176 per year. ³

177
178 **Serologic results revealed only a few cases of multiple infection with blood**
179 **transmissible agents**

180
181 In total, of the 1497 blood donors tested, 46 (3.07%) were positive for anti-HCV
182 antibodies, 116 (7.75%) were positive for HBsAg, 11 (0.73%) were positive for anti-HIV
183 antibodies, and 15 (1%) were positive for anti-*T. pallidum* antibodies (Table 2). The age
184 and sex distribution of the positive cases are shown in Figure 2. There were no
185 significant differences between the sexes, but the female HIV-positive cases tended to be
186 younger than the male HIV-positive cases, and only one female donor tested positive for
187 *T. pallidum* (Figure 2B; 2D). None of the infected donors previously had a blood
188 transfusion. For the “classical” infectious risks (i.e. HCV, HIV, HBV and syphilis), only 11
189 donors tested positive for two infections: three women (1 HBV+HIV; 1 HBV+syphilis; 1
190 HBV+HCV) and eight men (7 HCV+HBV, 1 HCV+HIV). HBsAg and anti-HCV antibodies
191 (figure 2A, B) were homogeneously distributed between donors of different ages.

192
193 **Serologic results revealed a very high level of HEV seroprevalence and ongoing**
194 **transmission**

195
196 The overall prevalence of anti-HEV IgG antibodies was 39 % in the 1485 tested sera
197 (Figure 1, Table 2) and the prevalence of IgG antibodies against HEV increased with age,

198 as shown in Figure 3C, 3D. When patients were grouped together in age classes,
199 prevalence was found to increase significantly with age (Chi-squared test for trend
200 $p < 0.001$), in both male and female donors. Survival analysis indicated a median age at
201 seroconversion of 37 years for women and 38 years for men; this difference was not
202 significant.

203
204 Anti-HEV IgM, a marker of recent infection, was found in 2 women and 11 men sera as a
205 global prevalence of 1.9 % [95% CI, 1.2 – 2.6%] in our blood donor population (Table 2,
206 Figure 3). Two men were already HCV+; and one HBV+. Thus, combining in total 168
207 donors, 11.3% [95% CI, 9.7-12.9] of the donors had been infected with at least one
208 pathogen and their blood donations were therefore at risk of infecting the patients
209 receiving them.

210

211 **DISCUSSION**

212 In developing countries with limited resources, the availability and safety of blood
213 products for transfusion remain a matter of concern, particularly given the high
214 prevalence of markers of HIV/AIDS and other infections, such as hepatitis B, hepatitis C
215 and syphilis, in these populations.²

216

217 We screened 1497 blood samples from blood donors in Ouagadougou over a short
218 period of time (<3 months). As a previous study from Nagalo showed less than 12% of
219 blood donors in Ouagadougou are repeat donors and that most of these repeat donors
220 give blood only twice per year.³ The probability of analyzing more than one sample from
221 the same donor was therefore very low. Thus the percentage that we computed from the
222 blood samples, were assumed to be the percentage of positive individuals in the donor
223 population. The seroprevalence of HCV, HBV Hbs, HIV and syphilis seroprevalences in
224 first-time donors was 3.07%, 7.75%, 0.73%, and 1%, respectively. These
225 seroprevalences were significantly lower than that reported for blood donors in
226 Ouagadougou (Table 3), Burkina Faso in 2012 with odds ratios of 0.56 [95% CI, 0.56-
227 0.61] for HCV; 0.63 [95% CI, 0.62-0.63] for HBV-HBsAg; 0.39 [95% CI, 0.33-0.47] for
228 HIV; and 0.46 [95% CI, 0.40-0.53] for syphilis, respectively (all p values below 0.001).

229

230 These results demonstrate the efficacy of the viral infection risk management strategy
231 applied in the transfusion service. This strategy involves screening for viral markers and
232 the selection of appropriate donors on the basis of medical interviews and information
233 provided before blood donation. However, the number of at risk blood bag is high,
234 particularly for HBVHBsAg, with 116 positive donors. Assuming that sensitivity of HBV-
235 HBsAG test used was 99.09 and specificity 99.89% and a prevalence up to 7.75%, the
236 PNV (predictive negative value) indicated that at least one Ag-HBS-seronegative was in
237 fact positive during the study period. There is, therefore, still a need to strengthen
238 preventive (population-based or neonatal anti-HBV vaccination) and screening
239 strategies, to increase transfusion safety.

240
241 The donors studied here were young, with 62.1% aged 20-30 years, yet they reflect the
242 age distribution of the population of Burkina Faso. More than 17.3% [95% CI, 13.6-21.0]
243 of donors in this age group were infected with at least one pathogen. These young
244 donors (20-30 years) are more sexually active than other groups and are, therefore,
245 potentially more exposed to the risk of sexually transmitted infections. Despite
246 campaigns to raise awareness about sexually transmitted infections among young
247 people, many are from poor socioeconomic backgrounds and continue to adopt high-
248 risk behavior, potentially modifying the risk profile of first-time donors.²¹

249
250 HEV has been recognized as a transfusion-transmissible infectious agent since 2004,
251 and recent epidemiological data suggest that it may pose a threat to the safety of the
252 blood supply.^{7,12,22} We found evidence of past HEV infection in 39% (95% CI [36.5–
253 41.5%]) of blood donors in 2014. This prevalence is considerably higher than the 19.1%
254 [95% CI, 13.3-24.9%] we previously reported for blood donors in Ouagadougou in
255 2011.²⁰ As stated in the introduction, prevalence of anti-HEV IgG vary widely between
256 countries but most of them are close to 14-22% in blood donors regardless of the
257 method used to assess this prevalence. Today the highest IgG prevalence values were
258 provided by the Wantai test but in our hand it is not true compared to the Dia.Pro.²⁰ Up
259 to now the prevalence in West Africa is largely unknown as evaluations were done on
260 small number of samples and large variation (up to a ratio of 2) exist depending of the
261 tested area as it was reported in France (from 10 to 52% in south of France), Austria (8
262 to 20% from west to east) or in Gabon (rural versus urban area).^{16,24,25} In Burkina Faso,

263 Poor sanitation and the existence of HEV reservoirs in animal species used as a source of
264 meat, such as pigs and rabbits, has resulted in a high prevalence of anti- HEV antibodies
265 amongst the general population. The prevalence of IgM antibodies against HEV (1.89%)
266 indicates an incidence of infection and a residual risk for transfusion, probably
267 associated with silent infection. The prevalence we observed is in line with most of the
268 data from countries with endemic HEV with mainly silent infection.²⁴⁻²⁶ Despite that a
269 Ghanaian study showed that the Wantai IgM kit is probably not the most sensitive test
270 available today.²⁶ Limitation of our study came from the absence of HEV RNA screening
271 to assess the presence of HEV particles in blood donation. However, our findings are
272 supported by the fact that 1) IgM sign of recent infection were detected 2) silent
273 infections are common in HEV and specifically if genotype 3 are involved 3) other
274 studies with IgG and IgM prevalence lower than that we found are associated with
275 significant number of HEV RNA positive samples: there is a clear positive relationship
276 between the number of IgM positive sample and the number of HEV RNA positive
277 samples even if the double positive are very rare.^{7,8,16}

278
279 In conclusion, viral infections remain a large threat to blood safety in Burkina Faso. The
280 strict selection and retention of non-remunerated, low-risk volunteer blood donors
281 seems to be effective at reducing known viral risks, thereby improving blood safety.
282 However, the residual high levels of infection markers call for both a more sensitive test
283 for HEV and the introduction of inactivation techniques for secondary products.

284
285 Finally, further assessments of the transfusion risk associated with HEV IgM+ donors
286 will require an evaluation of HEV RNA and post-transfusion surveillance occurrence of
287 hepatitis disease. Assessment of the cost/benefit ratio for the addition of routine HEV
288 RNA screening to the panel of tests on donated blood, is needed to guarantee
289 transfusion safety for the recipient.

290
291 **ACKNOWLEDGMENTS**

292 We thank the nurses and staff of the National Blood Transfusion Center.

293
294 **REFERENCES**

- 295 1. Allain JP, Anokwa M, Casbard A, et al. Sociology and behaviour of West African blood
296 donors: the impact of religion on human immunodeficiency virus infection. *Vox*
297 *Sanguinis* 2004, 87(4): 233-240.
298
- 299 2. Rerambiah LK, Rerambiah LE, Bengone C, et al. The risk of transfusion-transmitted
300 viral infections at the Gabonese National Blood Transfusion Centre. *Blood Transfusion =*
301 *Trasfusione del sangue* 2014, 12(3): 330-333.
302
- 303 3. Nagalo BM, Bisseye C, Sanou M, et al. Seroprevalence and incidence of
304 transfusion-transmitted infectious diseases among blood donors from regional blood
305 transfusion centres in Burkina Faso, West Africa. *Trop Med Int Health* 2012, 17(2): 247-
306 253.
- 307 4. Allain JP: Moving on from voluntary non-remunerated donors: who is the best blood
308 donor? *Br J Haematol* 2011, 154(6): 763-769.
309
- 310 5. Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, et al. Hepatitis E virus seroprevalence
311 among blood donors in southwest Switzerland. *PLoS One* 2011, 6(6): e21150.
312
- 313 6. Ehteram H, Ramezani A, Eslamifar A, et al. Seroprevalence of hepatitis E virus
314 infection among volunteer blood donors in central province of Iran in 2012. *Iran J*
315 *Microbiol* 2013, 5(2): 172-176.
316
- 317 7. Sauleda S, Ong E, Bes M, Janssen A, Cory R, Babizki M, Shin T, Lindquist A, Hoang A,
318 Vang L, Piron M, Casamitjana N, Koppelman M, Danzig L & Linnen JM (2015).
319 Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) and detection of HEV RNA with a
320 transcription-mediated amplification assay in blood donors from Catalonia (Spain).
321 *Transfusion* 2015, 55: 972-979.
322
- 323 8. Holm DK, Moessner BK, Engle RE, Zaaijer HL, Georgsen J, Purcell RH & Christensen PB.
324 Declining prevalence of hepatitis E antibodies among Danish blood donors. *Transfusion*
325 2015, DOI: 10.1111/trf.13028.
326

- 327 9. Cheng XF, Wen YF, Zhu M, et al. Serological and molecular study of hepatitis E virus
328 among illegal blood donors. *World Journal of Gastroenterology : World J Gastroenterol*
329 2012, 18(9): 986-990.
330
- 331 10. Ma L, Sun P, Lin F, Wang H, Rong X, Dai Y, Liu J, Qian L, Fang M, Su N, Xiao W, Ye S &
332 Li C. Prevalence of hepatitis E virus in Chinese blood donors. *J Int Med Res* 2015, 43 :
333 257–262.
334
- 335 11. Gajjar MD, Bhatnagar NM, Sonani RV, et al. Hepatitis E seroprevalence among blood
336 donors: A pilot study from Western India. *Asian Journal of Transfusion Science* 2014,
337 8(1): 29-31.
338
- 339 12. Hauser L, Roque-Afonso AM, Beylouné A, et al. Hepatitis E transmission by
340 transfusion of Intercept blood system-treated plasma. *Blood* 2014, 123 : 796–797.
341
- 342 13. Matsui T, Kang J-H, Matsubayashi K, Yamazaki H, Nagai K, Sakata H, Tsuji K &
343 Maguchi H. Rare case of transfusion-transmitted hepatitis E from the blood of a donor
344 infected with the hepatitis E virus genotype 3 indigenous to Japan: Viral dynamics from
345 onset to recovery. *Hepatol Res* 2015, 45 : 698–704.
346
- 347 14. Vollmer T, Diekmann J, Johne R, et al. Novel approach for detection of hepatitis E
348 virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol* 2012, 50(8): 2708-13.
349
- 350 15. Vollmer T, Knabbe C & Dreier J. Comparison of real-time PCR and antigen assays for
351 detection of hepatitis E virus in blood donors. *J Clin Microbiol* 2014, 52(6) : 2150– 2156.
352
- 353 16. Gallian P, Lhomme S, Piquet Y, Sauné K, Abravanel F, Assal A, Tiberghien P & Izopet J
354 (2014). Hepatitis E virus infections in blood donors, France. *Emerg Infect Dis* 2014, 20 :
355 1914–1917.
- 356 17. Pillonel J, Gallian P, Sommen C, Couturier E, Piquet Y, Djoudi R, Laperche S Comité de
357 Pilotage de la Surveillance Épidémiologique des Donneurs de Sang. [Assessment of a
358 transfusion emergent risk: the case of HEV]. *Transfus Clin Biol* 2014, 21 : 162– 166.
359

- 360 18. Hewitt PE, Ijaz S, Brailsford SR, Brett R, Dicks S, Haywood B, Kennedy ITR, Kitchen A,
361 Patel P, Poh J, Russell K, Tettmar KI, Tossell J, Ushiro-Lumb I & Tedder RS. Hepatitis E
362 virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England.
363 Lancet 2014, 384 : 1766–1773.
364
- 365 19. Laperche S, Izopet J & Lefrère J-J. Safety measures to prevent hepatitis E virus
366 transmission by blood transfusion. Transfusion 2014, 54 : 2134–2135.
367
- 368 20. Feray C, Pawlotsky JM, Roque-Afonso AM, et al. Should we screen blood products for
369 hepatitis E virus RNA? Lancet 2014, 383: 218.
370
- 371 21. Traore KA, Rouamba H, Nebie Y, et al. Seroprevalence of fecal-oral transmitted
372 hepatitis A and E virus antibodies in Burkina Faso. PLoS One 2012, 7(10): e48125.
373
- 374 22. Mapako T, Mvere DA, Chitiyo ME, et al. Human immunodeficiency virus prevalence,
375 incidence, and residual transmission risk in first-time and repeat blood donations in
376 Zimbabwe: implications on blood safety. Transfusion 2013, 53(10 Pt 2): 2413-2421.
377
- 378 23. Dreier J, Juhl D: Autochthonous hepatitis E virus infections: a new
379 transfusion-associated risk? Transfusion Medicine and Hemotherapy: offizielles Organ
380 der
381 Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie 2014, 41(1):
382 29-39.
383
- 384 24. Fischer C, Hofmann M, Danzer M, Hofer K, Kaar J & Gabriel C. Seroprevalence and
385 Incidence of hepatitis E in blood donors in Upper Austria. PLoS ONE 2015, 10:
386 e0119576.
387
- 388 25. Caron M & Kazanji M. Hepatitis E virus is highly prevalent among pregnant women
389 in Gabon, central Africa, with different patterns between rural and urban areas. Virol J
390 2008, 5: 158.

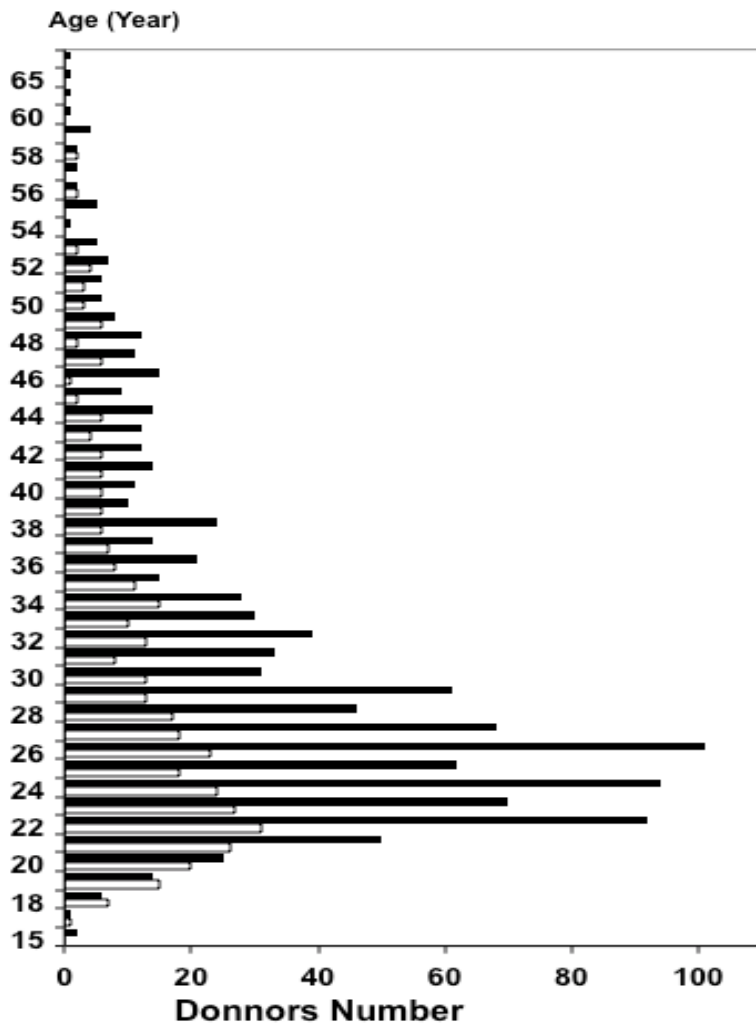
391 26. Meldal BHM, Sarkodie F, Owusu-Ofori S & Allain JP (2013). Hepatitis E virus
392 infection in Ghanaian blood donors - the importance of immunoassay selection and
393 confirmation. Vox Sang 2013, 104: 30-36.

394

395

396 **FIGURE LEGENDS:**

397



417

418 **Figure 1:** Age and sex distributions of the blood donors. Women are represented by
419 white bars and men by black bars.

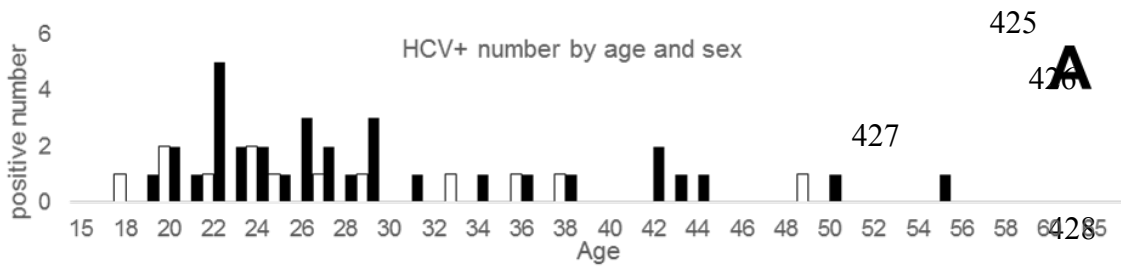
420

421

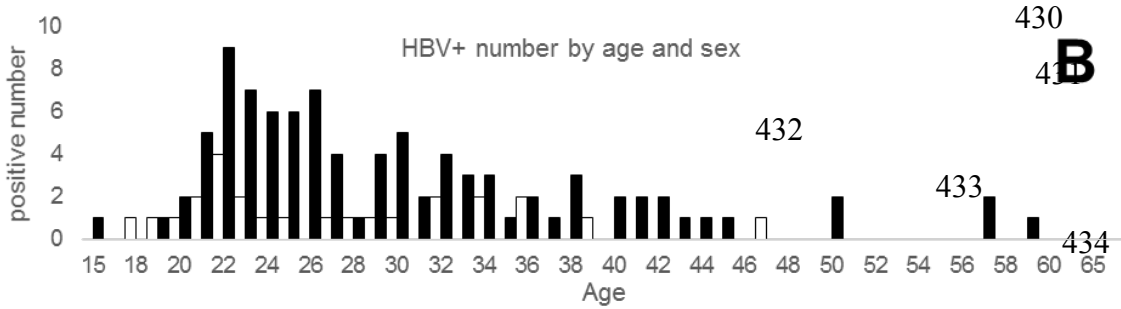
422

423

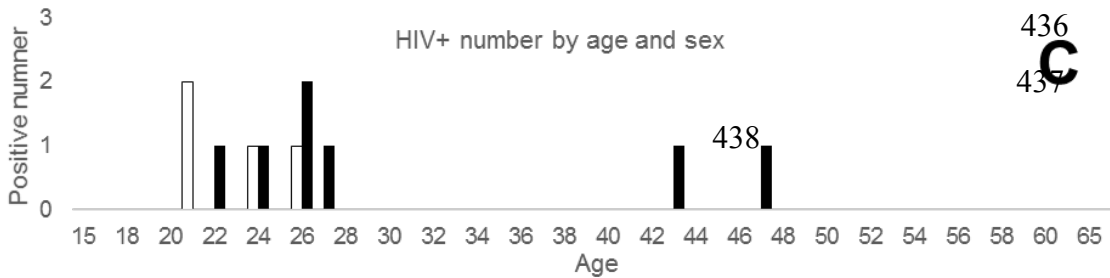
424



429

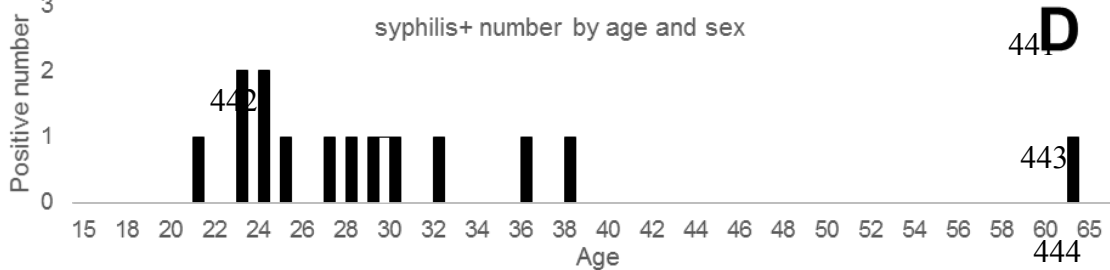


435



439

440



445

446 **Figure 2:** Distribution of blood donors positive for blood-transmissible agents. A- HIV
 447 (IgG and antigen); B - HBV antigen HBs; C - HCV antibodies; D – nonspecific syphilis Ab.
 448 Women are represented by white bars and men by black bars.

449

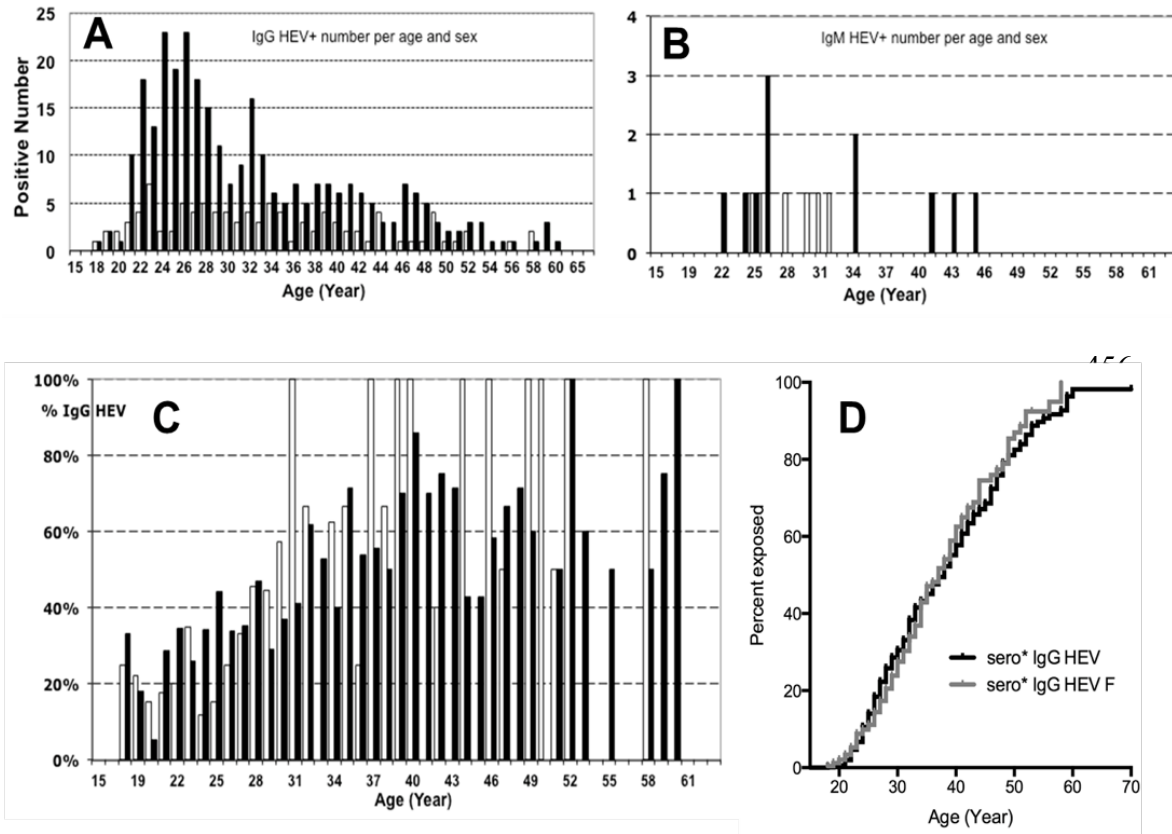
450

451

452

453

454



458 **Figure 3:** Distribution of blood donors positive for anti HEV antibodies. A: Anti-HEV IgG;
 459 B: Number of patients with anti-HEV IgM antibodies, by age; C: Percentage of patients
 460 positive for anti-HEV antibodies, by age; D: Survival curve for the lifetime acquisition of
 461 HEV IgG. Women are represented by white bars (or gray lines), and men are
 462 represented by black bars (or black lines).

463

464 **TABLES:**

Age (years)	Female	Male	All
Mean age	29.62	29.86	29.79
Median age	27	27	27
Maximum	58	70	70
Minimum	17	15	15
Standard deviation	9.07	8.73	8.82
10% percentile	20	22	21
90% percentile	43.1	44	44

465

466 **Table 1:** Descriptive statistics for the blood donor population

467

	Number tested	Number positive	Prevalence	95% CI	
HCV	1497	46	3.07%	2.20%	3.95%
HBV	1497	116	7.75%	6.39%	9.10%
HIV	1497	11	0.73%	0.30%	1.17%
Syphilis	1497	15	1.00%	0.50%	1.51%
IgG HEV	1485	579	38.99%	36.51%	41.47%
IgM HEV	1485	28	1.89%	1.19%	2.58%

469

470 **Table 2:** Prevalence of infectious disease markers among first-time donors

471

Test	Number tested	Number positive	Prevalence	95% CI	
HCV	17294	886	5.12%	4.79%	5.45%
HBV	17294	2028	11.73%	11.25%	12.21%
HIV	17294	321	1.86%	1.65%	2.06%
Syphilis	17294	15	2.15%	1.93%	2.36%

472

473 **Table 3:** Prevalence of infectious disease markers among first-time donors in 2009 in
474 Ouagadougou. Data derived from Nagalo BM *et al.*

475

Age group	IgG ⁺	95% CI for women		IgG ⁺	95% CI for men	
	% of women tested	lower limit	upper limit	% of men tested	lower limit	upper limit
15-19	17.4	ns	ns	17.4	ns	ns
20-29	29.6	23.2%	36.0%	29.8	26.4%	33.2%
30-39	54.6	44.7%	64.5%	51.3	42.9%	55.5%
40-49	68.9	55.4%	82.4%	64.6	52.3%	70.1%
50-70	62.5	38.8%	86.2.9%	69.2	44.8%	75.2%

476

477 **Table 4:** Increase in the prevalence of anti-HEV IgG with age in male and female blood

478

DISCUSSION

I. Prévalence des virus hépatiques à transmission féco-orale (VHA et VHE) dans la population générale.

Dans la première partie de nos travaux, nous nous sommes intéressés à la circulation effective de ces virus hépatiques à transmission féco-orale dans la population burkinabè. Au Burkina Faso, l'hépatite A reste une infection fréquente, même si peu d'études de séroprévalence ont été jusque-là conduites et que le diagnostic est souvent fait sans arguments virologiques spécifiques, devant une maladie ictérique avec un antigène HBs négatif.

En 2012, lors de l'étude effectuée au Burkina avec le test SD-Bioline, la séroprévalence globale des IgG+IgM anti-VHA était de 14,3% [IC95% 7,1 – 21,5 %] chez les donneurs de sang et 23% [IC95% 14 – 31 %] chez les femmes enceintes venant en consultation prénatale. Nous avons fait l'hypothèse que cette différence de prévalence entre les deux groupes étudiés (rapport de cote 2,3) pouvait être influencée par le contact régulier des femmes avec des enfants de moins de trois ans qui constituent un réservoir important du virus (Smith *et al.*, 1997 ; Victor *et al.*, 2006). En effet l'amplification de la transmission du VHA en présence d'enfants, est probablement dû à l'hygiène précaire des enfants par rapport aux adultes, à la particularité de l'excrétion fécale du virus, qui dure plus longtemps chez l'enfant, et à la fréquence des formes asymptomatiques dans cette catégorie (Armstrong *et al.*, 2002).

Ces prévalences (IgG anti-VHA) relativement faibles au Burkina, s'expliquent mal; par le faible statut socioéconomique du pays et les mauvaises conditions d'hygiènes d'une grande partie de la population. En outre, des études conduites dans d'autres pays émergents ont rapportés une diminution de la prévalence du VHA suite à l'amélioration des conditions de vie des populations même minime (Dubois *et al.*, 1992 ; Denis *et al.*, 2003 ; Barzaga, 2000 ; Sohn *et al.*, 2000 ; Fix *et al.*, 2002 ; Sacy *et al.*, 2005).

La séropositivité du VHA en fonction de l'âge était élevée (50 %) dans la tranche d'âge 46-55 ans de la population générale. Le taux de prévalence entre les différents groupes d'âge suggère une exposition au VHA liée à l'âge en accord avec une amélioration des conditions sanitaires dont les nouvelles générations ont bénéficiés. La séroprévalence que nous avons observés dans le groupe d'âge 26-35 ans (18,7 %) était en accord avec les conclusions de Dubois *et al.*, (1992), Denis *et al.* (2003) et

Poda (2010) et confirme l'idée selon laquelle seule les jeunes-adultes sont les plus exposés à un mode alimentaire caractérisé par l'alimentation hors domicile. Or ce type d'alimentation (qualité hygiénique médiocre des aliments, intercontamination de ces produits), est reconnu comme étant un facteur de problème de santé (Barro, 2007).

Le taux d'incidence (IgM anti-VHA) chez les donneurs de sang (3,3%) similaire à celui des femmes enceintes (2%), et indépendant de la classe d'âge, a montré qu'il persiste un risque d'épidémies majeures si la vaccination n'est pas poursuivie.

C'est ce risque qui nous a conduits à reproduire l'évaluation de la séroprévalence IgG anti VHA sur un automate Architect (Abbot) en 2014 sur une série de sérum de donneur de sang pour lesquels la prévalence retrouvée était de 99%. Ces résultats ont été discutés plus bas.

L'étude de 2012 a montré, comme attendu, que la séroprévalence des IgG anti-VHE chez les donneurs de sang au Burkina Faso (19,1% IC95 [13 – 24 %]) était plus élevée que celle observée dans les pays développés : 2,6 % en Italie, 2,1 % en Allemagne et 1,2 % en Californie (Balayan *et al.*, 1997 ; Mateos *et al.*, 1999). Ainsi cette séroprévalence était similaire à celles observées en Tunisie (22 %), Burundi (14 %), Singapour (14,5%), Afrique du sud (15,3%) et dans le sud de la France (14,2%) (Ben *et al.*, 1998 ; Aubry *et al.*, 1997 ; Tucker *et al.*, 1996 ; Mansuy *et al.*, 2008).

La séroprévalence IgG anti-VHE dans notre groupe de femmes enceintes (11,6 %, IC95 [7,1 – 16,2 %]) était comparable à celles rapportées chez les femmes enceintes au Gabon (10-20%), Tunisie (12,1%) et en Turquie (12,6%) (Caron et Kazanji, 2008 ; Hannachi *et al.*, 2011 ; Cevrioglu *et al.*, 2004). De faibles prévalences ((1 à 5 %) ont été rapportées dans les zones à faible endémicité tels qu'en Europe du Nord ou aux Etats- Unis (Castera *et al.*, 2001 ; Stoszek *et al.*, 2006).

La plus forte prévalence IgG anti-VHE a été observée dans la tranche d'âge <25 ans qui est aussi la tranche d'âge la plus touchée par l'infection à VHE dans le monde entier (Nicand *et al.*, 2008 ; Taremi *et al.*, 2008 ; Adjei *et al.*, 2009). En effet, en région endémique, l'hépatite E est plus rare que l'hépatite A durant l'enfance, c'est une infection de l'adulte jeune, le pic d'incidence se produisant vers l'âge de 15 à 35 ans (Arankalle *et al.*, 1995 ; Dalton *et al.*, 2008).

Malgré l'absence d'épidémies décrites au Burkina Faso, une prévalence relativement élevée de l'infection à VHE est tout de même retrouvée aussi bien chez les femmes enceintes que chez les donneurs de sang. Des études récentes en France

indiquent que la séroprévalence élevée du VHE peut être associée aux habitudes alimentaires de la population, en particulier à la consommation de viande de porc (Van Cuyck *et al.*, 2005 ; Bouquet *et al.*, 2011 ; Mansuy *et al.*, 2008).

II. Situation des hépatites virales A et E en Afrique de l'Ouest

Dans les pays en développement (Afrique de l'Ouest), certaines garanties fondamentales en matière d'alimentation ne sont pas offertes aux populations : plus de 80% de la population a recourt à l'alimentation de rue dont la qualité microbiologique n'est pas souvent garantie (Barro *et al.*, 2008). En effet ces aliments sont exposés, préparés et vendus dans la rue, sans précaution autre que la proximité du site de consommation et leur qualité hygiénique est menacée à tout moment (Bryan, 1988 ; Barro, 2007). Ils deviennent ainsi une source de maladies à tropisme digestif telles que les hépatites enterotransmissibles (Bryan, 1988 ; Barro *et al.*, 2008).

II.1 Les hépatites virales A

En Afrique de l'Ouest, avec les mauvaises conditions de vie, l'insuffisance de systèmes de traitement de l'eau et le faible statut socio-économique qui exposent la population aux entéropathogènes (Jacobsen et Koopman, 2004 ; Barro *et al.*, 2008 ; Simpure *et al.*, 2009 ; Bonkougou *et al.*, 2010), L'hépatite A reste endémique avec un niveau de prévalence élevé mais avec une variabilité très importante (Tableau 3). Ainsi, l'augmentation de la séropositivité IgG anti-VHA selon l'âge montre une exposition continue au virus, qui était typique d'une situation endémique (Jacobsen, 2014, Traoré *et al.*, 2012). Dans certaine zone en revanche, c'est l'inverse qui est observé (Ivanov, 1990, Tableau 3). Toutefois, la croissance économique observée dans de nombreux pays africains au cours des deux dernières décennies, a entraîné non seulement l'amélioration des conditions de vie précaires des populations, mais également la baisse des taux de prévalence VHA dans certaines régions africaines.

Tableau 3. Prévalences du VHA en Afrique de l'Ouest (adapté de Jacobsen *et al.*, 2014)

Pays	Emplacement	Citation	Année d'étude	Données de séroprévalence		Taille de l'échantillon	Population étudiée
				Groupe d'âge	% IgG		
Burkina Faso	Ouagadougou	Traore, 2012	2010-2012	≤25	14,	49	Donneurs de sang des villes
				26-35	18,75	32	
				≥36	30	10	
				-----	23	100	
		Poda, 2010	2010	-----	32,8	125	Femmes enceinte des villes Femmes enceinte des villes
Nigeria	Osogbo, Osun	Sule, 2013	2010-2011	≤15	100	2	Patients externes (Non hospitalisés)
				16-25	100	30	
				26-45	98	47	
				≥46	100	12	
	Kaduna	Afegbua, 2013	2009	0-5	30	10	Elèves et adolescents
			6-10	8,6	128		
			11-15	4,6	218		
			16-20	10,6	47		
Côte d'Ivoire	Abidjan	Yessé, 2010	2002-2003	3-5	40	63	Patients externes urbains Enfants atteints de maladies bénignes
				6-10	94	124	
				11-15	94	83	
				16-18	84	37	
Sierra Leone	Freetown	Hodges, 1998	-----	6-12	97	66	Élèves des villes
Cameroun	Manyemen, Sud-Ouest]	Ndumbe, 1994	1991-1992	14-19	87	68	Femmes enceintes en milieu rural
				20-29	93	104	
				30-39	91	162	
				40-48	94	38	

Suite tableau 3

Pays	Emplacement	Citation	Année d'étude	Données de séroprévalence		Taille de l'échantillon	Population étudiée
				Groupe d'âge	% IgG		
Guinée	Région de Kindia	Ivanov, 1990	1987-1988	1-5	75	4	Population saine de la ville et la campagne
				6-10	82	39	
				11-15	74	50	
				16-20	84	82	
				21-30	74	242	
				31-40	57	189	
				41-50	61	101	
				51-60	41	27	
				61-70	19	16	
	≥71	18	17				
Cap Vert	Santa Cruz, Santiago	Sixl, 1987	1982-1983	-----	29	380	Patients avec fièvre aigüe
Liberia	Grand Cape Mount County	Prince, 1985	1978-1979	≤20	39	98	Mères d'enfants préscolaires en milieu rural
				21-30	36	248	
				31-40	24	82	
				≥41	33	12	
Sénégal	Casamance (aujourd'hui Ziguinchor) et les Régions du fleuve	Baylet, 1981	-----	0-4	66	56	Communautés rurales
				5-9	95	116	
				10-14	100	75	
				≥15	96	266	
Gambie	Fajara, Banjul division	Ajdukiwicz, 1979	-----	1-2	7	14	Patients ayant des affections hépatiques
				3	43	29	
				5	56	21	
				10	60	32	
				15	82	53	
				20	73	22	
				30	38	15	
				≥40	37	21	

Au Burkina Faso, nos derniers résultats de 2014, indiquant que 99 % d'un groupe de 100 donneurs de sang de la population générale urbaine de 18-55 ans ont déjà été en contact avec le VHA, sont en accord avec les rapports de prévalences observés dans d'autres pays Ouest africain, mais en contradiction avec nos données de 2012 (tableau 3).

La faible prévalence IgG anti-VHA rapportée en 2012 peut être associée à : 1) une sous-estimation de la prévalence au sein de la population générale, et cela à cause de la double sélection des donneurs de sang aptes, qui ont été inclus dans l'étude (entretien médical + choix de participation à l'enquête sérologique ; 2) une baisse de sensibilité du kit SD Bioline dans la détection des IgG et IgM anti-VHA (sensibilité, 97,6 % ; spécificité, 98,0 %), liée probablement aux conditions de conservation du kit (condition de stockage du fabricant : 24 mois à 1-30 °C, non respectée).

Des études complémentaires dans les autres régions du Burkina associé à un relevé des conditions climatiques ou sanitaire au niveau des populations étudiées sont indispensables. Ainsi lors d'un épisode de mousson en 2013, toute la ville de Ouagadougou a été inondée pendant près de deux semaines. Cette étude fine est d'autant plus importante pour motiver l'indication vaccinale chez les enfants, les personnes âgées et les patients à risque. En particulier pour établir un protocole de primovaccination plus adapté aux personnes vivant avec le VIH (Ajanaa *et al.*, 2009) et permettre une transition rapide vers de faibles taux de prévalences (Jacobsen, 2014).

II.2 Les hépatites virales E

L'épidémiologie de l'hépatite E reste mal connue en Afrique de l'Ouest. Cependant de forts taux de prévalences (11-43%) (tableau 4), ont été rapportés au sein de la population saine ouest africaine, et ils peuvent s'expliquer par : 1) l'existence d'un cycle d'infection chez l'homme due aux mauvaises conditions d'accès à l'eau liées aux conditions sanitaires comme cela a été montré pour le VHA et dans d'autres pays aux sud du Sahel (Nannyonga *et al.*, 2012); 2) l'existence de réservoirs animaux dans les sources d'alimentation carnés tel que le porc ou le lapin qui sont décrit comme des facteurs de fortes prévalences (Pavio *et al.*, 2010; Wenzel *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2013).

Tableau 4. Prévalences du VHE en Afrique de l'Ouest (adapté de Jong-Hoon *et al.*, 2014)

Pays	Emplacement	Citation	% IgG anti-HEV	Echantillons démographiques	Taille de l'échantillon	Année d'échantillonnage
Burkina Faso	Ouagadougou	Traore, 2012	19,1	Donneurs de sang	178	2010-2012
			11,6	Femmes enceintes	189	
Cameroun	Région Nord-Ouest du Pays	Feldt, 2013	14,2	Adultes infectés par le VIH	289	2009-2010
			2	Enfants infectés par le VIH	100	
Ghana	Accra	Adjei, 2009	28,7	Femmes enceintes	157	2008
		Meldal, 2012	4,6	Donneurs de sang	239	2012
Nigeria	Ibadan	Ola, 2012	43	Agents des services de santé	88	2008-2009
			94	Control des adultes sains	44	
Côte d'Ivoire	Abidjan	Rioche, 1997	27	Patients hospitalisés non-A, non-B et non-C	111	-----

III. Potentiel Zoonotique du VHE en Afrique de l'Ouest

Le VHE maintenant reconnu comme un agent zoonotique, est présent chez plusieurs espèces animales notamment le porc qui sert de réservoir pour les infections humaines (Tableau 5). En outre les personnels d'abattoirs, ou en contacts réguliers avec ses animaux réservoirs sont connus pour être exposés à une infection d'hépatite E (Pavio *et al.*, 2010 ; Bouquet *et al.*, 2011 ; Temmam *et al.*, 2013).

Au Burkina Faso, malgré la forte consommation de viande de porc, très peu de données existent 1) sur l'épidémiologie de l'infection VHE dans la population humaine, 2) le statut VHE des porcs abattus. De plus, l'ignorance de la population quant aux causes de cette infection d'origine alimentaire, est un facteur de risque qui ne peut pas ignorer.

Dans le deuxième volet de nos travaux de thèse, les objectifs étaient de vérifier le rôle d'une source zoonotique des infections à VHE, via l'évaluation du VHE (par sérologie et typage moléculaire après PCR) dans le réservoir potentiel que sont les porcs et la population à risque, exposée à ce réservoir (bouchers et éleveurs).

La prévalence des donneurs de sang exposés au VHE en 2012 était de 19,1 % [95 % CI, 13,3-24,9 %], mais avait atteint 47,78% [IC à 95%, de 37,5-58,1%] en 2013, bien que nous ayons utilisé les mêmes fournisseurs et les même référence de kit ELISA commerciaux. Cette augmentation n'est pas entièrement comprise, toutefois, elle pourrait être liée au faible statut socioéconomique du pays, à l'absence de réseaux d'assainissement des eaux auxquelles s'ajoutent la migration saisonnière de la population et enfin à de nouvelles sources de contamination liées aux habitudes alimentaires de la population.

En revanche la prévalence globale du VHE chez les bouchers de Ouagadougou a été estimée à 76% [IC95, 67,6-84,4%]. En accord avec d'autres études similaires menées dans le monde, nos résultats ont révélés une forte exposition au VHE des personnes en contact direct avec le porc (vétérinaires, bouchers et éleveurs) (Bouwknegt *et al.*, 2008; Krumbholz *et al.*, 2012; Adjei *et al.*, 2009). L'analyse statistique a révélé que les bouchers avaient un facteur de risque 3 fois plus élevé par rapport à la population générale (rapport de cote = 3,46 [IC 95% 2,85 à 4,21] p <0,001). Ces résultats suggèrent que les transmissions zoonotiques VHE se produisent à travers des contacts fréquents avec les selles, les organes ou le sang d'animaux infectés.

Comme prévu, la prévalence des IgG anti-VHE augmente avec l'âge des bouchers (55% dans la tranche d'âge < 25 ans, n = 40) et s'explique par un facteur d'exposition à lier à l'activité professionnelle (Temman *et al.*, 2013).

Les IgM anti-VHE qui signent les infections récentes ont été estimés à 3,19% [IC 95%, 0,95- 2,95%] dans la population générale et 1% [IC 95%, 1,70-4,68%] chez les bouchers. Malgré l'absence d'épidémies, ces résultats montrent une incidence élevée, illustrée par l'augmentation de la prévalence des IgG anti-VHE entre 2011-2012 et 2013, et probablement associée à une transmission silencieuse du virus.

Dans cette étude, un taux de séroprévalence élevé (80% IC95 [72-87%]) a été observé chez les porcs abattus. Ces résultats montrent la présence et la circulation active du VHE chez les porcs domestiques au Burkina Faso comme en témoigne l'échantillon positif de foie pour l'ARN VHE qui soutient fermement le risque de zoonose (Temman *et al.*, 2013). Chez les bouchers, l'ARN VHE a été estimé à 1 %, cependant nous n'avons pas réussi à isoler la souche pour insuffisance de matériels dans les sérums humains.

La souche VHE identifiée au Burkina a été regroupée avec deux souches africaines de géotypes 3 par analyse BLAST (blast.ncbi.nlm.gov/Blast.cgi). Une similitude > 98% a été trouvée entre les souches VHE du Burkina, de Yaoundé et de Madagascar. Cette forte similitude nucléotidique n'était pas retrouvée entre les souches porcines VHE de géotype 3, identifiées dans la même région Ouest africaine (Burkina et Nigeria) (Owolodun *et al.*, 2014). Par la suite l'analyse phylogénétique a montré que la séquence porcine burkinabé n'était liée ni à un sous-type déjà connu, ni à son origine géographique (Nigeria, Cameroun, Madagascar, Japon, Allemagne). Ainsi, d'autres facteurs, tels que l'espèce de porc, les pays d'origines, doivent être étudiés

Tableau 5-Le VHE chez le sanglier, cerf et porc domestique (Adapté de Pavio et al., 2010)

Pays	Espèces animales	sérologie	ARN de VHE	Type d'échantillon	Référence
Japon	Cerf Yezo	34.8% (181/520)	nd	Sérum et Fèces	Tomiyama, 2009
	Sanglier	9% (n = 35)	nd	Sérum	Sonoda, 2004
	Sanglier	8.1% (n=578)	3,3% (19/578) (G3 et 4)	Sérum	Sato, 2011
	Cerf sauvage	2% (n = 117)	nd		
	Sanglier	25% (100/392)	nd	Sérum	Michitaka, 2007
	Cerf en captivité	71% (10/14)	3% (G3)		
	Sanglier	4,5% (4/89)	1,1% (1/89) (G3)		
	Porc	74,6% (126/169)	1.8 % (3/169) (G3)	Sérum et Fèces	Sakano, 2009
Hongrie	Sanglier	nd	12.2% (9/74)	Foie	Reuter, 2009
	chevreuil	nd	34.4% (11/32)		
	Porc	nd	30.8 (G3)	Foie	
		nd	22.7 (G3)	Fèces	
Allemagne	Sanglier	nd	5.3%	Sérum	Kaci, 2008
	Sanglier	nd	15%	Foie	Schielke, 2009
	Porc sauvage	nd	1/105	Fèces	Oliveira-Filho, 2014
	Sanglier	nd	14.5% (18/124)	Sérum	
Italie	Sanglier	nd	25% (22/88)	Bile	Martelli, 2008
	Porc	nd	29.9 % (41/137) (G3)	Bile	Martelli, 2010
	Sanglier	4.9% (n=594)	nd	Sérum	Caruso, 2014
		nd	3.7% (12/320)	Foie	
	Porc d'élevage	nd	29.8% (17/57) (G3 and 4)	Fèces	Monne, 2015
Cerf rouge	13.9% (35/251)	10.9% (10/91) G3	Sérum	Di Bartolo, 2015	

Suite tableau 5

Pays	Espèces animales	Sérologie	ARN VHE	Type d'échantillon	Référence
Espagne	Sanglier	42.7%	19.6% (G3)	Sérum	De Deus, 2008
	Porc	71.4 %	nd	Sérum	Peralta, 2009
Hollande	Sanglier	nd	4% (G3)	Fèces	Rutjes, 2009
	Porc	nd	15% (G3 and 4)	Fèces	Hakze-van der Honing, 2011
France	Sanglier	nd	2.5% (7/285)	foie	Kaba, 2009a
	Porc	40.5%	31.2% (G3)	Sérum et Fèces	Kaba, 2009b
Croatie	Porc domestique	24.5%	nd	Sérum	Prpić, 2015
	Sanglier	12.3%	nd		
Philippines	Porc de ménage	50.3% (n=299)	nd	Sérum	Liu, 2015
		nd	7.4% (G3)	Fèces	
Roumanie	Porc domestique	nd	31,5% (6/19)	Fèces	Anita, 2014
Ecosse	Porc d'abattoir	29% (51/176)	44.4% (72/162)	Sérum	Crossan, 2014
Portugal	Sanglier	nd	25% (20/80)	foie	Mesquita, 2014
	Sanglier en captivité	Nd	10% (4/40) (G3)	Fèces	
Madagascar	Porc d'abattoir	71.2% (178/250)	nd	Sérum	Temmam, 2013
		nd	1.2% (3/250) (G3)	foie	
Nigeria	Porc domestique	55,6% (159/286)	nd	Sérum	Olajide, 2014
		nd	76,7% (69/90) (G3)	Fèces	
RD Congo	Porc domestique	nd	2.5% (1/40) (G3)	Fèces	Kaba, 2010
Cameroun	Porc domestique	nd	3/345 (G3)	foie	de Paula, 2013
Brésil	Porc d'abattoir	nd	9,6% (11/115) (G3)	Bile	dos Santos, 2010

nd: Not determined.

G: Genotype

III. Risque transfusionnel du VHE

Dans la troisième partie de nos travaux de thèse, nous avons fait un état du risque transfusionnel posé par le VHE dans une population de donneur de sang à Ouagadougou, dont le statut sérologique vis-à-vis des agents classiquement transmissibles par le sang (VHC, VHB, VIH et syphilis) était connu.

Dans les pays en développement où les ressources sont limitées, la disponibilité et la sécurité du sang et des produits sanguins dérivés pour les transfusions, continuent d'être préoccupantes, surtout avec l'existence des prévalences élevées dans ces populations des marqueurs infectieux tels que le VIH/SIDA et d'autres infections comme l'hépatite B, l'hépatite C et la syphilis.

La séroprévalence du VHC, VHB (HBsAg), VIH et de la syphilis dans la nouvelle cohorte des donneurs de sang (2014) a été estimée respectivement à 3,07 %, 7,75 %, 0,73 % et 1 %. Ces séroprévalences étaient significativement inférieures à celles rapportées sur les donneurs de sang en 2012 par Nagalo *et al*, avec des rapports de cote de 0,56 [95% CI, 0,56-0,61] pour le VHC; 0,63 [95% CI, 0,62-0,63] pour le VHB-HBsAg; 0,39 [95% CI, 0,33-0,47] pour le VIH; et 0,46 [95% CI, 0,40-0,53] pour la syphilis. Toutes les valeurs étaient statistiquement très fortes avec le test Chi-2, $p < 0,001$.

Ces résultats témoignent de l'efficacité de la stratégie de gestion des risques des infections virales en transfusion à travers le dépistage des marqueurs viraux et la sélection des donneurs appropriés sur la base des informations et d'entretiens médicaux avant le don de sang. Cependant cette prévalence est restée élevée, particulièrement pour le VHB-HBsAg. En effet avec une sensibilité pouvant atteindre 99 %, l'utilisation d'au moins un échantillon de sang HBV+ au cours de la période d'étude était très élevée, avec un risque d'infection pour le receveur. Par conséquent, il y a donc nécessité de renforcer la prévention (vaccination anti-VHB) et les stratégies de dépistage afin d'accroître la sécurité en transfusions.

Dans cette étude plus de 62,1 % des donneurs de sang étaient âgés de 20-30 ans. 17,3 % [IC à 95 %, 13,6-21,0] des donneurs dans ce groupe d'âge étaient infectés par au moins un agent pathogène. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que les jeunes donneurs (20-30 ans) sexuellement plus actifs que les autres groupes, sont potentiellement donc plus exposés au risque des infections sexuellement transmissibles. Malgré les campagnes de sensibilisation sur les maladies sexuellement transmissibles auprès des jeunes, il n'en demeure pas moins que beaucoup d'entre eux sont issus de

milieux socio-économiques pauvres et continuent à adopter des comportements à haut risque (Mapako *et al.*, 2013).

Depuis 2004 le VHE a été reconnu comme un agent infectieux transmissible par transfusion, et les données épidémiologiques récentes suggèrent qu'il pourrait être un risque pour la sécurité transfusionnelle (Dreier *et al.*, 2014). 39 % (IC95 %, 36,5 - 41,9 %) des donneurs de sang étudiés avaient déjà été exposés à l'infection VHE. Cette prévalence était considérablement plus élevée que celle (19,1 % (IC95 %, 13,3 - 24,9 %) rapportée antérieurement sur les donneurs de sang à Ouagadougou (Traore *et al.*, 2012).

Le manque d'assainissement et l'existence de réservoirs animaux dans les sources d'alimentation carnés tel que le porc ou le lapin ont conduit à une augmentation de la prévalence VHE dans la population générale donnant l'opportunité aux donneurs de sang d'infecter les receveurs (Traore *et al.*, 2012). Le taux d'IgM anti-VHE (1,9 %) indique une forte incidence de l'infection et un risque résiduel en transfusion, probablement associé à des infections silencieuses. Cette prévalence IgM anti-VHE (4 % [IC95 %, 6,5-2.2 %]) était la plus élevée dans le groupe d'âge 20-29 ans, qui représente la majorité des donneurs de sang étudiés (64 %).

CONCLUSION GENERALE

ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Nos travaux nous ont permis de confirmer la présence soupçonnée des virus hépatiques à transmission entériques, de mettre en évidence une nouvelle source et mode de contamination du VHE en rapport avec la présence du génotype 3 et son potentiel zoonotique, et enfin, de montrer que le VHE pourrait devenir un risque majeur pour la sécurité transfusionnelle au même titre que le VHB si aucune mesure n'est entreprise pour inactiver les produits secondaires sanguins.

Notre étude nous renseigne sur la prévalence très élevée des anticorps anti-VHE dans la population générale qui a doublé en moins de deux ans. Ces fortes prévalences rapportées dans la population donneur est une préoccupation majeure dans un pays où les ressources sont limités. En outre le risque 3 fois plus élevé chez les personnes (bouchers) en contact régulier avec le principal animal réservoir (porc) par rapport à la population générale est un facteur d'expansion et de persistance du virus

La forte prévalence des anticorps anti-VHE observée chez les porcs abattus et la détection de l'ARN VHE dans le foie de porc destiné à l'alimentation mettent en évidence la présence et la circulation active du VHE chez les suidés domestiques. Cette étude, la première caractérisation moléculaire d'une souche de VHE au Burkina, montre la présence de souche VHE de génotype 3 dans la région sahélienne où seul le génotype 1 avait été identifié jusqu'alors.

Ces résultats sont soutenus d'une part par l'existence d'un cycle d'infection chez l'homme due aux mauvaises conditions d'hygiène et d'assainissement et d'autre part par l'existence d'animaux réservoirs servant de source de contamination dans les infections humaines soit par contact indirect via l'épandage des lisiers dans les cultures vivrières ou direct (bouchers, éleveurs) ou enfin par l'alimentation en cas de mauvaise cuisson.

Le risque zoonotique de VHE est bien établi. Cependant il apparait important de déterminer non seulement la répartition géographique du VHE chez les différentes espèces porcine du pays, mais également de vérifier la présence du VHE chez d'autres animaux d'élevage (lapin) ou dans la faune sauvage (sanglier, lièvre, cerf...).

En outre la connaissance des différents génotypes associés à l'infection clinique chez l'homme et présents dans d'autres réservoirs potentiel du VHE (suidés sauvages, lapins, rats, chauve-souris) en rapport avec les habitudes alimentaires de chaque région du Burkina seront nécessaire dans la prévention de la santé primaire des populations.

Enfin l'ajout de dépistage du VHE dans les examens de routines des banques de sang pour la sécurité transfusionnelle du receveur et l'évaluation du bénéfice/cout d'un éventuel vaccin anti-VHE (Zhu FC Lancet 2010) permettra d'élaborer des stratégies d'assurance qualité.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abe K, Li TC, Ding X, Win KM, Shrestha PK, Quang VX, Ngoc TT, Taltavull TC, Smirnov AV, Uchaikin VF et al:** International collaborative survey on epidemiology of hepatitis E virus in 11 countries. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 2006, 37(1):90-95.
2. **Adjei AA, Aviyase JT, Tettey Y, Adu-Gyamfi C, Mingle JA, Ayeh-Kumi PF, Adiku TK, Gyasi RK:** Hepatitis E virus infection among pig handlers in Accra, Ghana. *East African medical journal* 2009, 86(8):359-363.
3. **Adjei AA, Tettey Y, Aviyase JT, Adu-Gyamfi C, Obed S, Mingle JA, Ayeh-Kumi PF, Adiku TK:** Hepatitis E virus infection is highly prevalent among pregnant women in Accra, Ghana. *Virology journal* 2009, 6:108.
4. **Aggarwal R:** Clinical presentation of hepatitis E. *Virus research* 2011, 161(1):15-22.
5. **Aggarwal R, Jameel S:** Hepatitis E. *Hepatology* 2011, 54(6):2218-2226.
6. **Aggarwal R, Naik SR:** Hepatitis E: does person-to-person spread occur? *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology* 1992, 11(3):109-112.
7. **Agrawal S, Gupta D, Panda SK:** The 3' end of hepatitis E virus (HEV) genome binds specifically to the viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). *Virology* 2001, 282(1):87-101.
8. **Ahmad I, Holla RP, Jameel S:** Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus research* 2011, 161(1):47-58.
9. **Alam S, Azam G, Mustafa G, Azad AK, Haque I, Gani S, Ahmad N, Alam K, Khan M:** Natural course of fulminant hepatic failure: the scenario in Bangladesh and the differences from the west. *Saudi journal of gastroenterology : official journal of the Saudi Gastroenterology Association* 2009, 15(4):229-233.
10. **Alric L, Bonnet D, Laurent G, Kamar N, Izopet J:** Chronic hepatitis E virus infection: successful virologic response to pegylated interferon-alpha therapy. *Annals of internal medicine* 2010, 153(2):135-136.
11. **Andraud M, Dumarest M, Cariolet R, Aylaj B, Barnaud E, Eono F, Pavio N, Rose N:** Direct contact and environmental contaminations are responsible for HEV transmission in pigs. *Veterinary research* 2013, 44:102.
12. **Anty R, Ollier L, Peron JM, Nicand E, Cannavo I, Bongain A, Giordanengo V, Tran A:** First case report of an acute genotype 3 hepatitis E infected pregnant woman

living in South-Eastern France. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2012, 54(1):76-78.

13. **Arankalle VA, Tsarev SA, Chadha MS, Alling DW, Emerson SU, Banerjee K, Purcell RH:** Age-specific prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses in Pune, India, 1982 and 1992. *The Journal of infectious diseases* 1995, 171(2):447-450.

14. **Arends JE, Ghisetti V, Irving W, Dalton HR, Izopet J, Hoepelman AI, Salmon D:** Hepatitis E: An emerging infection in high income countries. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2014, 59(2):81- 88.

15. **Armstrong GL, Bell BP:** Hepatitis A virus infections in the United States: model- based estimates and implications for childhood immunization. *Pediatrics* 2002, 109(5):839-845.

16. **Aubry P, Niel L, Niyongabo T, Kerguelen S, Larouze B:** Seroprevalence of hepatitis E virus in an adult urban population from Burundi. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1997, 57(3):272-273.

17. **Bader TF, Krawczynski K, Polish LB, Favorov MO:** Hepatitis E in a U.S. traveler to Mexico. *The New England journal of medicine* 1991, 325(23):1659.

18. **Balayan MS:** Hepatitis E virus infection in Europe: regional situation regarding laboratory diagnosis and epidemiology. *Clinical and diagnostic virology* 1993, 1(1):1-9.

19. **Balayan MS:** Epidemiology of hepatitis E virus infection. *Journal of viral hepatitis* 1997, 4(3):155-165.

20. **Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, Poleschuk VF:** Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 1983, 20(1):23-31.

21. **Barnaud E, Rogee S, Garry P, Rose N, Pavio N:** Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Applied and environmental microbiology* 2012, 78(15):5153-5159.

22. **Barzaga BN:** Hepatitis A shifting epidemiology in South-East Asia and China. *Vaccine* 2000, 18 Suppl 1:S61-64.

23. **Baylis SA, Gartner T, Nick S, Ovemyr J, Blumel J:** Occurrence of hepatitis E virus RNA in plasma donations from Sweden, Germany and the United States. *Vox sanguinis* 2012, 103(1):89-90.

24. **Beniwal M, Kumar A, Kar P, Jilani N, Sharma JB:** Prevalence and severity of acute

viral hepatitis and fulminant hepatitis during pregnancy: a prospective study from north India. *Indian journal of medical microbiology* 2003, 21(3):184-185.

25. **Berto A, Grierson S, Hakze-van der Honing R, Martelli F, Johne R, Reetz J, Ulrich RG, PAVIO N, Van der Poel WH, Banks M:** Hepatitis E virus in pork liver sausage, France. *Emerging infectious diseases* 2013, 19(2):264-266.

26. **Bile K, Isse A, Mohamud O, Allebeck P, Nilsson L, Norder H, Mushahwar IK, Magnius LO:** Contrasting roles of rivers and wells as sources of drinking water on attack and fatality rates in a hepatitis E epidemic in Somalia. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1994, 51(4):466-474.

27. **Boadella M, Casas M, Martin M, Vicente J, Segales J, de la Fuente J, Gortazar C:** Increasing contact with hepatitis E virus in red deer, Spain. *Emerging infectious diseases* 2010, 16(12):1994-1996.

28. **Bonkougou IJ, Sanou I, Bon F, Benon B, Coulibaly SO, Haukka K, Traore AS, Barro N:** Epidemiology of rotavirus infection among young children with acute diarrhoea in Burkina Faso. *BMC pediatrics* 2010, 10:94.

29. **Borgen K, Herremans T, Duizer E, Vennema H, Rutjes S, Bosman A, de Roda Husman AM, Koopmans M:** Non-travel related Hepatitis E virus genotype 3 infections in the Netherlands; a case series 2004 - 2006. *BMC infectious diseases* 2008, 8:61.

30. **Bouquet J, Tesse S, Lunazzi A, Eloit M, Rose N, Nicand E, PAVIO N:** Close similarity between sequences of hepatitis E virus recovered from humans and swine, France, 2008-2009. *Emerging infectious diseases* 2011, 17(11):2018-2025.

31. **Bouwknegt M, Frankena K, Rutjes SA, Wellenberg GJ, de Roda Husman AM, van der Poel WH, de Jong MC:** Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Veterinary research* 2008, 39(5):40.

32. **Boxall E, Herborn A, Kochethu G, Pratt G, Adams D, Ijaz S, Teo CG:** Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. *Transfusion medicine* 2006, 16(2):79-83.

33. **Bradley DW, Beach MJ, Purdy MA:** Recent developments in the molecular cloning and characterization of hepatitis C and E viruses. *Microbial pathogenesis* 1992, 12(6):391-398.

34. **Bradley DW, Krawczynski K, Cook EH, Jr., McCaustland KA, Humphrey CD, Spelbring JE, Myint H, Maynard JE:** Enterically transmitted non-A, non-B

hepatitis: serial passage of disease in cynomolgus macaques and tamarins and recovery of disease- associated 27- to 34-nm viruslike particles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1987, 84(17):6277-6281.

35. **Brassard J, Gagne MJ, Genereux M, Cote C:** Detection of human food-borne and zoonotic viruses on irrigated, field-grown strawberries. *Applied and environmental microbiology* 2012, 78(10):3763-3766.

36. **Buisson Y, Coursaget P, Bercion R, Anne D, Debord T, Roue R:** Hepatitis E virus infection in soldiers sent to endemic regions. *Lancet* 1994, 344(8930):1165-1166.

37. **Buisson Y, Teyssou R:** [Fecal-oral transmission of viral hepatitis]. *Medecine tropicale : revue du Corps de sante colonial* 1995, 55(4):305-311.

38. **Buisson Y, Van Cuyck-Gandre H, Deloince R:** [Water and viral hepatitis]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique* 1993, 86(5 Pt 2):479-483.

39. **Caron M, Kazanji M:** Hepatitis E virus is highly prevalent among pregnant women in Gabon, central Africa, with different patterns between rural and urban areas. *Virology journal* 2008, 5:158.

40. **Castera L, Pawlotsky JM:** [Hepatitis E virus infection: epidemiology and prevention]. *Gastroenterologie clinique et biologique* 2001, 25(5):521-537.

41. **Cevrioglu AS, Altindis M, Tanir HM, Aksoy F:** Investigation of the incidence of hepatitis E virus among pregnant women in Turkey. *The journal of obstetrics and gynaecology research* 2004, 30(1):48-52.

42. **Chandra V, Taneja S, Kalia M, Jameel S:** Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *Journal of biosciences* 2008, 33(4):451-464.

43. **Cheng XF, Wen YF, Zhu M, Zhan SW, Zheng JX, Dong C, Xiang KX, Xia XB, Wang G, Han LF:** Serological and molecular study of hepatitis E virus among illegal blood donors. *World journal of gastroenterology : WJG* 2012, 18(9):986-990.

44. **Chobe LP, Chadha MS, Banerjee K, Arankalle VA:** Detection of HEV RNA in faeces, by RT-PCR during the epidemics of hepatitis E in India (1976-1995). *Journal of viral hepatitis* 1997, 4(2):129-133.

45. **Clayson ET, Innis BL, Myint KS, Narupiti S, Vaughn DW, Giri S, Ranabhat P, Shrestha MP:** Detection of hepatitis E virus infections among domestic swine in the Kathmandu Valley of Nepal. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1995, 53(3):228-232.

46. **Clemente-Casares P, Pina S, Buti M, Jordi R, MartIn M, Bofill-Mas S, Girones**

R: Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerging infectious diseases* 2003, 9(4):448-454.

47. **Collenberg E, Ouedraogo T, Ganame J, Fickenscher H, Kynast-Wolf G, Becher H, Kouyate B, Krausslich HG, Sangare L, Tebit DM:** Seroprevalence of six different viruses among pregnant women and blood donors in rural and urban Burkina Faso: A comparative analysis. *Journal of medical virology* 2006, 78(5):683-692.

48. **Colson P, Borentain P, Queyriaux B, Kaba M, Moal V, Gallian P, Heyries L, Raoult D, Gerolami R:** Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *The Journal of infectious diseases* 2010, 202(6):825-834.

49. **Colson P, Coze C, Gallian P, Henry M, De Micco P, Tamalet C:** Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerging infectious diseases* 2007, 13(4):648-649.

50. **Colson P, Romanet P, Moal V, Borentain P, Purgus R, Benezech A, Motte A, Gerolami R:** Autochthonous infections with hepatitis E virus genotype 4, France. *Emerging infectious diseases* 2012, 18(8):1361-1364.

51. **Cooper K, Huang FF, Batista L, Rayo CD, Bezanilla JC, Toth TE, Meng XJ:** Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human populations. *Journal of clinical microbiology* 2005, 43(4):1684-1688.

52. **Corwin AL, Khiem HB, Clayson ET, Pham KS, Vo TT, Vu TY, Cao TT, Vaughn D, Merven J, Richie TL et al:** A waterborne outbreak of hepatitis E virus transmission in southwestern Vietnam. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1996, 54(6):559-562.

53. **Cossaboom CM, Cordoba L, Dryman BA, Meng XJ:** Hepatitis E virus in rabbits, Virginia, USA. *Emerging infectious diseases* 2011, 17(11):2047-2049.

54. **Cossaboom CM, Cordoba L, Sanford BJ, Pineyro P, Kenney SP, Dryman BA, Wang Y, Meng XJ:** Cross-species infection of pigs with a novel rabbit, but not rat, strain of hepatitis E virus isolated in the United States. *The Journal of general virology* 2012, 93(Pt 8):1687-1695.

55. **Coursaget P, Depril N, Buisson Y, Molinie C, Roue R:** Hepatitis type E in a French population: detection of anti-HEV by a synthetic peptide-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Research in virology* 1994, 145(1):51-57.

56. **Crossan C, Baker PJ, Craft J, Takeuchi Y, Dalton HR, Scobie L:** Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom. *Emerging infectious diseases* 2012,

18(12):2085-2087.

57. **Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M:** Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *The Lancet Infectious diseases* 2008, 8(11):698-709.

58. **Dalton HR, Keane FE, Bendall R, Mathew J, Ijaz S:** Treatment of chronic hepatitis E in a patient with HIV infection. *Annals of internal medicine* 2011, 155(7):479-480.

59. **Dalton HR, Stableforth W, Hazeldine S, Thurairajah P, Ramnarace R, Warshow U, Ijaz S, Ellis V, Bendall R:** Autochthonous hepatitis E in Southwest England: a comparison with hepatitis A. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology 2008, 27(7):579-585.

60. **Dalton HR, Stableforth W, Thurairajah P, Hazeldine S, Remnarace R, Usama W, Farrington L, Hamad N, Sieberhagen C, Ellis V et al:** Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2008, 20(8):784-790.

61. **Dawson GJ, Chau KH, Cabal CM, Yarbough PO, Reyes GR, Mushahwar IK:** Solid- phase enzyme-linked immunosorbent assay for hepatitis E virus IgG and IgM antibodies utilizing recombinant antigens and synthetic peptides. *Journal of virological methods* 1992, 38(1):175-186.

62. **Dawson GJ, Mushahwar IK, Chau KH, Gitnick GL:** Detection of long-lasting antibody to hepatitis E virus in a US traveller to Pakistan. *Lancet* 1992, 340(8816):426-427.

63. **Denis F, Delpyroux C, Debrock C, Rogez S, Alain S:** [Seroprevalence of hepatitis A in hospitalized patients in Limoges University Hospital]. *Gastroenterologie clinique et biologique* 2003, 27(8-9):727-731.

64. **Diez-Valcarce M, Kokkinos P, Soderberg K, Bouwknecht M, Willems K, de Roda-Husman AM, von Bonsdorff CH, Bellou M, Hernandez M, Maunula L et al:** Occurrence of human enteric viruses in commercial mussels at retail level in three European countries. *Food and environmental virology* 2012, 4(2):73-80.

65. **Dreier J, Juhl D:** Autochthonous hepatitis e virus infections: a new transfusion-associated risk? *Transfusion medicine and hemotherapy* : offzielles Organ der Deutschen Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie 2014,

41(1):29-39.

66. **Drexler JF, Seelen A, Corman VM, Fumie Tateno A, Cottontail V, Melim Zerbinati R, Gloza-Rausch F, Klose SM, Adu-Sarkodie Y, Oppong SK et al:** Bats worldwide carry hepatitis E virus-related viruses that form a putative novel genus within the family Hepeviridae. *Journal of virology* 2012, 86(17):9134-9147.

67. **Drobeniuc J, Meng J, Reuter G, Greene-Montfort T, Khudyakova N, Dimitrova Z, Kamili S, Teo CG:** Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2010, 51(3):e24-27.

68. **Dubois F, Thevenas C, Caces E, Vol S, Doctoriarena A, Ecault JL, Goudeau A, Tichet J:** [Seroepidemiology of hepatitis A in six departments in West-Central France in 1991]. *Gastroenterologie clinique et biologique* 1992, 16(8-9):674-679.

69. **Echevarria JM, Fogeda M, Avellon A:** Diagnosis of acute hepatitis E by antibody and molecular testing: a study on 277 suspected cases. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2011, 50(1):69-71.

70. **Ehteram H, Ramezani A, Eslamifar A, Sofian M, Banifazl M, Ghassemi S, Aghakhani A, Mashayekhi P:** Seroprevalence of Hepatitis E Virus infection among volunteer blood donors in central province of Iran in 2012. *Iranian journal of microbiology* 2013, 5(2):172-176.

71. **Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH:** Thermal stability of hepatitis E virus. *The Journal of infectious diseases* 2005, 192(5):930-933.

72. **Emerson SU, Nguyen HT, Torian U, Burke D, Engle R, Purcell RH:** Release of genotype 1 hepatitis E virus from cultured hepatoma and polarized intestinal cells depends on open reading frame 3 protein and requires an intact PXXP motif. *Journal of virology* 2010, 84(18):9059-9069.

73. **Emerson SU, Purcell RH:** Running like water--the omnipresence of hepatitis E. *The New England journal of medicine* 2004, 351(23):2367-2368.

74. **Emerson SU, Zhang M, Meng XJ, Nguyen H, St Claire M, Govindarajan S, Huang YK, Purcell RH:** Recombinant hepatitis E virus genomes infectious for primates: importance of capping and discovery of a cis-reactive element. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001, 98(26):15270- 15275.

75. **Favorov MO, Fields HA, Purdy MA, Yashina TL, Aleksandrov AG, Alter MJ, Yarasheva DM, Bradley DW, Margolis HS:** Serologic identification of hepatitis E virus infections in epidemic and endemic settings. *Journal of medical virology* 1992, 36(4):246-250.
76. **Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ:** Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *The Journal of general virology* 2007, 88(Pt 3):912-917.
77. **Feagins AR, Opriessnig T, Huang YW, Halbur PG, Meng XJ:** Cross-species infection of specific-pathogen-free pigs by a genotype 4 strain of human hepatitis E virus. *Journal of medical virology* 2008, 80(8):1379-1386.
78. **Feng Z, Hensley L, McKnight KL, Hu F, Madden V, Ping L, Jeong SH, Walker C, Lanford RE, Lemon SM:** A pathogenic picornavirus acquires an envelope by hijacking cellular membranes. *Nature* 2013, 496(7445):367-371.
79. **Fix AD, Martin OS, Gallicchio L, Vial PA, Lagos R:** Age-specific prevalence of antibodies to hepatitis A in Santiago, Chile: risk factors and shift in age of infection among children and young adults. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2002, 66(5):628-632.
80. **Gad YZ, Mousa N, Shams M, Elewa A:** Seroprevalence of subclinical HEV infection in asymptomatic, apparently healthy, pregnant women in Dakahlyia Governorate, Egypt. *Asian journal of transfusion science* 2011, 5(2):136-139.
81. **Gajjar MD, Bhatnagar NM, Sonani RV, Gupta S, Patel T:** Hepatitis E seroprevalence among blood donors: A pilot study from Western India. *Asian journal of transfusion science* 2014, 8(1):29-31.
82. **Galiana C, Fernandez-Barredo S, Garcia A, Gomez MT, Perez-Gracia MT:** Occupational exposure to hepatitis E virus (HEV) in swine workers. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2008, 78(6):1012-1015.
83. **Gerolami R, Borentain P, Raissouni F, Motte A, Solas C, Colson P:** Treatment of severe acute hepatitis E by ribavirin. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2011, 52(1):60-62.
84. **Gerolami R, Moal V, Colson P:** Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *The New England journal of medicine* 2008, 358(8):859-860.
85. **Graff J, Nguyen H, Yu C, Elkins WR, St Claire M, Purcell RH, Emerson SU:** The open reading frame 3 gene of hepatitis E virus contains a cis-reactive element and

encodes a protein required for infection of macaques. *Journal of virology* 2005, 79(11):6680-6689.

86. **Graff J, Torian U, Nguyen H, Emerson SU:** A bicistronic subgenomic mRNA encodes both the ORF2 and ORF3 proteins of hepatitis E virus. *Journal of virology* 2006, 80(12):5919-5926.

87. **Grandadam M, Tebbal S, Caron M, Siriwardana M, Larouze B, Koeck JL, Buisson Y, Enouf V, Nicand E:** Evidence for hepatitis E virus quasispecies. *The Journal of general virology* 2004, 85(Pt 11):3189-3194.

88. **Guthmann JP, Klovstad H, Boccia D, Hamid N, Pinoges L, Nizou JY, Tatay M, Diaz F, Moren A, Grais RF et al:** A large outbreak of hepatitis E among a displaced population in Darfur, Sudan, 2004: the role of water treatment methods. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006, 42(12):1685- 1691.

89. **Haagsma EB, van den Berg AP, Porte RJ, Benne CA, Vennema H, Reimerink JH, Koopmans MP:** Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2008, 14(4):547-553.

90. **Hakze-van der Honing RW, van Coillie E, Antonis AF, van der Poel WH:** First isolation of hepatitis E virus genotype 4 in Europe through swine surveillance in the Netherlands and Belgium. *PloS one* 2011, 6(8):e22673.

91. **Halbur PG, Kasorndorkbua C, Gilbert C, Guenette D, Potters MB, Purcell RH, Emerson SU, Toth TE, Meng XJ:** Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *Journal of clinical microbiology* 2001, 39(3):918-923.

92. **Hamid SS, Atiq M, Shehzad F, Yasmeen A, Nissa T, Salam A, Siddiqui A, Jafri W:** Hepatitis E virus superinfection in patients with chronic liver disease. *Hepatology* 2002, 36(2):474-478.

93. **Hannachi N, Hidar S, Harrabi I, Mhalla S, Marzouk M, Ghzel H, Ghannem H, Khairi H, Boukadida J:** [Seroprevalence and risk factors of hepatitis E among pregnant women in central Tunisia]. *Pathologie-biologie* 2011, 59(5):e115-118.

94. **Haqshenas G, Shivaprasad HL, Woolcock PR, Read DH, Meng XJ:** Genetic identification and characterization of a novel virus related to human hepatitis E

- virus from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in the United States. The Journal of general virology 2001, 82(Pt 10):2449-2462.
95. **Hazam RK, Singla R, Kishore J, Singh S, Gupta RK, Kar P:** Surveillance of hepatitis E virus in sewage and drinking water in a resettlement colony of Delhi: what has been the experience? Archives of virology 2010, 155(8):1227-1233.
96. **Heath TC, Burrow JN, Currie BJ, Bowden FJ, Fisher DA, Demediuk BH, Locarnini SA, Anderson DA:** Locally acquired hepatitis E in the Northern Territory of Australia. The Medical journal of Australia 1995, 162(6):318-319.
97. **Herremans M, Bakker J, Duizer E, Vennema H, Koopmans MP:** Use of serological assays for diagnosis of hepatitis E virus genotype 1 and 3 infections in a setting of low endemicity. Clinical and vaccine immunology : CVI 2007, 14(5):562-568.
98. **Holla RP, Ahmad I, Ahmad Z, Jameel S:** Molecular virology of hepatitis E virus. Seminars in liver disease 2013, 33(1):3-14.
99. **Howard CM, Handzel T, Hill VR, Grytdal SP, Blanton C, Kamili S, Drobeniuc J, Hu D, Teshale E:** Novel risk factors associated with hepatitis E virus infection in a large outbreak in northern Uganda: results from a case-control study and environmental analysis. The American journal of tropical medicine and hygiene 2010, 83(5):1170-1173.
100. **Huang CC, Nguyen D, Fernandez J, Yun KY, Fry KE, Bradley DW, Tam AW, Reyes GR:** Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). Virology 1992, 191(2):550-558.
101. **Huang S, Zhang X, Jiang H, Yan Q, Ai X, Wang Y, Cai J, Jiang L, Wu T, Wang Z et al:** Profile of acute infectious markers in sporadic hepatitis E. PloS one 2010, 5(10):e13560.
102. **Huang YW, Opriessnig T, Halbur PG, Meng XJ:** Initiation at the third in-frame AUG codon of open reading frame 3 of the hepatitis E virus is essential for viral infectivity in vivo. Journal of virology 2007, 81(6):3018-3026.
103. **Husain MM, Aggarwal R, Kumar D, Jameel S, Naik S:** Effector T cells immune reactivity among patients with acute hepatitis E. Journal of viral hepatitis 2011, 18(10):e603-608.
104. **Huzly D, Umhau M, Bettinger D, Cathomen T, Emmerich F, Hasselblatt P, Hengel H, Herzog R, Kappert O, Maassen S et al:** Transfusion-transmitted hepatitis E in Germany, 2013. Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies

transmissibles = European communicable disease bulletin 2014, 19(21).

105. **Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, Lhomme S, Marchandeu S, Boucher S, Kamar N, Abravanel F, Guerin JL:** Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerging infectious diseases* 2012, 18(8):1274-1281.

106. **Izopet J, Kamar N: [Hepatitis E: from zoonotic transmission to chronic infection in immunosuppressed patients].** *Medecine sciences : M/S* 2008, 24(12):1023-1025.

107. **Jameel S:** Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *Expert reviews in molecular medicine* 1999, 1999:1-16.

108. **Jameel S, Zafrullah M, Ozdener MH, Panda SK:** Expression in animal cells and characterization of the hepatitis E virus structural proteins. *Journal of virology* 1996, 70(1):207-216.

109. **Johne R, Heckel G, Plenge-Bonig A, Kindler E, Maresch C, Reetz J, Schielke A, Ulrich RG:** Novel hepatitis E virus genotype in Norway rats, Germany. *Emerging infectious diseases* 2010, 16(9):1452-1455.

110. **Kaba M, Moal V, Gerolami R, Colson P:** Epidemiology of mammalian hepatitis E virus infection. *Intervirology* 2013, 56(2):67-83.

111. **Kaba M, Richet H, Ravaux I, Moreau J, Poizot-Martin I, Motte A, Nicolino-Brunet C, Dignat-George F, Menard A, Dhiver C et al:** Hepatitis E virus infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Journal of medical virology* 2011, 83(10):1704-1716.

112. **Kalia M, Chandra V, Rahman SA, Sehgal D, Jameel S:** Heparan sulfate proteoglycans are required for cellular binding of the hepatitis E virus ORF2 capsid protein and for viral infection. *Journal of virology* 2009, 83(24):12714-12724.

113. **Kamar N, Abravanel F, Selves J, Garrouste C, Esposito L, Lavayssiere L, Cointault O, Ribes D, Cardeau I, Nogier MB et al:** Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of genotype 3 hepatitis-E virus infection after organ transplantation. *Transplantation* 2010, 89(3):353-360.

114. **Kamar N, Izopet J, Cintas P, Garrouste C, Uro-Coste E, Cointault O, Rostaing L:** Hepatitis E virus-induced neurological symptoms in a kidney-transplant patient with chronic hepatitis. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2010, 10(5):1321-1324.

115. **Kamar N, Rostaing L, Abravanel F, Garrouste C, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Mansuy JM, Selves J, Peron JM, Otal P et al:** Pegylated interferon-alpha for treating chronic hepatitis E virus infection after liver transplantation. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2010, 50(5):e30-33.
116. **Kamar N, Rostaing L, Abravanel F, Garrouste C, Lhomme S, Esposito L, Basse G, Cointault O, Ribes D, Nogier MB et al:** Ribavirin therapy inhibits viral replication on patients with chronic hepatitis e virus infection. *Gastroenterology* 2010, 139(5):1612- 1618.
117. **Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezzani L, Peron JM, Guitard J, Cointault O, Esposito L, Abravanel F, Danjoux M et al:** Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *The New England journal of medicine* 2008, 358(8):811- 817.
118. **Kar P, Jilani N, Husain SA, Pasha ST, Anand R, Rai A, Das BC:** Does hepatitis E viral load and genotypes influence the final outcome of acute liver failure during pregnancy? *The American journal of gastroenterology* 2008, **103**(10):2495-2501.
119. **Karpe YA, Lole KS:** Deubiquitination activity associated with hepatitis E virus putative papain-like cysteine protease. *The Journal of general virology* 2011, 92(Pt 9):2088-2092.
120. **Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, Canellini G, Burgisser P, Moradpour D, Darling KE, Cavassini M:** Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. *PloS one* 2011, 6(6):e21150.
121. **Kaur M, Hyams KC, Purdy MA, Krawczynski K, Ching WM, Fry KE, Reyes GR, Bradley DW, Carl M:** Human linear B-cell epitopes encoded by the hepatitis E virus include determinants in the RNA-dependent RNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1992, 89(9):3855-3858.
122. **Khudyakov Y, Kamili S:** Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. *Virus research* 2011, 161(1):84-92.
123. **Khuroo MS:** Chronic liver disease after non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1980, 2(8199):860-861.
124. **Khuroo MS:** Hepatitis E: the enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Indian journal of gastroenterology* : official journal of the Indian Society of Gastroenterology 1991, 10(3):96-100.

125. **Khuroo MS, Kamili S, Dar MY, Moeckli R, Jameel S:** Hepatitis E and long-term antibody status. *Lancet* 1993, 341(8856):1355.
126. **Khuroo MS, Kamili S, Jameel S:** Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet* 1995, 345(8956):1025-1026.
127. **Khuroo MS, Kamili S, Khuroo MS:** Clinical course and duration of viremia in vertically transmitted hepatitis E virus (HEV) infection in babies born to HEV-infected mothers. *Journal of viral hepatitis* 2009, 16(7):519-523.
128. **Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN:** Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2004, 19(7):778-784.
129. **Kitajima M, Matsubara K, Sour S, Haramoto E, Katayama H, Ohgaki S:** First detection of genotype 3 hepatitis E virus RNA in river water in Cambodia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2009, 103(9):955-957.
130. **Koning L, Pas SD, de Man RA, Balk AH, de Knecht RJ, ten Kate FJ, Osterhaus AD, van der Eijk AA:** Clinical implications of chronic hepatitis E virus infection in heart transplant recipients. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* 2013, 32(1):78-85.
131. **Koonin EV, Gorbalenya AE, Purdy MA, Rozanov MN, Reyes GR, Bradley DW:** Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1992, 89(17):8259-8263.
132. **Korkaya H, Jameel S, Gupta D, Tyagi S, Kumar R, Zafrullah M, Mazumdar M, Lal SK, Xiaofang L, Sehgal D et al:** The ORF3 protein of hepatitis E virus binds to Src homology 3 domains and activates MAPK. *The Journal of biological chemistry* 2001, 276(45):42389-42400.
133. **Krumbholz A, Mohn U, Lange J, Motz M, Wenzel JJ, Jilg W, Walther M, Straube E, Wutzler P, Zell R:** Prevalence of hepatitis E virus-specific antibodies in humans with occupational exposure to pigs. *Medical microbiology and immunology* 2012, 201(2):239-244.
134. **Kumar A, Beniwal M, Kar P, Sharma JB, Murthy NS:** Hepatitis E in pregnancy. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the*

International Federation of Gynaecology and Obstetrics 2004, 85(3):240-244.

135. **Kumar N, Sarin SK:** Hepatitis E- Is it a risk to transfusion safety? Asian journal of transfusion science 2013, 7(1):1-3.

136. **Kumar RM, Uduman S, Rana S, Kochiyil JK, Usmani A, Thomas L:** Seroprevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology 2001, 100(1):9-15.

137. **La Rosa G, Pourshaban M, Iaconelli M, Vennarucci VS, Muscillo M:** Molecular detection of hepatitis E virus in sewage samples. Applied and environmental microbiology 2010, 76(17):5870-5873.

138. **Lack JB, Volk K, Van Den Bussche RA:** Hepatitis E virus genotype 3 in wild rats, United States. Emerging infectious diseases 2012, 18(8):1268-1273.

139. **Lavanchy D, Morel B, Frei PC:** Seroprevalence of hepatitis E virus in Switzerland. Lancet 1994, 344(8924):747-748.

140. **Legrand-Abravanel F, Mansuy JM, Dubois M, Kamar N, Peron JM, Rostaing L, Izopet J:** Hepatitis E virus genotype 3 diversity, France. Emerging infectious diseases 2009, 15(1):110-114.

141. **Li TC, Miyamura T, Takeda N:** Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. The American journal of tropical medicine and hygiene 2007, 76(1):170-172.

142. **Li TC, Yamakawa Y, Suzuki K, Tatsumi M, Razak MA, Uchida T, Takeda N, Miyamura T:** Expression and self-assembly of empty virus-like particles of hepatitis E virus. Journal of virology 1997, 71(10):7207-7213.

143. **Liu P, Bu QN, Wang L, Han J, Du RJ, Lei YX, Ouyang YQ, Li J, Zhu YH, Lu FM et al:** Transmission of hepatitis E virus from rabbits to cynomolgus macaques. Emerging infectious diseases 2013, 19(4):559-565.

144. **Lu L, Li C, Hagedorn CH:** Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. Reviews in medical virology 2006, 16(1):5-36.

145. **Magden J, Takeda N, Li T, Auvinen P, Ahola T, Miyamura T, Merits A, Kaariainen L:** Virus-specific mRNA capping enzyme encoded by hepatitis E virus. Journal of virology 2001, 75(14):6249-6255.

146. **Mansuy JM, Abravanel F, Miedouge M, Mengelle C, Merviel C, Dubois M,**

Kamar N, Rostaing L, Alric L, Moreau J et al: Acute hepatitis E in south-west France over a 5- year period. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2009, 44(1):74-77.

147. **Mansuy JM, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Saune K, Miedouge M, Ellis V, Rech H, Destruel F, Kamar N, Dalton HR et al:** Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerging infectious diseases* 2011, 17(12):2309-2312.

148. **Mansuy JM, Legrand-Abravanel F, Calot JP, Peron JM, Alric L, Agudo S, Rech H, Destruel F, Izopet J:** High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. *Journal of medical virology* 2008, 80(2):289-293.

149. **Mapako T, Mvere DA, Chitiyo ME, Rusakaniko S, Postma MJ, van Hulst M:** Human immunodeficiency virus prevalence, incidence, and residual transmission risk in first-time and repeat blood donations in Zimbabwe: implications on blood safety. *Transfusion* 2013, 53(10 Pt 2):2413-2421.

150. **Marek A, Bilic I, Prokofieva I, Hess M:** Phylogenetic analysis of avian hepatitis E virus samples from European and Australian chicken flocks supports the existence of a different genus within the Hepeviridae comprising at least three different genotypes. *Veterinary microbiology* 2010, 145(1-2):54-61.

151. **Martolia HC, Hutin Y, Ramachandran V, Manickam P, Murhekar M, Gupte M:** An outbreak of hepatitis E tracked to a spring in the foothills of the Himalayas, India, 2005. *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology* 2009, 28(3):99-101.

152. **Mast EE, Alter MJ, Holland PV, Purcell RH:** Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. *Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group. Hepatology* 1998, 27(3):857-861.

153. **Mast EE, Kuramoto IK, Favorov MO, Schoening VR, Burkholder BT, Shapiro CN, Holland PV:** Prevalence of and risk factors for antibody to hepatitis E virus seroreactivity among blood donors in Northern California. *The Journal of infectious diseases* 1997, 176(1):34-40.

154. **Masuda J, Yano K, Tamada Y, Takii Y, Ito M, Omagari K, Kohno S:** Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2005, 31(3):178-183.

155. **Mateos ML, Camarero C, Lasa E, Teruel JL, Mir N, Baquero F:** Hepatitis E

virus: relevance in blood donors and risk groups. *Vox sanguinis* 1999, 76(2):78-80.

156. **Matsubayashi K, Kang JH, Sakata H, Takahashi K, Shindo M, Kato M, Sato S, Kato T, Nishimori H, Tsuji K et al:** A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion* 2008, 48(7):1368-1375.

157. **Meng J, Dai X, Chang JC, Lopareva E, Pillot J, Fields HA, Khudyakov YE:** Identification and characterization of the neutralization epitope(s) of the hepatitis E virus. *Virology* 2001, 288(2):203-211.

158. **Meng QL, Qiu F, Shen LP, Bi SL:** [Establishment and application of TaqMan real-time RT-PCR for the detection of hepatitis E virus]. *Zhonghua shi yan he lin chuang bing du xue za zhi = Zhonghua shiyan he linchuang bingduxue zazhi = Chinese journal of experimental and clinical virology* 2012, 26(6):486-488.

159. **Meng XJ:** Novel strains of hepatitis E virus identified from humans and other animal species: is hepatitis E a zoonosis? *Journal of hepatology* 2000, 33(5):842-845.

160. **Meng XJ:** Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Veterinary microbiology* 2010, 140(3-4):256-265.

161. **Meng XJ:** From barnyard to food table: the omnipresence of hepatitis E virus and risk for zoonotic infection and food safety. *Virus research* 2011, 161(1):23-30.

162. **Meng XJ:** Zoonotic and foodborne transmission of hepatitis E virus. *Seminars in liver disease* 2013, 33(1):41-49.

163. **Meng XJ, Halbur PG, Haynes JS, Tsareva TS, Bruna JD, Royer RL, Purcell RH, Emerson SU:** Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis E virus (swine HEV), but not with human strains of HEV. *Archives of virology* 1998, 143(7):1405-1415.

164. **Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU:** Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *Journal of virology* 1998, 72(12):9714-9721.

165. **Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU:** A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1997, 94(18):9860-9865.

166. **Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F, Guenette DK, Toth TE, Engle RE, Emerson SU, Purcell RH:** Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working

with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *Journal of clinical microbiology* 2002, 40(1):117-122.

167. **Merviel C, Mansuy JM, Dubois M, Izopet J:** [Development of a multiplex technique for detecting simultaneously HAV RNA and HEV RNA]. *Pathologie-biologie* 2012, 60(2):95-105.

168. **Mirazo S, Ramos N, Mainardi V, Gerona S, Arbiza J:** Transmission, diagnosis, and management of hepatitis E: an update. *Hepatic medicine : evidence and research* 2014, 6:45-59.

169. **Mishra N, Walimbe AM, Arankalle VA:** Hepatitis E virus from India exhibits significant amino acid mutations in fulminant hepatic failure patients. *Virus genes* 2013, 46(1):47-53.

170. **Miyashita K, Kang JH, Saga A, Takahashi K, Shimamura T, Yasumoto A, Fukushima H, Sogabe S, Konishi K, Uchida T et al:** Three cases of acute or fulminant hepatitis E caused by ingestion of pork meat and entrails in Hokkaido, Japan: Zoonotic food-borne transmission of hepatitis E virus and public health concerns. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2012, 42(9):870-878.

171. **Moin SM, Panteva M, Jameel S:** The hepatitis E virus Orf3 protein protects cells from mitochondrial depolarization and death. *The Journal of biological chemistry* 2007, 282(29):21124-21133.

172. **Monne I, Ceglie L, G DIM, Natale A, Zamprogna S, Morreale A, Rampazzo E, Cattoli G, Bonfanti L:** Hepatitis E virus genotype 4 in a pig farm, Italy, 2013. *Epidemiology and infection* 2015, 143(3):529-533.

173. **Mori Y, Matsuura Y:** Structure of hepatitis E viral particle. *Virus research* 2011, 161(1):59-64.

174. **Nagalo BM, Bisseye C, Sanou M, Kienou K, Nebie YK, Kiba A, Dahourou H, Ouattara S, Nikiema JB, Moret R et al:** Seroprevalence and incidence of transfusion-transmitted infectious diseases among blood donors from regional blood transfusion centres in Burkina Faso, West Africa. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 2012, 17(2):247-253.

175. **Naik S, Aggarwal R, Naik SR, Dwivedi S, Talwar S, Tyagi SK, Duhan SD, Coursaget P:** Evidence for activation of cellular immune responses in patients with acute hepatitis E. *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian*

Society of Gastroenterology 2002, 21(4):149-152.

176. **Naik SR, Aggarwal R, Salunke PN, Mehrotra NN:** A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur, India. *Bulletin of the World Health Organization* 1992, 70(5):597-604.

177. **Nakamura M, Takahashi K, Taira K, Taira M, Ohno A, Sakugawa H, Arai M, Mishiro S:** Hepatitis E virus infection in wild mongooses of Okinawa, Japan: Demonstration of anti-HEV antibodies and a full-genome nucleotide sequence. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2006, 34(3):137-140.

178. **Namsai A, Louisirirochanakul S, Wongchinda N, Siripanyaphinyo U, Virulhakul P, Puthavathana P, Myint KS, Gannarong M, Ittapong R:** Surveillance of hepatitis A and E viruses contamination in shellfish in Thailand. *Letters in applied microbiology* 2011, 53(6):608-613.

179. **Nicand E, Bigaillon C, Tesse S: [Hepatitis E: an emerging disease?].** *Pathologie-biologie* 2009, 57(2):203-211.

180. **Nidaira M, Takahashi K, Ogura G, Taira K, Okano S, Kudaka J, Itokazu K, Mishiro S, Nakamura M:** Detection and phylogenetic analysis of hepatitis E viruses from mongooses in Okinawa, Japan. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science* 2012, 74(12):1665-1668.

181. **Nitiema LW, Nordgren J, Ouermi D, Dianou D, Traore AS, Svensson L, Simpore J:** Burden of rotavirus and other enteropathogens among children with diarrhea in Burkina Faso. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2011, 15(9):e646-652.

182. **Okamoto H:** Hepatitis E virus cell culture models. *Virus research* 2011, 161(1):65- 77.

183. **Okamoto H:** Efficient cell culture systems for hepatitis E virus strains in feces and circulating blood. *Reviews in medical virology* 2011, 21(1):18-31.

184. **Oliveira-Filho EF, Konig M, Thiel HJ:** Genetic variability of HEV isolates: inconsistencies of current classification. *Veterinary microbiology* 2013, 165(1-2): 148- 154.

185. **Panda SK, Ansari IH, Durgapal H, Agrawal S, Jameel S:** The in vitro-synthesized RNA from a cDNA clone of hepatitis E virus is infectious. *Journal of virology* 2000, 74(5):2430-2437.

186. **Parvez MK:** Chronic hepatitis E infection: risks and controls. *Intervirology* 2013, 56(4):213-216.
183. **Pavio N, Mansuy JM:** Hepatitis E in high-income countries. *Current opinion in infectious diseases* 2010, 23(5):521-527.
184. **Pavio N, Meng XJ, Doceul V:** Zoonotic origin of hepatitis E. *Current opinion in virology* 2015, 10:34-41.
185. **Pavio N, Merbah T, Thebault A:** Frequent hepatitis E virus contamination in food containing raw pork liver, France. *Emerging infectious diseases* 2014, 20(11):1925-1927.
186. **Peralta B, Biarnes M, Ordonez G, Porta R, Martin M, Mateu E, Pina S, Meng XJ:** Evidence of widespread infection of avian hepatitis E virus (avian HEV) in chickens from Spain. *Veterinary microbiology* 2009, 137(1-2):31-36.
187. **Peron JM, Bureau C, Poirson H, Mansuy JM, Alric L, Selves J, Dupuis E, Izopet J, Vinel JP:** Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *Journal of viral hepatitis* 2007, 14(5):298-303.
188. **Peron JM, Dalton H, Izopet J, Kamar N:** Acute autochthonous hepatitis E in western patients with underlying chronic liver disease: a role for ribavirin? *Journal of hepatology* 2011, 54(6):1323-1324; author reply 1324-1325.
189. **Peron JM, Mansuy JM, Recher C, Bureau C, Poirson H, Alric L, Izopet J, Vinel JP:** Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2006, 21(7):1223-1224.
190. **Prabhu SB, Gupta P, Durgapal H, Rath S, Gupta SD, Acharya SK, Panda SK:** Study of cellular immune response against Hepatitis E virus (HEV). *Journal of viral hepatitis* 2011, 18(8):587-594.
191. **Purcell RH, Emerson SU:** Animal models of hepatitis A and E. *ILAR journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources* 2001, 42(2):161-177.
192. **Purcell RH, Emerson SU:** **Hepatitis E:** an emerging awareness of an old disease. *Journal of hepatology* 2008, 48(3):494-503.
193. **Purcell RH, Engle RE, Rood MP, Kabrane-Lazizi Y, Nguyen HT, Govindarajan S, St Claire M, Emerson SU:** Hepatitis E virus in rats, Los Angeles, California, USA. *Emerging infectious diseases* 2011, 17(12):2216-2222.

194. **Purdy MA, Khudyakov YE:** The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. *Virus research* 2011, 161(1):31-39.
195. **Rab MA, Bile MK, Mubarik MM, Asghar H, Sami Z, Siddiqi S, Dil AS, Barzgar MA, Chaudhry MA, Burney MI:** Water-borne hepatitis E virus epidemic in Islamabad, Pakistan: a common source outbreak traced to the malfunction of a modern water treatment plant. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1997, 57(2):151-157.
196. **Raj VS, Smits SL, Pas SD, Provacia LB, Moorman-Roest H, Osterhaus AD, Haagmans BL:** Novel hepatitis E virus in ferrets, the Netherlands. *Emerging infectious diseases* 2012, 18(8):1369-1370.
197. **Ray R, Aggarwal R, Salunke PN, Mehrotra NN, Talwar GP, Naik SR:** Hepatitis E virus genome in stools of hepatitis patients during large epidemic in north India. *Lancet* 1991, 338(8770):783-784.
198. **Rayis DA, Jumaa AM, Gasim GI, Karsany MS, Adam I:** An outbreak of hepatitis E and high maternal mortality at Port Sudan, Eastern Sudan. *Pathogens and global health* 2013, 107(2):66-68.
199. **Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST:** The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology* 2012, 55(4):988-997.
200. **Renou C, Nicand E, Pariente A, Cadranel JF, Pavio N:** [How to investigate and diagnose autochthonous hepatitis E?]. *Gastroenterologie clinique et biologique* 2009, 33(10-11 Suppl):F27-35.
201. **Renou C, Pariente A, Cadranel JF, Nicand E, Pavio N:** Clinically silent forms may partly explain the rarity of acute cases of autochthonous genotype 3c hepatitis E infection in France. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2011, 51(2):139-141.
202. **Renou C, Roque-Afonso AM, Pavio N:** Foodborne transmission of hepatitis E virus from raw pork liver sausage, France. *Emerging infectious diseases* 2014, 20(11):1945- 1947.
203. **Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, Young LM, Fry KE, Bradley DW:** Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science* 1990, 247(4948):1335-1339.
204. **Rezig D, Ouneissa R, Mhiri L, Mejri S, Haddad-Boubaker S, Ben Alaya N,**

Triki H: [Seroprevalences of hepatitis A and E infections in Tunisia]. *Pathologie-biologie* 2008, 56(3):148-153.

205. **Riveiro-Barciela M, Buti M, Homs M, Campos-Varela I, Cantarell C, Crespo M, Castells L, Taberner D, Quer J, Esteban R et al:** Cirrhosis, liver transplantation and HIV infection are risk factors associated with hepatitis E virus infection. *PloS one* 2014, 9(7):e103028.

206. **Rogée S, Talbot N, Caperna T, Bouquet J, Barnaud E, Pavio N:** New models of hepatitis E virus replication in human and porcine hepatocyte cell lines. *The Journal of general virology* 2013, 94(Pt 3):549-558.

207. **Rogée S, Le Gall M, Chafey P, Bouquet J, Cordonnier N, Frederici C, Pavio N:** Quantitative proteomics identifies host factors modulated during acute hepatitis E virus infection in the swine model. *The Journal of Virology* 2015, 89(1):129-143.

208. **Ropp SL, Tam AW, Beames B, Purdy M, Frey TK:** Expression of the hepatitis E virus ORF1. *Archives of virology* 2000, 145(7):1321-1337.

209. **Rose N, Lunazzi A, Dorenlor V, Merbah T, Eono F, Eloit M, Madec F, Pavio N:** High prevalence of Hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 2011, 34(5):419-427.

210. **Ruggeri FM, Di Bartolo I, Ponterio E, Angeloni G, Trevisani M, Ostanello F:** Zoonotic transmission of hepatitis E virus in industrialized countries. *The new microbiologica* 2013, 36(4):331-344.

211. **Rutjes SA, Lodder WJ, Lodder-Verschoor F, van den Berg HH, Vennema H, Duizer E, Koopmans M, de Roda Husman AM:** Sources of hepatitis E virus genotype 3 in The Netherlands. *Emerging infectious diseases* 2009, 15(3):381-387.

212. **Rutjes SA, Lodder-Verschoor F, Lodder WJ, van der Giessen J, Reesink H, Bouwknegt M, de Roda Husman AM:** Seroprevalence and molecular detection of hepatitis E virus in wild boar and red deer in The Netherlands. *Journal of virological methods* 2010, 168(1-2):197-206.

213. **Sacy RG, Haddad M, Baasiri G, Khoriaty A, Gerbaca BJ, Abu-Elyazeed R:** Hepatitis a in Lebanon: a changing epidemiological pattern. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2005, 73(2):453-456.

214. **Safary A:** Perspectives of vaccination against hepatitis E. *Intervirology* 2001, 44(2-3):162-166.

215. **Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A, Ramsay M, Morgan**

D, Hepatitis EIT: Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerging infectious diseases* 2009, 15(11):1738-1744.

216. **Sanford BJ, Emerson SU, Purcell RH, Engle RE, Dryman BA, Cecere TE, Buechner-Maxwell V, Sponenberg DP, Meng XJ:** Serological evidence for a hepatitis e virus-related agent in goats in the United States. *Transboundary and emerging diseases* 2013, 60(6):538-545.

217. **Sanford BJ, Opriessnig T, Kenney SP, Dryman BA, Cordoba L, Meng XJ:** Assessment of the cross-protective capability of recombinant capsid proteins derived from pig, rat, and avian hepatitis E viruses (HEV) against challenge with a genotype 3 HEV in pigs. *Vaccine* 2012, 30(44):6249-6255.

218. **Schlauder GG, Dawson GJ, Erker JC, Kwo PY, Knigge MF, Smalley DL, Rosenblatt JE, Desai SM, Mushahwar IK:** The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States. *The Journal of general virology* 1998, 79 (Pt 3):447-456.

219. **Schlauder GG, Mushahwar IK:** Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *Journal of medical virology* 2001, 65(2):282-292.

220. **Schoenfeld RC, Bourdet DL, Brameld KA, Chin E, de Vicente J, Fung A, Harris SF, Lee EK, Le Pogam S, Leveque V et al:** Discovery of a novel series of potent non- nucleoside inhibitors of hepatitis C virus NS5B. *Journal of medicinal chemistry* 2013, 56(20):8163-8182.

221. **Severo CA, Abensur P, Buisson Y, Lafuma A, Detournay B, Pechevis M:** An outbreak of hepatitis A in a French day-care center and efforts to combat it. *European journal of epidemiology* 1997, 13(2):139-144.

222. **Shata MT, Barrett A, Shire NJ, Abdelwahab SF, Sobhy M, Daef E, El-Kamary SS, Hashem M, Engle RE, Purcell RH et al:** Characterization of hepatitis E-specific cell- mediated immune response using IFN-gamma ELISPOT assay. *Journal of immunological methods* 2007, 328(1-2):152-161.

223. **Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP, Jr., Thapa GB, Thapa N, Myint KS, Fourneau M, Kuschner RA, Shrestha SK et al:** Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *The New England journal of medicine* 2007, 356(9):895-903.

224. **Simpore J, Ouermi D, Ilboudo D, Kabre A, Zeba B, Pietra V, Pignatelli S, Nikiema JB, Kabre GB, Caligaris S et al:** Aetiology of acute gastro-enteritis in children

at Saint Camille Medical Centre, Ouagadougou, Burkina Faso. Pakistan journal of biological sciences : PJBS 2009, 12(3):258-263.

225. **Slot E, Hogema BM, Riezebos-Brilman A, Kok TM, Molier M, Zaaijer HL:** Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin 2013, 18(31).

226. **Smith DB, Purdy MA, Simmonds P:** Genetic variability and the classification of hepatitis E virus. Journal of virology 2013, 87(8):4161-4169.

227. **Smith PF, Grabau JC, Werzberger A, Gunn RA, Rolka HR, Kondracki SF, Gallo RJ, Morse DL:** The role of young children in a community-wide outbreak of hepatitis A. Epidemiology and infection 1997, 118(3):243-252.

228. **Sohn YM, Rho HO, Park MS, Park JH, Choi BY, Ki M, Jang WI:** The changing epidemiology of hepatitis A in children and the consideration of active immunization in Korea. Yonsei medical journal 2000, 41(1):34-39.

229. **Sohn YM, Rho HO, Park MS, Park JH, Choi BY, Ki M, Jang WI:** The changing epidemiology of hepatitis A in children and the consideration of active immunization in Korea. Yonsei medical journal 2000, 41(1):34-39.

230. **Song YJ, Jeong HJ, Kim YJ, Lee SW, Lee JB, Park SY, Song CS, Park HM, Choi IS:** Analysis of complete genome sequences of swine hepatitis E virus and possible risk factors for transmission of HEV to humans in Korea. Journal of medical virology 2010, 82(4):583-591.

231. **Srivastava R, Aggarwal R, Bhagat MR, Chowdhury A, Naik S:** Alterations in natural killer cells and natural killer T cells during acute viral hepatitis E. Journal of viral hepatitis 2008, 15(12):910-916.

232. **Srivastava R, Aggarwal R, Jameel S, Puri P, Gupta VK, Ramesh VS, Bhatia S, Naik S:** Cellular immune responses in acute hepatitis E virus infection to the viral open reading frame 2 protein. Viral immunology 2007, 20(1):56-65.

233. **Srivastava R, Aggarwal R, Sachdeva S, Alam MI, Jameel S, Naik S:** Adaptive immune responses during acute uncomplicated and fulminant hepatitis E. Journal of gastroenterology and hepatology 2011, 26(2):306-311.

234. **Steyer A, Naglic T, Mocilnik T, Poljsak-Prijatelj M, Poljak M:** Hepatitis E virus in domestic pigs and surface waters in Slovenia: prevalence and molecular characterization of a novel genotype 3 lineage. Infection, genetics and evolution :

journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases 2011,11(7):1732-1737.

235. **Stoszek SK, Abdel-Hamid M, Saleh DA, El Kafrawy S, Narooz S, Hawash Y, Shebl FM, El Daly M, Said A, Kassem E et al:** High prevalence of hepatitis E antibodies in pregnant Egyptian women. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2006, 100(2):95-101.

236. **Suneetha PV, Pischke S, Schlaphoff V, Grabowski J, Fytili P, Gronert A, Bremer B, Markova A, Jaroszewicz J, Bara C et al:** Hepatitis E virus (HEV)-specific T-cell responses are associated with control of HEV infection. *Hepatology* 2012, 55(3):695- 708.

237. **Tabatabai J, Wenzel JJ, Soboletzki M, Flux C, Navid MH, Schnitzler P:** First case report of an acute hepatitis E subgenotype 3c infection during pregnancy in Germany. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2014, 61(1):170-172.

238. **Takahashi M, Nishizawa T, Sato H, Sato Y, Jirintai, Nagashima S, Okamoto H:** Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *The Journal of general virology* 2011, 92(Pt 4):902-908.

239. **Takahashi M, Tanaka T, Takahashi H, Hoshino Y, Nagashima S, Jirintai, Mizuo H, Yazaki Y, Takagi T, Azuma M et al:** Hepatitis E Virus (HEV) strains in serum samples can replicate efficiently in cultured cells despite the coexistence of HEV antibodies: characterization of HEV virions in blood circulation. *Journal of clinical microbiology* 2010, 48(4):1112-1125.

240. **Takeda H, Matsubayashi K, Sakata H, Sato S, Kato T, Hino S, Tadokoro K, Ikeda H:** A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. *Vox sanguinis* 2010, 99(4):307-313.

241. **Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, Reyes GR:** Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology* 1991, 185(1):120-131.

242. **Tamada Y, Yano K, Yatsubashi H, Inoue O, Mawatari F, Ishibashi H:** Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *Journal of hepatology* 2004, 40(5):869-870.

243. **Tan HH, Leong HN, Tan BH, Oon LL, Lim KH, Chang JP, Tan CK:** Chronic

hepatitis e infection resulting in graft failure in a liver transplant tourist. Case reports in transplantation 2011, 2011:654792.

244. **Tanaka T, Takahashi M, Kusano E, Okamoto H:** Development and evaluation of an efficient cell-culture system for Hepatitis E virus. The Journal of general virology 2007, 88(Pt 3):903-911.

245. **Taremi M, Mohammad Alizadeh AH, Ardalan A, Ansari S, Zali MR:** Seroprevalence of hepatitis E in Nahavand, Islamic Republic of Iran: a population-based study. Eastern Mediterranean health journal = La revue de sante de la Mediterranee orientale = al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit 2008, 14(1):157-162.

246. **Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S:** Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. Lancet 2003, 362(9381):371-373.

247. **Temmam S, Besnard L, Andriamandimby SF, Foray C, Rasamoelina-Andriamanivo H, Heraud JM, Cardinale E, Dellagi K, Pavio N, Pascalis H et al:** High prevalence of hepatitis E in humans and pigs and evidence of genotype-3 virus in swine, Madagascar. The American journal of tropical medicine and hygiene 2013, 88(2):329- 338.

248. **Teshale EH, Grytdal SP, Howard C, Barry V, Kamili S, Drobeniuc J, Hill VR, Okware S, Hu DJ, Holmberg SD:** Evidence of person-to-person transmission of hepatitis E virus during a large outbreak in Northern Uganda. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2010, 50(7):1006- 1010.

249. **Teshale EH, Howard CM, Grytdal SP, Handzel TR, Barry V, Kamili S, Drobeniuc J, Okware S, Downing R, Tappero JW et al:** Hepatitis E epidemic, Uganda. Emerging infectious diseases 2010, 16(1):126-129.

250. **Traore KA, Rouamba H, Nebie Y, Sanou M, Traore AS, Barro N, Roques P:** Seroprevalence of fecal-oral transmitted hepatitis A and E virus antibodies in Burkina Faso. PloS one 2012, 7(10):e48125.

251. **Tripathy AS, Das R, Rathod SB, Arankalle VA:** Cytokine profiles, CTL response and T cell frequencies in the peripheral blood of acute patients and individuals recovered from hepatitis E infection. PloS one 2012, 7(2):e31822.

252. **Tucker TJ, Kirsch RE, Louw SJ, Isaacs S, Kannemeyer J, Robson SC:** Hepatitis E in South Africa: evidence for sporadic spread and increased seroprevalence in rural

areas. *Journal of medical virology* 1996, 50(2):117-119.

253. **Tyagi S, Surjit M, Roy AK, Jameel S, Lal SK:** The ORF3 protein of hepatitis E virus interacts with liver-specific alpha1-microglobulin and its precursor alpha1-microglobulin/bikunin precursor (AMBP) and expedites their export from the hepatocyte. *The Journal of biological chemistry* 2004, 279(28):29308-29319.

254. **van Cuyck H, Fan J, Robertson DL, Roques P:** Evidence of recombination between divergent hepatitis E viruses. *Journal of virology* 2005, 79(14):9306-9314.

255. **Vaquero J, Blei AT:** Etiology and management of fulminant hepatic failure. *Current gastroenterology reports* 2003, 5(1):39-47.

256. **Victor JC, Surdina TY, Suleimeova SZ, Favorov MO, Bell BP, Monto AS:** The increasing prominence of household transmission of hepatitis A in an area undergoing a shift in endemicity. *Epidemiology and infection* 2006, 134(3):492-497.

257. **Viswanathan R:** A review of the literature on the epidemiology of infectious hepatitis. *The Indian journal of medical research* 1957, 45(Suppl.):145-155.

258. **Viswanathan R, Sidhu AS:** Infectious hepatitis; clinical findings. *The Indian journal of medical research* 1957, 45(Suppl.):49-58.

259. **Viswanathan R, Sidhu AS:** Infectious hepatitis; clinical findings. *The Indian journal of medical research* 1957, 45(Suppl.):49-58.

260. **Vivek R, Nihal L, Illiyaraja J, Reddy PK, Sarkar R, Eapen CE, Kang G:** Investigation of an epidemic of Hepatitis E in Nellore in south India. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 2010, 15(11):1333-1339.

261. **Walachowski S, Dorenlor V, Lefevre J, Lunazzi A, Eono F, Merbah T, Eveno E, Pavo N, Rose N:** Risk factors associated with the presence of hepatitis E virus in livers and seroprevalence in slaughter-age pigs: a retrospective study of 90 swine farms in France. *Epidemiology and infection* 2014, 142(9):1934-1944.

262. **Wenzel JJ, Preiss J, Schemmerer M, Huber B, Plentz A, Jilg W:** Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2011, 52(1):50-54.

263. **Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, Jilg W, Stark K:** Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *The Journal of infectious diseases* 2008, 198(12):1732-1741.

264. **Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tsang AK, Joseph M, Wong EY, Tang Y, Sivakumar**

- S, Xie J, Bai R et al:** New hepatitis E virus genotype in camels, the Middle East. *Emerging infectious diseases* 2014, 20(6):1044-1048.
265. **Wu JC, Sheen IJ, Chiang TY, Sheng WY, Wang YJ, Chan CY, Lee SD:** The impact of traveling to endemic areas on the spread of hepatitis E virus infection: epidemiological and molecular analyses. *Hepatology* 1998, 27(5):1415-1420.
266. **Xing L, Wang JC, Li TC, Yasutomi Y, Lara J, Khudyakov Y, Schofield D, Emerson SU, Purcell RH, Takeda N et al:** Spatial configuration of hepatitis E virus antigenic domain. *Journal of virology* 2011, 85(2):1117-1124.
267. **Yamada K, Takahashi M, Hoshino Y, Takahashi H, Ichiyama K, Nagashima S, Tanaka T, Okamoto H:** ORF3 protein of hepatitis E virus is essential for virion release from infected cells. *The Journal of general virology* 2009, 90(Pt 8):1880-1891.
268. **Yamashita T, Mori Y, Miyazaki N, Cheng RH, Yoshimura M, Unno H, Shima R, Moriishi K, Tsukihara T, Li TC et al:** Biological and immunological characteristics of hepatitis E virus-like particles based on the crystal structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009, 106(31):12986- 12991.
269. **Yarbough PO, Tam AW, Fry KE, Krawczynski K, McCaustland KA, Bradley DW, Reyes GR:** Hepatitis E virus: identification of type-common epitopes. *Journal of virology* 1991, 65(11):5790-5797.
270. **Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H:** Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *The Journal of general virology* 2003, 84(Pt 9):2351-2357.
271. **Yugo DM, Meng XJ:** Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *International journal of environmental research and public health* 2013, 10(10):4507-4533.
272. **Zeba MT, Karou SD, Sagna T, Djigma F, Bisseye C, Ouermi D, Pietra V, Pignatelli S, Gnoula C, Sia JD et al:** HCV prevalence and co-infection with HIV among pregnant women in Saint Camille Medical Centre, Ouagadougou. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 2011, 16(11):1392-1396.
273. **Zhang H, Dai X, Shan X, Meng J:** The Leu477 and Leu613 of ORF2-encoded protein are critical in forming neutralization antigenic epitope of hepatitis E virus genotype 4. *Cellular & molecular immunology* 2008, 5(6):447-456.

274. **Zhang S, Wang J, Yuan Q, Ge S, Zhang J, Xia N, Tian D:** Clinical characteristics and risk factors of sporadic Hepatitis E in central China. *Virology journal* 2011, 8:152.
275. **Zhao C, Ma Z, Harrison TJ, Feng R, Zhang C, Qiao Z, Fan J, Ma H, Li M, Song A et al:** A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China. *Journal of medical virology* 2009, 81(8):1371-1379.
276. **Zheng ZZ, Miao J, Zhao M, Tang M, Yeo AE, Yu H, Zhang J, Xia NS:** Role of heat- shock protein 90 in hepatitis E virus capsid trafficking. *The Journal of general virology* 2010, 91(Pt 7):1728-1736.
277. **Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ, Wang H, Yang CL, Jiang HM, Cai JP et al:** Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2010, 376(9744):895-902.
278. **Zhuang H, Cao XY, Liu CB, Wang GM:** Epidemiology of hepatitis E in China. *Gastroenterologia Japonica* 1991, 26 Suppl 3:135-138

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1 revue - Les Hépatites virales en Afrique de l'Ouest

Les hépatites virales sont des lésions inflammatoires du foie causées par cinq virus ayant un tropisme hépatique quasi-exclusif pouvant conduire à une nécrose hépatocytaire. Ce sont les virus des hépatites A, B, C, Delta et E (VHA, VHB, VHC, VHD, VHE). Bien que présentant des pouvoirs pathogènes très proches, ces six virus à tropisme hépatocytaire (A, B, C, D, E et G), appartiennent à des familles virales très différentes et s'individualisent par leurs modes de transmission et leurs modalités évolutives.

En raison de la sévérité potentielle des hépatites virales, le contrôle de leur transmission et la gestion de leur traitement dans les pays en voies de développement constituent un défi pour la communauté et les autorités en santé. Cette étude a fait le point sur l'état des connaissances actuelles à partir des données de littérature et d'études menées en Afrique de l'Ouest.

Les infections à VHB et coïnfections VHB/VIH ou VHB/VHD, demeurent une préoccupation aux conséquences sévères en Afrique de l'Ouest au regard des taux de prévalences élevés atteignant respectivement 25% chez les patients VIH+/VHD+ et 29% chez les patients VIH+. Quant à l'hépatite C, les prévalences observées (1-7%) demeurent relativement élevés dans cette zone par rapport au VHB, avec quelques forts taux pouvant atteindre 16% chez les patients VIH+. Ces prévalences élevées reflètent une absence de mesures sanitaires adéquates pour lutter contre les hépatites virales. Les résultats de cette étude fait l'objet d'un article en préparation (**Article3**).

Article 3: Viral hepatitis in West Africa: Burkina Faso.

Traore K A., Poda SH, Traore AS, Roques P and Barro N

African Journal of Microbiology Research en preparation

1 **VIRAL HEPATITIS IN WEST AFRICA: BURKINA FASO**

2

3 Traoré K.A.¹, Poda S.H.², Traoré A.S.¹, Roques P.^{3,4} and Barro N. ¹

4 ¹Laboratoire de Biologie Moléculaire et d'Epidémiologie et de Surveillance Bactéries et
5 Virus transmis par les Aliments, CRSBAN/ Département de Biochimie-Microbiologie,
6 UFR-SVT/Université de Ouagadougou, 03 B.P. 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

7 ²Centre médical de Samandin

8 ³CEA, Division of Immuno-Virologie, Institute of Emerging Diseases and Innovative
9 Therapies, Fontenay-aux-Roses, France.

10 ⁴UMR E1, University Paris Sud 11, Orsay, France.

11

12

13 **Authors' addresses:** Traore Kuan Abdoulaye, Université de Ouagadougou, EDST-
14 Service: CRSBAN, BP 7021 Ouagadougou - Burkina Faso, E-mail: kuabtraore@live.fr.

15 Hortanse Rouamba, Centre Médical de Samandin, Burkina Faso
16 Shrouamba07@yahoo.fr.

17 Pierre Roques, CEA: Service d'Immuno-Virologie, 92265 Fontenay-aux-Roses – France,
18 E-mail pierre.roques@cea.fr

19 Nicolas Barro, Université de Ouagadougou, EDST- Service: CRSBAN, BP 7021
20 Ouagadougou - Burkina Faso, E-mail: barronicolas@yahoo.fr.

21

22

23 **Corresponding author:**

24 Traore Kuan Abdoulaye: Laboratoire de Biologie Moléculaire et d'Epidémiologie et de
25 Surveillance Bactéries et Virus transmis par les Aliments, CRSBAN/ Département de
26 Biochimie-Microbiologie, UFR-SVT/Université de Ouagadougou, 03 B.P. 7021
27 Ouagadougou 03, Burkina Faso. E-mail: kuabtraore@live.fr

28

29

30

31

32

33

34 SUMMARY – 156 words -

35 Given the threat posed to public health by viral hepatitis in developing countries, we
36 report here an update on the prevalence of viral hepatitis in Burkina Faso. These data
37 will be important to assess health risks associated with viral outbreaks. Although the
38 pathogenicity of the five hepatocyte-tropic viruses associated with hepatic diseases (A,
39 B, C, D and E) is very similar, the viruses differ significantly from each other in terms of
40 their genomic organization, viral family, particle size, mortality rates, ability to cause
41 chronic disease, severity, modes of transmission and distribution in West Africa. Thus,
42 the epidemiology of each of these viruses is different, which affects the choice of
43 primary control mechanisms designed to stop their spread, such as sensitization
44 campaigns, vaccination, and improved safety regarding blood transfusions and food.
45 This update identifies the current problems regarding viral hepatitis in Burkina Faso.
46 Because intervention like vaccination, or infrastructure modification (water services,
47 population movement etc...) regular updates are needed in order to clearly evaluate the
48 public health risks associated with these infections.

49 **Keywords:** viral hepatitis A, B, C, D, E; West-Africa, Risk factor, public health

50

51 INTRODUCTION

52 Hepatitis is inflammatory liver damage with several potential causes such as infections,
53 drugs and autoimmune diseases. Many viruses can cause liver damage
54 (cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, Herpes simplex virus, yellow fever virus, etc.).
55 However, five viruses in particular, which are almost exclusive in their tropism for
56 hepatocytes, are the major cause of infection and inflammation of the liver parenchyma
57 (acute and/or chronic), which may lead to hepatocyte necrosis. These viruses are
58 hepatitis virus A, B, C, Delta and E (HAV, HBV, HCV, HDV, HEV) (Weinman and Taylor,
59 2014). They are a serious public health problem because they lead to severe illness and
60 death and cause outbreaks and epidemics (Cobo, 2014). Another hepatocyte tropic
61 virus, named hepatitis G (or GBV-C), has also been characterized but its involvement in
62 severe liver disease was recently discussed (Alter, 1996; Reshetnyak, 2008; Chang
63 2014) and is thus not the subject of this review.

64 Some hepatitis viruses are transmitted by the fecal-oral (enteric transmission) route
65 whereas others are mainly transmitted through blood (parenteral transmission)
66 (Cobo, 2014).

67 Enterically-transmitted viruses (HAV and HEV), often lead to severe acute
68 manifestations but HEV is also able to persist as shown by several recent cases of
69 hepatitis E chronic infection. HAV and HEV are non-enveloped RNA viruses although
70 they are not closely related evolutionarily (Weinman and Taylor, 2014). Both viruses
71 can cause large epidemics in non-immune or partially immune populations. They are a
72 burden in countries with low standards of hygiene where the annual number of new
73 infections with HAV is estimated at about 1.5 million, whereas the annual number of
74 symptomatic cases of HEV is over 3 million with 70,000 deaths reported per year
75 (Rein et al., 2012).

76 Parenterally-transmitted viruses (HBV, HCV, and HDV) are endemic and sporadic and
77 can cause chronic infections in individuals who then become the main reservoir of the
78 virus (Buisson, 1996). HBV and HCV cause serious morbidity and mortality, with 350
79 and 170 million people, respectively, infected worldwide. HBV is a DNA virus that can
80 persist as a stable nuclear form, and HCV is an RNA virus that maintains chronic
81 infection by defeating host immune responses (Weinman and Taylor, 2014). In addition,
82 chronic infections may lead to fatal liver failure in immunocompromised patient like
83 HIV infected persons or solid organ graft people who received immune-suppressor
84 treatment. This facts underlines the importance of studying hepatitis viruses, especially
85 given that the seroprevalence of HIV was 1.2 % [1,0-1,5] in late 2009 in Burkina Faso
86 (ranked as one of the countries with a generalized epidemic, GARP, 2012).

87 Burkina Faso was classified by the WHO as an area with a low prevalence of HCV (2%)
88 and a high prevalence of active HBV infection (> 8%). However, the epidemiology of
89 hepatitis E and A remain unknown or badly assessed in areas of West Africa including
90 Burkina Faso.

91

92 **1 Enteric or fecal-oral transmission**

93 HAV and HEV are usually responsible for acute hepatitis infections associated with the
94 ingestion of food or water contaminated with feces from an infected individual. Both are
95 non-enveloped virus and may be enveloped by lipids/cellular membrane residues in
96 blood (Feng et al., 2013; Takahashi et al., 2010) but not in feces. These viruses are
97 excreted in very large amount the feces. Infections with these viruses are common,
98 especially in areas where hygiene is poor and socioeconomic status is low

99 (Rezig et al., 2008; Barro et al., 2008). However, these two viruses evolve under
100 different epidemiological conditions (Chancellor et al., 2006).

101

102 **1.1. Hepatitis A virus (HAV):** HAV belongs to the genus Hepatovirus and is a member
103 of the Picornaviridae family [Buisson et al., 1994; Emerson et al., 2004; Roque-Afonso et
104 al., 2006]. HAV is a non-enveloped virus of 27–32nm in diameter. The viral genome is a
105 single-stranded RNA of positive polarity, which is non-segmented and is packaged into
106 an icosahedral capsid. HAV strains belong to a single serotype (Debord et Buisson,
107 1998). Based on the nucleotide sequence of the VP1/2A region, six viral genotypes (I–
108 VI) have been identified, with viral strains of the same genotype sharing more than 85%
109 nucleotide identity. The former VII genotype has since been reclassified in the clade II
110 genotype as the IIB subgenotype (Desbois et al., 2010; Costa-Mattioli et al., 2003; Lu et
111 al., 2004). Viruses of four of the genotypes (I, II, III and VI) have been recovered from
112 human HAV cases, whereas viruses of the other three genotypes (IV, V and VI) have each
113 been isolated only from a different simian species that developed a hepatitis A-like
114 illness during captivity (Robertson et al., 1992; Costa-Mattioli et al., 2003).

115 This virus causes one of the most common viral infections in the world, with more than
116 10 million cases reported each year. The epidemiology of this virus has been influenced
117 by the improvement of socio-economic conditions and hygiene (improved drinking
118 water access), and differs according to geographical area as shown by the prevalence of
119 anti-HAV antibodies (Roque-Afonso et al., 2006).

120 In West Africa, especially in Burkina Faso, poor living conditions, lack of water
121 treatment systems and low socioeconomic status have exposed the population to enteric
122 infections (Jacobsen et Koopman, 2004; Barro et al., 2008; Simpore et al., 2009;
123 Bonkougou et al., 2010) and HAV is probably endemic in these countries. Indeed, the
124 seropositivity of anti-HAV IgG increases with age, which suggests continuous exposure
125 to the virus, as occurs in endemic situations (Jacobsen, 2014, Traore et al., 2012).
126 However, the rate of recent infections, as identified by the positivity for anti-HAV IgM,
127 was relatively small (incidence of 3.3%) but nonetheless significant and independent of
128 age (Traore et al., 2012). In Burkina Faso, our latest results indicate that the prevalence
129 anti-HAV IgG is 98% among urban blood donors between 18 and 55 years old, which is
130 similar to the prevalence of HAV observed in other countries in West Africa (table 1).
131 The low prevalence IgG anti-HAV reported by Traore in 2012 could be explained by the

132 low sensitivity of the SD Bioline kit for the detection of anti-HAV IgG and IgM. Additional
133 studies in diverse areas of Burkina Faso are required to clarify the rate of early
134 transmission (Jacobsen, 2014) and to define the best vaccination program for patients at
135 risk that is suited to people living with HIV (Ajanaa et al., 2009).

136 **1.2. Hepatitis E virus (HEV):** First identified in 1983 (Balayan et al., 1983) and initially
137 classified in the Caliciviridae family, this virus was re-classified in the new Hepeviridae
138 family based on its structure and genomic organization. HEV is still the only known
139 member of this family (Emerson et al., 2005). HEV is a non-enveloped cubic-shaped
140 virus of 27–33 nm in diameter and has tooth-like projections on its surface.

141 It is now accepted that this virus infects many species including wild boar, deer, rat,
142 rabbit, ferret, mongoose and bat. Thus, Smith et al. suggested that HEV should be
143 classified into three groups which share between 54.6 and 64.4% nucleotide identity
144 and correspond to HEV infecting: A) humans, B) rats and ferrets and C) bats. Another
145 HEV that infects chickens and cutthroat trout and shares 40-50% identity with these
146 three groups may form a new additional genus (Smith et al., 2013). Group A, which is
147 mainly responsible for human infections, consists of six genotypes which have about 72-
148 82% nucleotide homology (van Cuyck et al., 2003; Bouquet et al., 2011). Genotypes 1
149 and 2 are found exclusively in humans, genotypes 3 and 4 in some mammals (humans,
150 swine, deer, mongoose, rabbits) (Takahashi et al., 2011), and finally the new genotypes
151 5 and 6 are found in rabbits and wild boar, respectively (Yugo and Meng, 2013).

152 HEV has been associated with outbreaks of enterically-transmitted acute hepatitis in
153 many Asian and African countries (Nicand et al., 2009). However, a new and emerging
154 route of transmission involves the zoonotic transmission of swine HEV strains of
155 genotype 3 and 4 (Xing et al., 2013). These HEV infections cause high mortality in
156 pregnant women (20%) in endemic areas that are mainly tropical and subtropical
157 countries (Kamar et al., 2012). The severity of the hepatitis is maximum during the 3rd
158 quarter of pregnancy, and is probably related to the active replication of the VHE (Kar
159 and al., 2008). Mortality rate in pregnant women can reach 30% during this period with
160 vertical transmission (of the mother to the child) that occurred in a third of the cases
161 and an infantile mortality rate from 10 to 15% (Kumar et al., 2004; Beniwal et al., 2003;
162 Khuroo et Kamili, 2009). These cases of fulminant or severe hepatitises in the pregnant
163 woman seem to be associated with a strong viral replication with genotype 1 (Kar et al.,
164 2008). Moreover, the rare infections with genotype 3 reported among pregnant women

165 were of mild severity during acute stage and spontaneously resolved without
166 transmission to the children (Anty et al., 2012 ; Tabatabai et al., 2014).

167 The genotype thus seems to have an effect on the clinical presentation. HEV Helicase
168 mutation within VHE genotype 1 could be markers of severity and some are associated
169 to fulminant hepatitis (Mishra et al., 2013).

170 Recently, cases of chronic hepatitis have been reported among transplant recipients and
171 patients with HIV who are severely immunocompromised, and such infections have
172 developed into more serious conditions, such as fibrosis, cirrhosis and liver failure
173 (Fujiwara et al., 2014). The high seroprevalence of HIV in West Africa underlines the
174 need to study HEV in these countries.

175 In developing countries (West Africa), over 80% of the population consumes street food,
176 which may be contaminated with pathogenic microorganisms (Barro et al., 2008).
177 Indeed, street foods are often prepared under unhygienic conditions (Bryan et al., 1988;
178 Barro, 2007) and their consumption may lead to many digestive diseases (Bryan, 1988;
179 Barro et al., 2008). Between 94% to 4.6% of individuals in West Africa are seropositive
180 for anti-HEV antibodies depending on the country (Table 2). This variation in
181 prevalence has several explanations. First, cycles of infection in humans related to poor
182 access to water exist in some countries such as those that lie south of the Sahel
183 (Nannyonga et al., 2012). Second, reservoirs in animals that are consumed for food (pigs
184 and rabbits) may account for the high prevalence in some countries (Pavio et al., 2010;
185 Wenzel et al., 2011; Liu et al., 2013). In France, the high seroprevalence of HEV in pigs
186 (65%, Rose et al., 2011), has led to HEV in food products (3-30%), which are a source of
187 human infections (Pavio et al., 2014). Pig to human transmission was confirmed by a
188 genetic analysis showing high phylogenetic similarity between human and porcine
189 strains (Bouquet et al., 2011). Pork has become an integral part of Burkinabé cuisine
190 and occupational exposure has been observed in several countries of Africa, despite the
191 relatively few clinically detectable infections (Adjei et al., 2009; Adjei et al., 2010; Kaba
192 et al., 2010; de Paula et al., 2013; Temman et al., 2013). The importance of the various
193 transmission paths should be explored in Burkina Faso because the risk of an endemic
194 situation (pig-related) developing into an epidemic one (water transmitted outbreak) is
195 probably high.

196

197 **2 Parenteral and sexual transmission**

198 Hepatitis B, C and D are responsible for general acute or chronic liver infections
199 associated with contact with infected bodily fluids (liquids and biological fluids). These
200 infections are a growing problem in countries experiencing outbreaks of HIV and those
201 with many injecting drug users. For HIV patients on antiretroviral therapy, underlying
202 viral hepatitis is a major cause of mortality (WHO,
203 http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/GHP_Framework_Fr.pdf).

204

205 **2.1. Hepatitis B virus (HBV)**

206 Belonging to the family Hepadnaviridae and classified in the genus Orthohepadnavirus,
207 HBV is a short, circular and partially double-stranded DNA virus (Blumberg et al., 1965;
208 Summers et al., 1975; Robinson et al., 1979). Its genome had two unsymmetrical DNA
209 strands: a Long strand (L) of 3.2 kb, which is invariable between the different mutants
210 and bound covalently to the viral polymerase, and a short strand (S +) of variable length
211 (Ganem et al., 1982; Gerlich et al., 1980; Molnar-Kimber et al., 1983; Bartenschlager et
212 al., 1988). Nine major genotypes of HBV, designated by letters A to I, have been
213 identified. Each group shows more than 8% variation in nucleotide sequence (Yu et al.,
214 2010; Yousif et al., 2013). A tenth genotype, "J", was found in an isolated case
215 (Tatematsu et al., 2009). The HBV genotypes are distributed according to geographic
216 area. This classification system has proved to be a valuable tool to trace the molecular
217 evolution and the spread of hepatitis B virus (Kramvis et al., 2005).

218 This virus is a major cause of cirrhosis and liver cancer and thus is responsible for one
219 of the most common human diseases in the world. Among 400 million chronic carriers
220 of hepatitis B, 78% live in Asia, 16% in Africa, 3% in South America and the remaining
221 3% are divided between Europe, North America and Oceania (Mansour, 2012). West
222 Africa has a high prevalence of HBV (> 8%) and a high rate of HBV/HIV co-infection.
223 The prevalence of HBsAg observed in West Africa varies between 8% and 15.9% (table
224 3). This high prevalence is explained by the cultural attitudes of communities in West
225 Africa (levirate, sorority, sexual rituals, scarification, piercing, and tattoos), but also by
226 poor awareness about the risk of parenteral infection and its prevention (Pietra et al.,
227 2008; Nagalo, 2012). The increase in HBV with age can be easily explained by the
228 cumulative risk of contact with the virus through parenteral and sexual contact during
229 adulthood (Pietra et al., 2008).

230 In the absence of prevention strategies, there is a high risk of vertical transmission
231 (mother-to-child). This infection is often asymptomatic among newborns who then
232 become chronic carriers (Zeba, 2013).

233 Studies investigating the molecular epidemiology of HBV genotypes circulating in West
234 Africa have shown that genotype E is the predominant genotype among those
235 circulating in Africa (genotype A, D or E) (Chekaraou et al., 2010; Mulders et al., 2004).
236 However, this finding requires further investigation given the number of strain
237 genotyped in the countries studied (only 11 HBV strains from Burkina were
238 characterized). Thus we need to take in account the recent definition of subtype or
239 geographical clusters in the genotype and the populations movement as a result of the
240 political and economic events of the past 10 years. Indeed, the prevalence of genotype A
241 varies greatly among regions in West Africa (Forbi et al., 2013; Candotti et al., 2007; Huy
242 et al., 2006; Fujiwara et al., 2005). In particular, genotype A3 from Central Africa is a
243 good marker of population movements (Makuwa et al., 2006; Forbi et al., 2013).

244

245 **2.2. Hepatitis C virus (HCV)**

246 HCV belongs to the Hepacivirus genus and the Flaviridae family (Lemon et al., 2007;
247 Choo et al., 1991). It is an enveloped virus of 50-60 nm in diameter. Its genome consists
248 of a linear single-strand RNA of positive polarity that is non-segmented and protected
249 by a capsid. Six major genotypes of hepatitis C, numbered 1 to 6 have been identified,
250 with more than 30% variations in nucleotide sequence between each group (Simmonds,
251 1995). Unlike HBV, HCV genotypes do not influence the development of the disease, but
252 they do affect the efficacy of treatment. Geographical differences are also observed in
253 the distribution of HCV genotypes (Dusheiko et al., 1994).

254 HCV is mainly transmitted parenterally (Delwaide et al., 2002) and 85% of all cases
255 occur post-transfusion. Like HBV, HCV causes cirrhosis and liver cancer and HCV/HIV
256 co-infection promotes the progression of hepatitis to cirrhosis (Benhamou et al., 1999).
257 The risk of vertical transmission of HCV is estimated to be less than 5%, but in mothers
258 co-infected with HIV, it can reach 15% to 20% (Gibb et al., 2000). Thus, despite its
259 recent discovery (Choo et al., 1991) HCV has a major impact on public health, especially
260 in HIV-infected populations (Kamel et al., 1992; Waked et al., 1995; DeWolfe et Laith,
261 2010).

262 In West Africa, the prevalence of HCV infection varies between 0.5% and 14.7% (table
263 4). In Burkina Faso, its prevalence is 2.14% with a rate of HCV/HIV co-infection of
264 0.38% among pregnant women (Zeba et al., 2011). This low prevalence, which is similar
265 to that reported by Pietra et al in 2008 and Tao et al in 2014, may be associated with
266 risk factors such as female circumcision and blood transfusion.

267 The study of HCV genotypes circulating in West Africa especially in Burkina Faso (Zeba
268 et al., 2012) has shown that genotype 2 is the most prevalent (56.3%) followed by
269 genotype 3 (15.6%). For genotype 1, the prevalence of subtype 1a is 3.1% and that of
270 subtype 1b is 9.4%. Genotype 4 is the least represented genotype with a prevalence of
271 only 3.1%. Mixed infections with two types were observed in some blood donors with a
272 prevalence of 9.4% for types 2/3 and 3.1% for types 2/4.

273

274 **2.3. Hepatitis D virus (HDV) or Delta factor**

275 The delta antigen (Ag HD) was discovered in 1977 by Rizzetto et al, in Italian patients
276 infected with hepatitis B virus (HBV). HDV is a defective virus, i.e. it depends on HBV for
277 its replication and expression. It is estimated that approximately 5% of HBV carriers are
278 co-infected with HDV, leading to an estimated 15 million people infected with HDV
279 worldwide (Farci, 2003). HDV has a circular single-strand RNA genome of negative
280 polarity and 1700 nucleotides in length. During replication, HDV produces two forms of
281 a RNA-binding protein known as the long and small delta antigens (Ag). All other
282 proteins needed for replication, especially the RNA-directed RNA polymerase activity,
283 are provided by the host cell (Taylor, 2006). HDV has the smallest viral genome (37 nm)
284 capable of infecting humans. Based on sequence similarity, HDV isolates have been
285 classified into eight genotypes, numbered I-VIII (Chang et al., 2011). Genotype I, which is
286 the most predominant genotype of those circulating in Africa (I, VII, VIII), is associated
287 with a wide spectrum of chronic HDV-related disease (Le Gal et al., 2006;
288 Foupouapouognigni et al., 2011; WHO, 2011). HDV is endemic in southern Europe, the
289 Middle East, South America, some parts of Eastern Europe and Asia, some Pacific Islands
290 and finally in Africa (Sjogren and Colichon, 1991; Rosina and Rizzetto, 2005).

291 Delta factor is transmitted in the same way as hepatitis B, by bites, transfusion,
292 tattooing, piercing and unprotected sexual contact. It occurs by co-infection with HBV or
293 by superinfection of an existing HBV carrier. Both in cases of co-infection and
294 superinfection, HDV is responsible for complications leading to more severe disease

295 than infection with HBV alone, and may lead to the rapid development of cirrhosis
296 (Smedile et al., 1994; Rizzetto, 2009). Indeed, although the delta agent limits HBV
297 replication, it substantially worsens liver disease, leading to fulminant liver disease,
298 severe liver fibrosis and cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Thus, the combination
299 of the delta agent and hepatitis B is associated with the highest mortality rate of all
300 hepatitis infections (20%) (Nagalo, 2012; Horvat and Tegtmeier, 2007). However, the
301 disease remains neglected because of its low impact in developed countries and there is
302 no vaccine. However, the delta agent requires previous or concurrent contact with the
303 hepatitis B virus (HBV); therefore, its transmission can be prevented by the HBV vaccine
304 and it can be treated by pegylated alpha interferon (with a cure rate of 20%) (Farci,
305 2003). The seroprevalence of HDV in sub-Saharan Africa is high (reaching 25% (table
306 5)). In a large nested mother-child cohort in Burkina Faso, HDV was much more
307 common in the children than in their mothers, despite the similar seroprevalence of
308 HBsAg (Andernach et al., 2014). Further studies are required to understand the
309 significance of the high variability in HDV prevalence for public health in different
310 countries in sub-Saharan Africa (Andernach et al., 2014).

311

312 **Conclusion**

313 Viral hepatitis is a major public health problem that is largely ignored in Burkina Faso.
314 Hepatitis infections are usually mild or show no symptoms in the early stages. The lack
315 of systematic screening is thus likely to lead to the spread of hepatitis in the population
316 and the increase of chronic liver disease portage. The transmission of viral hepatitis can
317 be reduced by vaccination for hepatitis A or B/D but it is not always possible because of
318 cost. Furthermore, there is currently no vaccine for hepatitis E, C, or they are not yet
319 accessible to people in Burkina Faso. Yet, these debilitating diseases have a significant
320 economic impact on this country. It will be important to improve the safety of
321 transfusions and invasive medical procedures for hepatitis A, B, C and E as well as food
322 safety to limit the transmission of hepatitis A and E.

323 Although the use of pegylated α interferon and other active molecules is recommended
324 in the treatment of chronic hepatitis, no data is available regarding their use in Burkina
325 Faso. Sero-epidemiological and molecular studies are needed to improve our knowledge
326 of these infections, to control better local factors associated with their persistence and
327 spread, and to determine an appropriate schedule for the introduction of specific

328 preventive measures. More importantly, this will allow evaluating the true relative
329 burden of the various viruses even if HBV is currently the most important risk followed
330 by HCV because of the common life long persistence of the infection. If enteric
331 transmissible virus HAV and HAV are prone to induce acute infection and in worse case
332 short time epidemic this may also largely overcome the health services at this time and
333 thus have collateral effects.

334 Finally, it will also be worthwhile to investigate the prevalence of delta infections,
335 because this will help us to assess the value of routine screening programs for blood
336 donors.

337

338 **References**

339 **Adjei AA, Aviyase JT, Tettey Y, Adu-Gyamfi C, Mingle JA, Ayeh-Kumi PF, Adiku TK,**
340 **Gyasi RK (2009).** Hepatitis E virus infection among pig handlers in Accra, Ghana. East
341 African medical journal. East Afr Med J 86(8): 359-363.

342 **Adjei AA, Tettey Y, Aviyase JT, Adu-Gyamfi C, Mingle JA, Nartey ET (2010):**
343 Unexpected elevated alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase levels and
344 hepatitis E virus infection among persons who work with pigs in Accra, Ghana. Virol J,
345 7:336.

346 **Afegbua SL, Bugaje MA, Ahmad AA (2013).** Seroprevalence of hepatitis A virus
347 infection among schoolchildren and adolescents in Kaduna, Nigeria. Trans R Soc Trop
348 Med Hyg; 107:627-30.

349 **Alter HJ (1996).** The Cloning and Clinical Implications of HGV and HGBV-C. N. Engl. J.
350 Med. 334 (23): 1536-7.

351 **Andernach IE, Hubschen JM, Muller CP (2009).** Hepatitis B virus: the genotype E
352 puzzle. Reviews in medical virology 19, 231-240.

353 **Andernach IE, Leiss LV, Tarnagda ZS, Tahita MC, Otegbayo JA, Forbi JC, Omilabu S**
354 **Gouandjika-Vasilache I, Komas NP, Mbah OP, Muller CP (2014).** Characterization of
355 hepatitis delta virus in sub-Saharan Africa. J Clin Microbiol 52(5): 1629-1636

356 **Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov**
357 **AP and Poleschuk VF (1983).** Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis
358 transmitted via the fecal-oral route. Intervirology 20(1): 23-31.

359 **Barro N (2007).** Caractéristiques, facteurs de contamination, biochimique et
360 Microbienne des aliments vendus sur la voie publique au Burkina Faso et les mesures
361 d'hygiène pour prevention des infections associées. Université de Ouagadougou. 252
362 pages

363 **Barro N, Tahita M C, Traoré O, Sangaré L, deSouza C, Traoré A S. (2008).** Risks
364 associated with practices, processes and environment of ready-to-eat and street-vended
365 foods that lead to contamination by common foodborne viruses. In Hygiene and Its Role
366 in Health. Ed. P. L. Aderson and J.P. Calhan: pp 129-153

367 **Bartenschlager R, Schaller H (1998).** The amino-terminal domain of the hepadnaviral
368 P-gene encodes the terminal protein (genome-linked protein) believed to prime reverse
369 transcription. EMBO J 7(13): 4185-4192.

370 **Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, Vidaud M,**
371 **Bricaire F, Opolon P, Katlama C, Poynard T.** Liver fibrosis progression in human
372 immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. *The Multivirc Group.*
373 *Hepatology* 1999; 30: 1054-1058

374 **Bonkougou IJ, Sanou I, Bon F, Benon B, Coulibaly SO, Haukka K, Traore AS and**
375 **Barro N (2010).** Epidemiology of rotavirus infection among young children with acute
376 diarrhoea in Burkina Faso. *BMC pediatrics.* 2010;10:94.

377 **Blumberg B S, Alter H J, Visnich S (1965).** A "New" Antigen In Leukemia Sera. *JAMA :*
378 *the journal of the American Medical Association* 191, 541-546.

379 **Bouquet J, Tesse S, Lunazzi A, Eloit M, Rose N, Nicand E and Pavio N (2011).** Close
380 similarity between sequences of hepatitis E virus recovered from humans and swine,
381 France, 2008-2009. *Emerg Infect Dis* 17(11): 2018-2025.

382 **Bryan FL (1988).** Risk associated with practices, procedures and processes that lead to
383 outbreaks of foodborne diseases. *J. Food Prot.*51: 663-673.

384 **Bryan FL, Michanie SC, Alvarez P, Paniagua A (1988).** Critical control points of street-
385 vended foods in Dominican Republic. *J. Food. Prot.* 51.373-383.

386 **Candotti D, Danso K, Allain JP (2007).** Maternofetal transmission of hepatitis B virus
387 genotype E in Ghana, West Africa. *J Gen Virol* 88(Pt 10): 2686-2695.

388 **Chancellor DD, Tyagi S, Bazaco MC, Bacvinskas S, Chancellor MB, Dato VM and de**
389 **Miguel F (2006).** Green onions: potential mechanism for hepatitis A contamination. *J*
390 *Food Prot* 69(6): 1468-1472.

391 **Chang SY, Yang CL, Ko WS, Liu WC, Lin CY, Wu CH, Su YC, Chang SF, Chen MY, Sheng**
392 **WH, Hung CC and Chang SC (2011).** Molecular epidemiology of hepatitis D virus
393 infection among injecting drug users with and without human immunodeficiency virus
394 infection in Taiwan. *J Clin Microbiol* 49(3): 1083-1089.

395 **Chekaraou MA, Bricler S, Mansour W, Le Gal F, Garba A, Deny P and Emmanuel**
396 **Gordien (2010).** A novel hepatitis B virus (HBV) subgenotype D (D8) strain, resulting
397 from recombination between genotypes D and E, is circulating in Niger along with
398 HBV/E strains. *Journal of General Virology* (2010), 91, 1609-1620.

399 **Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-**
400 **Selby R, Barr PJ, WEINER AJ, BRADLEY DW, Kuo G AND HOUGHTON M (1991).**
401 Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*
402 88(6): 2451-2455.

403 **Cobo F (2014).** Viral hepatitis. *Imported Infectious Diseases*, Pages 213-225

404 **Costa-Mattioli M, Di Napoli A, Ferre V, Billaudel S, Perez-Bercoff R, Cristina J**
405 **(2003).** Genetic variability of hepatitis A virus. *J. Gen. Virol.* 84:3191-3201.

406 **Dai X, Dong C, Zhou Z, Liang J, Dong M, Yang Y, Fu J, Tian H, Wang S, Fan J, Meng J**
407 **and Purdy MA (2013).** Hepatitis E virus genotype 4, Nanjing, China, 2001-2011. *Emerg*
408 *Infect Dis* 19(9): 1528-1530.

409 **Delwaide J, Bourgeois N, Colle I, Robaey G.** Risk factors for hepatitis C: past, present
410 and future. *Acta Gastroenterol Belg* 2002; 65: 87-89

411 **De Paula S V, Wiele M, Mbunkah A H, Daniel A M, Kingsley MT and Schmidt-**
412 **Chanasit J (2013).** Hepatitis E virus genotype 3 strains in domestic pigs, Cameroon.
413 *Emerging infectious diseases* 19, 666-668.

414 **DeWolfe MF, et Laith JAR, 2010.** Evidence of intense ongoing endemic transmission of
415 hepatitis C virus in Egypt. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*2010.
416 107(33). 14757 - 14762

417 **Desbois D, Couturier E, Mackiewicz V, Graube A, Letort MJ, Dussaix E, Roque-**
418 **Afonso AM (2010).** Epidemiology and Genetic Characterization of Hepatitis A Virus
419 Genotype IIA. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 48, No. 9, p. 3306–3315

420 **Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, McOmish F, Yap PL, Sherlock S,**
421 **McIntyre N and Simmonds P (1994).** Hepatitis C virus genotypes: an investigation of
422 type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 19(1): 13-18.

423 **Emerson SU, Anderson D, Arankalle A, Meng XJ, Purdy M, Schlauder GG, Tsarev**
424 **SA (2005):** Hepevirus; in Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA
425 (eds): *Virus Taxonomy: The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy*
426 *of Viruses*. London, Elsevier, pp 853–857.

427 **Farci P (2003).** Delta hepatitis: an update. *Journal of hepatology*. *J Hepatol* 39 Suppl 1:
428 S212-219.

429 **Feng Z, Hensley L, McKnight KL, Hu F, Madden V, Ping L, Jeong SH, Walker C,**
430 **Lanford RE, Lemon SM (2013).** A pathogenic picornavirus acquires an envelope by
431 hijacking cellular membranes. *Nature*. 496(7445):367-71.

432 **Forbi JC, Ben-Ayed Y, Xia GL, Vaughan G, Drobeniuc J, Switzer WM, and Khudyakov**
433 **YE (2013).** Disparate distribution of hepatitis B virus genotypes in four sub-Saharan
434 African countries. *J Clin Virol* 58(1): 59-66.

435 **Forbi JC, Vaughan G, Purdy MA, Campo DS, Xia GL, Ganova-Raeva LM,**
436 **Ramachandran S, Thai H, Khudyakov YE (2010).** Epidemic history and evolutionary
437 dynamics of hepatitis B virus infection in two remote communities in rural Nigeria. *PLoS*
438 *One* Vol 5 (7) pages e11615

439 **Foupouapouognigni Y, Noah DN, Sartre MT, Njouom R, 2011.** High prevalence and
440 predominance of hepatitis delta virus genotype 1 infection in Cameroon. *Journal of*
441 *clinical microbiology* 49, 1162-1164.

442 **Franco E, Meleleo C, Serino L, Sorbara D, Zaratti L (2012).** Hepatitis A: Epidemiology
443 and prevention in developing countries. *World J Hepatol* 4(3): 68-73.

444 **Fujiwara K, Tanaka Y, Orito E, Ohno T, Sugihara K, Hasegawa I, Sakurai M,**
445 **Ito K, Ozasa A, Sakamoto Y, Arita I, El-Gohary A, Benoit A, Ogoundele-Akplogan SI,**
446 **Yoshihara N, Ueda R and Mizokami M (2005).** Distribution of HBV genotypes among
447 HBV carriers in Benin: phylogenetic analysis and virological characteristics of HBV
448 genotype E. *World J Gastroenterol* 11(41): 6410-6415.

449 **Fujiwara S, Yokokawa Y, Morino K, Hayasaka K, Kawabata M and Shimizu T**
450 **(2014).** Chronic hepatitis E: a review of the literature. *J Viral Hepat* 21(2): 78-89

451 **Ganem D, Greenbaum L, Varmus HE (1982).** Virion DNA of ground squirrel hepatitis
452 virus: structural analysis and molecular cloning. *J Virol* 44(1): 374-383.

453 **GARP (GLOBAL AIDS RESPONSE PROGRESS REPORTING), 2012.** Rapport d'activités
454 sur la riposte au SIDA du Burkina Faso. P 74.

455 **Gerlich WH, Robinson WS (1980).** Hepatitis B virus contains protein attached to the 5'
456 terminus of its complete DNA strand. *Cell*. *Cell* 21(3): 801-809.

457 **Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, Healy M, Neave P, Cafferkey M, Butler K.** Mother-to-
458 child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum
459 transmission. *Lancet*. 2000;356:904–907.

460 **Horvat RT et Tegtmeier GE (2007).** Hepatitis B and D Viruses. In P. R.
461 Murray. *Ed. Manual of Clinical Microbiology* (9th Ed). Washington DC .ASM Press.

462 **Huy TT, Ishikawa K, Ampofo W, Izumi T, Nakajima A, Ansah J, Tetteh JO, Nii-Trebi**
463 **N, Aidoo S, Ofori-Adjei D, Sata T, Ushijima H and Abe K (2006).** Characteristics of
464 hepatitis B virus in Ghana: full length genome sequences indicate the endemicity of
465 genotype E in West Africa. *J Med Virol* 78(2): 178-184.

466 **Kaba M, Colson P, Musongela JP, Tshilolo L, Davoust B (2010).** Detection of hepatitis
467 E virus of genotype 3 in a farm pig in Kinshasa (Democratic Republic of the Congo).
468 *Infect Genet Evol* 10(1): 154-157.

469 **Jacobsen KH (2014).** Hepatitis A virus in West Africa: Is an epidemiological transition
470 beginning? *Niger Med J*. 2014 Jul-Aug; 55(4): 279-284.

471 **Jacobsen KH, Koopman JS (2004).** Declining hepatitis A seroprevalence: A global
472 review and analysis. *Epidemiol Infect.* 2004;132:1005-22.

473 **Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Xia NS, Ijaz S, Izopet J and Dalton HR**
474 **(2012).** Hepatitis E. *Lancet* 379(9835): 2477-2488.

475 **Kamel MA, Ghaffar YA, Wasef MA, Wright M, Clark LC, Miller FD (1992).** High HCV
476 prevalence in Egyptian blood donors. *Lancet* 340(8816): 427.

477 **Karoney MJ, Siika AM (2013).** Hepatitis C virus (HCV) infection in Africa: a review. *Pan*
478 *Afr Med J* Vol 14. 8 pages.

479 **Kramvis A, Kew M, Francois G (2005).** Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 23(19):
480 2409-2423.

481 **Liu P, Bu QN, Wang L, Han J, Du RJ, Lei YX, Ouyang YQ, Li J, Zhu YH, Lu FM and**
482 **Zhuang H (2013).** Transmission of hepatitis E virus from rabbits to cynomolgus
483 macaques. *Emerg Infect Dis* 19(4): 559-565.

484 **Lu L, Ching KZ, de Paula VS, Nakano T, Siegl G, Weitz M, Robertson BH (2004).**
485 Characterization of the complete genomic sequence of genotype II hepatitis A virus
486 (CF53/Berne isolate). *J. Gen. Virol.* 85:2943-2952.

487 **MacLean B, Hess RF, Bonvillain B, Kamate J, Dao D, Cosimano A, Hoy S (2012).**
488 Seroprevalence of hepatitis B surface antigen among pregnant women attending the
489 Hospital for Women & Children in Koutiala, Mali. *S Afr Med J*;102:47-49.

490 **Mansour W (2012).** Prévalence et diversité génétique des souches HBV et HDV
491 circulant au niger et en mauritanie. Université Angers. P 231.

492 **Matthews PC, Gerettic MA, Goulder PJR, Klenermana P (2014).** Epidemiology and
493 impact of HIV coinfection with Hepatitis B and Hepatitis C viruses in Sub-Saharan Africa.
494 *Journal of Clinical Virology.* 61; 20-33

495 **Meldal BH, Sarkodie F, Owusu-Ofori S, Allain JP (2012):** Hepatitis E virus infection in
496 Ghanaian blood donors - the importance of immunoassay selection and confirmation.
497 *Vox Sanguinis* 2012, 104:30-36.

498 **Miller FD, Abu-Raddad LJ (2010).** Evidence of intense ongoing endemic transmission
499 of hepatitis C virus in Egypt. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(33): 14757-14762.

500 **Molnar-Kimber KL, Summers J, Taylor JM, Mason WS (1983).** Protein covalently
501 bound to minus-strand DNA intermediates of duck hepatitis B virus. *J Virol* 45(1): 165-
502 172.

503 **Mulders MN, Venard V, Njayou M, Etorh AP, Bola Oyefolu AO, Kehinde MO,**
504 **Muyembe Tamfum JJ, Nebie YK, Maiga I, Ammerlaan W, Fack F, Omilabu SA, Le**
505 **Faou A and Muller CP (2004).** Low genetic diversity despite hyperendemicity of
506 hepatitis B virus genotype E throughout West Africa. *J Infect Dis* 190(2): 400-408.

507 **Nagalo BM (2012).** Sécurité transfusionnelle au Burkina Faso: Séroprévalence et
508 incidence des virus de l'immunodéficience humaine (VIH), des hépatites B et C (VHB et
509 VHC) et de *Treponema pallidum* chez les donneurs de sang. Université de Ouagadougou.
510 176p.

511 **Nagalo BM, Bisseye C, Sanou M, Kienou K, Nebie YK, Kiba A, Dahourou H, Ouattara**
512 **S, Nikiema JB, Moret R, Zongo JD and Simpore J (2012).** Seroprevalence and
513 incidence of transfusion-transmitted infectious diseases among blood donors from
514 regional blood transfusion centres in Burkina Faso, West Africa. *Trop Med Int Health*
515 17(2): 247-253.

516 **Nannyonga B, Sumpter DJ, Mugisha JY, Luboobi LS (2012).** The dynamics, causes and
517 possible prevention of Hepatitis E outbreaks. *PLoS One* 7(7): e41135.

518 **Nicand E, Bigaillon C, Tesse S (2009).** [Hepatitis E: an emerging disease?]. *Pathol Biol*
519 (Paris) 57(2): 203-211.

520 **Nkrumah B, m. Owusu M, Frempong HO, Averu P (2011).** Hepatitis B and C viral
521 infections among blood donors from rural Ghana. *Ghana Medical Journal*. Vol 45, N° 3.
522 97-100.

523 **Ola SO, Odaibo GN, Olaleye OD, Ayoola EA (2012).** Hepatitis B and E viral infections
524 among Nigerian healthcare workers. *Afr J Med Med Sci*, 41:387-391.

525 **Otta JJ, Stevens GA, Groegerb J, Wiersmaa ST (2012).** Global epidemiology of
526 hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and
527 endemicity. *Vaccine* 30. 2212- 2219

528 **Overton ET, Nurutdinova D, Sungkanuparph S, Seyfried W, Groger RK, Powderly**
529 **WG (2007).** Predictors of immunity after hepatitis A vaccination in HIV-infected
530 persons. *J Viral Hepat*, 14:189-193.

531 **Pavio N, Meng XJ, Renou C (2010).** Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and
532 emerging risks. *Vet Res* 41(6): 46.

533 **Pavio N, Merbah T, Thébault A (2014).** Frequent Hepatitis E Virus Contamination in
534 Food Containing Raw Pork Liver, France. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 20, No. 11,
535 1925-1927.

536 **Pietra V, Kiema D, D. Sorgho D, Kabore SPCG, Mande S, Castelli F, Puoti M, Simpore**
537 **J (2008).** Prévalence du virus de l'hépatite B et des anticorps contre l'hépatite C parmi
538 le personnel du District Sanitaire de Nanoro, Burkina Faso. *Science et Technique*. 31:53-
539 59.

540 **Poda SH (2010).** Séroprévalence du virus de l'hépatite A (VHA) chez les femmes
541 enceintes venant en consultation prénatale dans le centre médical de Samadin.
542 Université de Ouagadougou. 50p

543 **Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST (2012).** The global
544 burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology* 55(4): 988-997.

545 **Rezig D, Ouneissa R, Mhiri L, Mejri S, Haddad-Boubaker S, Ben Alaya N and Triki H**
546 **(2008).** [Seroprevalences of hepatitis A and E infections in Tunisia]. *Pathol Biol* (Paris)
547 56(3): 148-153.

548 **Rizzetto M, Canese M G, Aricò S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, and Verme G (1997).**
549 Immunofluorescence detection of new antigenantibody system (delta/anti-delta)
550 associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut*.18.997-1003.

551 **Rizzetto M, 2009.** Hepatitis D: thirty years after. *Journal of hepatology* 50, 1043-1050.

552 **Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OV, Siegl G, Widell A,**
553 **Margolis HS, Isomura S, Ito K, Ishizu T, Moritsugu Y and Lemon SM (1992).** Genetic

554 relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J*
555 *Gen Virol* 73 (Pt 6): 1365-1377.

556 **Robinson WS, Clayton DA, Greenman RL (1974).** DNA of a human hepatitis B virus
557 candidate. *J Virol* 14(2): 384-391.

558 **Roque-Afonso AM, Mackiewicz V, Dussaix E (2006).** Hepatitis A virus: an update.
559 *Immunoanalyse et biologie spécialisée*. 21:202-209.

560 **Rose N, Lunazzi A, Dorenlor V, Merbah T, Eono F, Eloit M, Madec F, Pavio N. (2011).**
561 High prevalence of hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comp Immunol Microbiol*
562 *Infect Dis.*34:419–27.

563 **Rosina F, Rizzetto M,** 2005. Epidemiology and natural history of hepatitis D. In: Thomas
564 HC, Lemon SM, and Zuckerman AJ. pp 583 Eds. *Viral hepatitis*. Third ed. Oxford, UK:
565 Blackwell.2005.

566 **Schwarze-Zander C, Blackard JT, Rockstroh JK (2012).** Role of GB virus C in
567 modulating HIV disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 10(5): 563-572.

568 **Simmonds P (1995).** Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 21(2): 570-583.

569 **Simpore J, Ouermi D, Ilboudo D, Kabre A, Zeba B, Pietra V, Pignatelli S, Nikiema JB,**
570 **Kabre GB, Caligaris S, Schumacher F and Castelli F (2009).** Aetiology of acute
571 gastro-enteritis in children at Saint Camille Medical Centre, Ouagadougou, Burkina Faso.
572 *Pak J Biol Sci* 12(3): 258-263.

573 **Sjogren MH, Colichon A (1991).** Hepatitis B and delta hepatitis infection in Peru.
574 *Progress in clinical and biological research* 364, 97-104.

575 **Smedile A, Rizzetto M, Gerin JL (1994).** Advances in hepatitis D virus biology and
576 disease. *Progress in liver diseases* 12, 157-175.

577 **Smith DB, Purdy MA, Simmonds P (2013).** Genetic variability and the classification of
578 hepatitis E virus. *J Virol* 87(8): 4161-4169.

579 **Sule WF, Kajogbola AT, Adewumi MO (2013).** High prevalence of anti-hepatitis A
580 virus immunoglobulin G antibody among healthcare facility attendees in Osogbo,
581 Nigeria. *J Immunoassay Immunochem.* 34:75–82.

582 **Summers J, O'Connell A, Millman I (1975).** Genome of hepatitis B virus: restriction
583 enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles. *Proc Natl Acad Sci*
584 *U S A* 72(11): 4597-4601.

585 **Takahashi M, Tanaka T, Takahashi H, Hoshino Y, Nagashima S, Jirintai, Mizuo H,**
586 **Yazaki Y, Takagi T, Azuma M, Kusano E, Isoda N, Sugano K, Okamoto H (2010).**
587 Hepatitis E Virus (HEV) strains in serum samples can replicate efficiently in cultured
588 cells despite the coexistence of HEV antibodies: characterization of HEV virions in blood
589 circulation. *J Clin Microbiol* 48(4):1112-25.

590 **Takahashi M, Nishizawa T, Sato H, Sato Y, Jirintai, Nagashima S and Okamoto H**
591 **(2011).** Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a
592 wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *J Gen Virol* 92(Pt 4): 902-
593 908.

594 **Tao I, Compaore TR, Diarra B, Djigma F, Zohoncon TM, Assih M, Ouermi D, Pietra**
595 **V, Karou SD, Simpore J (2014).** Seroepidemiology of hepatitis B and C viruses in the
596 general population of Burkina Faso. *Hepat Res Treat*, 5 pages.

597 **Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T,**
598 **Wakuta M, Miyakawa Y and Mizokami M (2009).** A genetic variant of hepatitis B

599 virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient
600 and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol* 83(20): 10538-10547.

601 **Taylor JM (2006).** Hepatitis delta virus. *Virology*. 344:71–6.

602 **Tedaldi EM, Baker RK, Moorman AC, Wood KC, Fuhrer J, McCabe RE, Holmberg SD,**
603 **HIV Outpatient Study Investigators (2004).** Hepatitis A and B vaccination practices
604 for ambulatory patients infected with HIV. *Clin Infect Dis*, 38:1478–1484.

605 **Temmam S, Besnard L, Andriamandimby SF, Foray C, Rasamoelina-Andriamanivo**
606 **H, Héraud JM, Cardinale E, Dellagi K, Pavio N, Pascalis H, Porphyre V (2013).** High
607 Prevalence of Hepatitis E in Humans and Pigs and Evidence of Genotype-3 Virus in
608 Swine, Madagascar. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 88(2), pp. 329–338

609 **Traore KA, Rouamba H, Nebie Y, Sanou M, Traore AS, Barro N and P. Roques**
610 **(2012).** Seroprevalence of fecal-oral transmitted hepatitis A and E virus antibodies in
611 Burkina Faso. *PLoS One* 7(10): e48125.

612 **van Cuyck H, Juge F, Roques P (2003).** Phylogenetic analysis of the first complete
613 hepatitis E virus (HEV) genome from Africa *FEMS Immunol Med Microbiol* 39(2): 133-
614 139.

615 **Waked IA, Saleh SM, Moustafa MS, Raouf AA, Thomas DL, Strickland GT (1995).**
616 High prevalence of hepatitis C in Egyptian patients with chronic liver disease. *Gut* 37(1):
617 105-107.

618 **Weinman SA, Taylor R (2014).** Viral Hepatitis. *Pathobiology of Human Disease*, Pages
619 1838-1856

620 **Wenzel JJ, Preiss J, Schemmerer M, Huber B, Plentz A, Jilg W (2011).** Detection of
621 hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence
622 homology to human HEV isolates. *J Clin Virol* 52(1): 50-54.

623 **WHO (2001).** Hepatitis Delta. Global Alert and Response (GAR).
624 http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisD_who.cdscsrncs2001_1.pdf?ua=1

625 **WHO (2004).** Hepatitis B vaccines. *Weekly epidemiological record*.79. 255-263.
626 <http://www.who.int/wer/2004/en/wer7928.pdf>

627 **WHO (2009).** Hépatites virales. [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB126/](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB126/B126_15-fr.pdf)
628 [B126_15-fr.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB126/B126_15-fr.pdf)

629 **WHO (2010).** Hépatites virales. [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_15-fr.pdf)
630 [A63_15-fr.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_15-fr.pdf)

631 **WHO (2012).** Prévention et lutte contre l'hépatite virale : Cadre pour l'action mondiale.
632 http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/GHP_Framework_Fr.pdf

633 **Yessé ZN, Thérèse KAB, Serge OA, Everalí A, Guillaume LY (2010).** Seroprevalence
634 and risk factors of hepatitis A virus among school children from different socioeconomic
635 status in Abidjan, Cote d'Ivoire. *J Med Medical Sci*. 1:65–70.

636 **Yousif M, Mudawi H, Bakhiet S, Glebe D, Kramvis A (2013).** Molecular
637 characterization of hepatitis B virus in liver disease patients and asymptomatic carriers
638 of the virus in Sudan. *BMC Infect Dis* 13: 328.

639 **Yu H, Yuan Q, Ge SX, Wang HY, Zhang YL, Chen QR, Zhang J, Chen PJ and Xia NS**
640 **(2010).** Molecular and phylogenetic analyses suggest an additional hepatitis B virus
641 genotype "I". *PLoS One* 5(2): e9297.

642 **Yugo DM, Meng XJ (2013).** Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic
643 transmission. *Int J Environ Res Public Health* 10(10): 4507-4533.

644 **Zeba MT (2013).** Co-infection des hépatites B et C au Burkina Faso : Prévalence,
645 marqueurs viraux et caractérisation moléculaire. Université de Ouagadougou.
646 2013.143p.

647 **Zeba MT, Karou SD, Sagna T, Djigma F, Bisseye C, Ouermi D, Pietra V, Pignatelli S,**
648 **Gnoula C, Sia JD, Moret R, Nikiema JB and Simpore J (2011).** HCV prevalence and co-
649 infection with HIV among pregnant women in Saint Camille Medical Centre,
650 Ouagadougou. Trop Med Int Health 16(11): 1392-1396.

651 **Zeba MT, Sanou M, Bisseye C, Kiba A, Nagalo BM, Djigma FW, Compaore TR, Nebie**
652 **YK, Kienou K, Sagna T, Pietra V, Moret R and Simpore J (2012).** Characterisation of
653 hepatitis C virus genotype among blood donors at the regional blood transfusion centre
654 of Ouagadougou, Burkina Faso. Blood Transfus: 1-5.

655

656

657

658

659

660

661

662

663

664

665

666

667

668

669

670

671

672

673

674

675

676

677

678

679

680

681

682 **Table 1. Seroprevalence HAV in West Africa**

683

Country	Location	Citation	Study Year	Seroprevalence Data		Sample Size	Population /Comments
				Age group	% IgG		
Burkina	Ouagadougou	Traore, 2012	2010-2012	≤25	14,	49	Urban blood donors
				26-35	18,75	32	
				≥36	30	10	Urban pregnant women
				-----	23	100	
		Poda, 2010	2010	-----	32,8	125	Urban pregnant women
Nigeria	Osogbo, Osun State	Sule, 2013	2010-2011	≤15	100	2	Outpatients
				16-25	100	30	
				26-45	98	47	
				≥46	100	12	
	Kaduna	Afegbua, 2013	2009	0-5	30	10	School children and adolescents
			6-10	8,6	128		
			11-15	4,6	218		
				16-20	10,6	47	
Côte d'Ivoire	Abidjan	Yessé, 2010	2002-2003	3-5	40	63	Urban outpatients children with mild illnesses
				6-10	94	124	
				11-15	94	83	
				16-18	84	37	
Sierra Leone	Freetown	Hodges, 1998	-----	6-12	97	66	Urban school children
Cameroon	Manyemen, Sud-Ouest]	Ndumbe, 1994	1991-1992	14-19	87	68	rural pregnant women
				20-29	93	104	
				30-39	91	162	
				40-48	94	38	

684

685

686

687

688

689

690

691

692

693

694

695

696

697

698

699

700

701
702
703

Table 1

Country	Location	Citation	Study Year	Seroprevalence Data		Sample Size	Population /Comments
				Age group	% IgG		
Guinea	Kindia Region	Ivanov, 1990	1987-1988	1-5	75	4	healthy urban and rural residents
				6-10	82	39	
				11-15	74	50	
				16-20	84	82	
				21-30	74	242	
				31-40	57	189	
				41-50	61	101	
				51-60	41	27	
	61-70	19	16				
	≥71	18	17				
Cape Verde	Santa Cruz, Santiago	Sixl, 1987	1982-1983	-----	29	380	patients with acute fevers; methods not reported
Liberia	Grand Cape Mount County	Prince, 1985	1978-1979	≤20	39	98	Rural mothers of preschool children
				21-30	36	248	
				31-40	24	82	
				≥41	33	12	
Senegal	Casamance (Now Ziguinchor) and Fleuve regions	Baylet, 1981	-----	0-4	66	56	rural communities
				5-9	95	116	
				10-14	100	75	
				≥15	96	266	
Gambia	Fajara, Banjul division	Ajdukiwicz, 1979	-----	1-2	7	14	Patients without liver disease
				3	43	29	
				5	56	21	
				10	60	32	
				15	82	53	
				20	73	22	
				30	38	15	
	≥40	37	21				

704
705
706
707
708
709
710
711
712

The data regarding prevalence of IgG-anti-HAV is adapted from Jacobsen et al. (2014)

713
714

Table 2. Seroprevalence HEV in West Africa

Country	Location	Citation	% IgG anti-HEV	Sample demographics	Sample size	Year of Sampling
Burkina Faso	Ouagadougou	Traore, 2012	19,1	Blood donors	178	2010-2012
			11,6	Pregnant women	189	
Cameroon	Northwest Province of the country	Feldt, 2013	14,2	HIV infected adults	289	2009-2010
			2	HIV infected children	100	
Ghana	Accra	Adjei, 2009	28,7	Pregnant women	157	2008
		Meldal, 2012	4,6	Blood donors	239	2012
Nigeria	Ibadan	Ola, 2012	43	Health care workers	88	2008-2009
			94	Control healthy adults	44	
Cote d'ivoire	Abidjan	Rioche, 1997	27	hospitalized patients non-A, non-B and non-C viral hepatitis	111	-----

715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734

The data regarding prevalence of IgG-anti-HEV is adapted from Jong-Hoon et al. (2014)

735

736 **Table 3. Seroprevalence HBV in West Africa**

737

Country	Location	Citation	Study Year	Seroprevalence Data		Sample Size	Population /Comments	
				Age group	% HBsAg			
Burkina	Ouagadougou	Tao, 2014	----	≤20	12,25	155	General population	
				21-30	15,92	358		
				31-40	16,33	251		
				41-50	11,27	133		
				≥50	12,24	98		
		Ouagadougou	Ilboudo, 2010		19-41	12,2	115	Pregnant women HIV+
		Ouagadougou	Sangare, 2009	2005	15-20	8,82	68	Pregnant women
				21-30	13,88	180		
				31-40	7,27	55		
				41-50	0	4		
Senegal	Dakar	Diop-Ndiaye, 2008	----	16-66	16,8	363	HIV infected patients	
	Dakar	Touré-Fall, 2009	2003-2005	-----	9,97	42503	Blood donors	
	Dakar	Diop, 2009	2003	27,7 age median	11,7	3001	Blood donors	
Niger	Niamey	Mayaki, 2013	2010		15,4	3213	Blood donors	
	Niamey	Mamadou, 2006	-----	-----	19,2	529	Female sex workers	
Mali	Segou	Koné, 2012	2007-2010	-----	5,3	2946	Blood donors	
	Koutiala, southeastern Mali	MacLean, 2011	2008-2009	-----	8	3659	Pregnant women	
	Bamako	Toukara, 2009	2001-2002	-----	14,9	11592	Blood donors	
Benin	Northern region	De Paschale,	2011	-----	15,5	283	Pregnant women	

738

739

740

741

742

743

744

745

746

747

748 **Table 3**

749

Country	Location	Citation	Study Year	Seroprevalence Data		Sample Size	Population /Comments
				Age group	% HBsAg		
Ghana	Accra	Sagoe, 2012	-----	≥18	13	138	HIV infected patients
				11-19	13,33	135	VBD Voluntary blood donors
				20-29	13,9	308	
	30-39	0,9	107				
	Tamale, Northern Region	Dongdem, 2012	2009	40-49	0	26	RBD Replacement blood donors
				11-19	14,07	270	
				20-29	14,14	2877	
				30-39	9,13	2081	
				40-49	7,4	540	
50-59	3,89	77					
Nigeria	Benue State	Anigilaje, 2013	2008-2012	7.53 ± 4.23	7,8	395	HIV-infected children
	-----	Ladep, 2013	2004-2010	-----	20,4	19408	Adults recruited by AIDS Prevention Initiative
Cameroon	Douala	Moukoko, 2014	2012	-----	3,5	467	Blood donors
	---	Laurent, 2010	-----	-----	10,1	169	HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy
Côte d'Ivoire	Abidjan	Attia, 2012	2006	>18	13,4	491	Untreated HIV-infected adults
Guinea Conakry	Kindia	Loua, 2004	1999-2000	18-60	11,3	6401	Blood donors
Guinea-Bissau	Bissau	Honge, 2014	2011	-----	16,3	576	HIV infected patients
Gambia	Banjul	Jobarteh, 2010	-----	-----	12,2	572	HIV infected patients

750

751 The data regarding prevalence of HBsAg is adapted from Matthews et al. (2014)

752

753

754

755

756

757

758 **Table 4. Seroprevalence HCV in West Africa**

759

Country	Location	Citation	Study Year	Seroprevalence Data		Sample Size	Population /Comments
				Age group	% anti-HCV		
Burkina	Ouagadougou	Tao, 2014	----	20-50	1	995	General population
	Ouagadougou	Zeba, 2011	-----	16-45	2,14	607	Pregnant women
Senegal	Dakar	Diop-Ndiaye, 2008	----	16-66	1,6	363	HIV infected patients
	Dakar	Touré-Fall, 2009	2003	-----	1,18	12245	Blood donors
	Dakar	Seck, 2014	2011	18-80	5,6	106	Hemodialysis Patients
Mali	Segou	Koné, 2012	2007-2010	-----	0,55	2946	Blood donors
Niger	Niamey	Mayaki, 2013	2010	-----	1,18	3213	Blood donors
Benin	Northern region	De Paschale, 2014	2011	-----	7,4	283	Pregnant women
Ghana	Asante Akim, Ashanti Region	Nkrumah, 2011	2006-2008	17-60	7	1026	Blood donors
	Accra	Sagoe, 2012	-----	≥18	3,6	138	HIV infected patients
Nigeria	Lagos	Balogun, 2012	----	-----	2,1	334	Blood donors
		Balogun, 2012	-----	-----	14,7	102	HIV infected patients
	-----	Ladep, 2013	2004-2010	≥15	11,3	19408	General population
Cameroon	Douala	Moukoko, 2014	2012	-----	1,3	467	Blood donors
	-----	Laurent, 2010	----	-----	16,6	169	HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy
Guinea-Bissau	Bissau	Honge, 2014	2011	-----	1,7	576	HIV infected patients
Gambia	Banjul	Jobarteh, 2010	-----	-----	0,9	572	HIV infected patients
	Banjul	Mboto, 2010	2002	-----	1,6	1500	General population

760

761 The data regarding prevalence of anti-HCV is adapted from Matthews et al. (2014)

762

763

764

765

766 **Table 5. Seroprevalence HDV in West Africa**

767

Country	Location	Citation	Study Year	Seroprevalence Data	Sample Size	Population /Comments
				% anti-HDV		
Burkina	Bobo-Dioulasso	Andernach, 2014	2001	2,5	40	Mothers
	Bobo-Dioulasso	Andernach, 2014	2001	20,5	44	Children
	Houndé	Andernach, 2014	2007	0	49	Pregnant women
Tchad	Military camp	Andernach, 2014	2007	0	14	Military personnel (HBsAg+)
Ghana	Accra	Asmah, 2014	-----	11,3	53	HBsAg-positive patients
Nigeria	Enugu	Nwokediuko, 2009	2006	12,5	96	HBsAg-positive patients
	Abuja, Nasarawa state	Andernach, 2014	2006	12,3	326	HBsAg+
	Ibadan	Andernach, 2014	2006	1,3	78	Liver patients
	Lagos	Andernach, 2014	2004	6,7	45	Liver patients
Senegal	Dakar	Vray, 2006	2003	31	29	chronic hepatitis B patients
	Dakar	Diop-Ndiaye, 2008	----	3	61	HIV / HBsAg+
Guinea-Bissau	Bissau	Honge, 2014	2011	25	62	HIV/HBV infected patients
Benin	Northern region	De Paschale, 2014	2011	11,4	44	Pregnant women (HBsAg+)

768

769

770

771

ANNEXE 2 : Questionnaire comportement population générale

Fiche de prélèvement pour recherche de HAV/HEV

Service notifiant :

CODE. : FICHE :

Information sur le patient

Nom de famille : _____ Prénom : _____

Adresse : mail : _____ Tel : _____ secteur : _____

Date de naissance : ___/___/___ (jour/mois/année) Sexe : M F (encercler)

Origine : Ville /___/ Village/___/

Renseignement épidémiologiques

1. Type d'eau : eau robinet/___/ eau lafi/___/ eau puits/___/ eau forage/___/
eau pluie /___/ eau pompe/___/ autres jus locaux /___/

2. Activités relatives aux baignades : piscine/___/ rivière/___/

3. Légumes-Fruits : consommez-vous des légumes ? oui/___/ non/___/

Consommez-vous des fruits ? oui/___/ non/___/

4. Tubercules(Fabirama):consommez-vous des tubercules ? oui/___/ non/___/

5. Herbes (laitue) : consommez-vous de la salade ? oui/___/ non/___/

si oui; domicile/___/ hors domicile/___/

6. Viandes : consommez-vous de la viande ? oui/___/ non/___/

si oui; quels types de viande ? _____

quelles parties consommez-vous régulièrement ?

foie/intestin/rate/chair/autres (encercler)

7. Autres aliments : dèguê/___/ faro-gonré/___/ autres/___/

8. Hygiènes des mains : lavez-vous les mains avant chaque repas ? oui/___/ non/___/

Si oui; avec savons/___/ sans savon/___/

9. Repas : communs/___/ individuel/___/

10. Niveau d'instruction : primaire/___/ secondaire/___/ université/___/
autres/___/

11. Statut : étudiant /___/ travailleur/___/ retraité/___/

12. Revenu : journalier/___/ quotidien/___/ mensuel/___/

13. Habitat : habitez-vous dans une cour commune oui/___/ non/___/

Si oui; bac à ordures communs/___/ toilettes communes/___/

Si non; quels types de logements ? _____

-Notion d'épidémie : /___/

-Contact avec un cas confirmé : /___/

-Contact avec des enfants de moins de trois ans : /___/

Renseignement cliniques

-Vaccination hépatites A : oui/___/ non/___/

-Autres affection (préciser) : _____

RESULTAT : -----

Personne remplissant le formulaire :

Nom : _____ Signature : _____

Date : ___/___/___ (jour/mois/année) Tel : _____

ANNEXE 3 : Questionnaire population à risque

Questionnaire de recensement 2

N°

Date : _____ Heure : _____ - Coordonnées GPS

Nom de l'entreprise : _____ Secteur/Quartier : _____ N° phone :

Renseignement sur l'entreprise

1) Depuis quand exercez-vous ce métier de vente ? _____

2) Nombre de personnes ? _____

3) Quels sont vos jours de travail ? _____

4) Quelles sont vos heures de vente ? _____

5) Sources d'approvisionnements (viande et assaisonnement) ?

6) Nature des produits vendus ? _ _ _ _ _

Viande : _____ abats (foie, intestins, etc.) _____

CUIT : oui _____ non _____ CRUE : oui _____ non _____

7) Nombre de carcasse vendus par jour ? _ _ _ _ _

8) Comment Découpez vous le produit ? _____

Temps de cuisson : _ _ _ _ _

9) Avez-vous déjà eu des accidents sur le site vente (coupures...) _____

Si oui, lesquels ? _____

10) Que mangiez en général lors de vos services de vente ? _____

11) Consommez-vous régulièrement votre viande ou les restes du produit vendu ?

viande bien cuite oui - non

foie oui non - bien cuit oui - non

**tous les jours, deux à quatre fois par semaine , une fois par semaine , moins

12) Avez-vous une carte professionnelle ? _____

13) Êtes-vous tombé malade récemment ? _____

Si non, avez-vous déjà souffert de jaunisse ? _____

Si oui, de quoi souffrez vous ? De jaunisse _____ problème gastrique _____ autre _____

14) Avez-vous déjà été en Contact avec un cas confirmé (ayant la jaunisse) _____

15) Votre Age :

Personne remplissant le formulaire : (Enquêteur)

Nom : _____

Signature : _____

ANNEXE 4 : consentement éclairé et questionnaire enquête vendeur porc au four.

Questionnaires de consentement éclairé

Enquêtes épidémiologiques sur les maladies transmises par les aliments

Note de demande de consentement (forme résumée)

Bonjour je suiset je viens dans le cadre d'une étude commandité par le laboratoire de Biologie Moléculaire et d'Épidémiologie des infections bactériennes et virales à l'Université en collaboration avec le CRST/O et l'Université paris-sud 11. Il y a certainement des maladies d'origine alimentaire notamment les hépatites virales E et A dans notre population et nous travaillons pour connaître les aspects épidémiologiques des virus responsable de ces deux affections, afin de prévenir ces maladies. Nous savons que vous pouvez contribuer à nous aider dans cette lutte par votre collaboration. Nous aimerons vous poser quelques questions sur votre situation sociodémographique et sur votre activité de préparateur vendeur d'aliments prêts à être consommés vendus dans la voie publique. Nous demanderons aussi vos connaissances sur les maladies d'origines alimentaires et sur vos habitudes alimentaires. Ces questions réponses ne prendront que quelques minutes ? Et nous garantissons la confidentialité de votre identité dans le traitement des réponses, marquez-vous votre accord ?

Si non : pourquoi ? _____

Opérateur interviewé ? Vendeur /___/ Préparateur /___/

I. Caractéristique sociodémographique (voir fiche n°2)

Date : _____ Heure : _____ - Coordonnées GPS

N°

Nom de l'entreprise : _____ Secteur/Quartier : _____ Age _____

Vous pouvez ? (Cocher O pour " oui ", N pour " non " et ND pour " ne savent pas, ne peut pas se souvenir, pas ' sûr etc.

Présence de latrine O/_/ N/_/

II : L'eau

Origine de l'eau utilisée dans votre entreprise O N ND

Robinet Municipal /_/ /_/ /_/

Puits privé /_/ /_/ /_/

Eau de surface non traité : Rivière, lac, étang /_/ /_/ /_/

Eau minérale /_/ /_/ /_/

Puits local /_/ /_/ /_/

Eau de forage /_/ /_/ /_/

Autres /_/ /_/ /_/

Comment l'eau est stockée dans votre entreprise ?

Seau /_/ /_/ /_/

Large bassine /_/ /_/ /_/

Baril /_/ /_/ /_/

Canarie /_/ /_/ /_/

Fût plastique /_/ /_/ /_/

Conditions d'hygiène : combien de fois par jour vous nettoyez les récipients de stockage d'eau : 1X /_/ 2X /_/ 3X /_/ tous les 2j /_/

Utilisez des désinfectants O /_/ N /_/ ; si oui lesquels _____

III : Environnement de préparation et de vente

Aire de vente O N

Présence de déchets sur le sol /_/ /_/

Eau stagnante, /_/ /_/

Animaux /_/ /_/

Insectes /_/ /_/

Poubelle /_/ /_/

Fréquence d'enlèvement des déchets O N

Plusieurs fois par jour	/_/	/_/
1 fois /j	/_/	/_/
Etat de la Cuisine	OUI	NON
Chat et chiens errants dans les environs	/_/	/_/
Crottes de rongeurs dans restaurant	/_/	/_/
Présence de nombreux insectes (Fourmies, cafards)	/_/	/_/
Nettoyage des équipements de la cuisine	/_/	/_/
IV : Hygiène et propreté du personnel	OUI	NON
Hygiène corporelle,	/_/	/_/
Usage de bijoux	/_/	/_/
Uniformes et vêtements	/_/	/_/
Usage de chaussures fermées	/_/	/_/
Tablier,	/_/	/_/
Usage de chapeau ou foulard	/_/	/_/
V : Hygiène des mains	OUI	NON
Lavage de la main	/_/	/_/
Les mains sont souvent lavées	/_/	/_/
Les mains sont lavées après activités différentes,	/_/	/_/
Tousser et éternuer sur nourriture	/_/	/_/
L'usage approprié de gants jetables	/_/	/_/
Mains et ongles propres	/_/	/_/
Comment vous lavez les mains	OUI	NON
Eau propre	/_/	/_/
Savon	/_/	/_/
Nettoyage avec serviette	/_/	/_/
Solution de désinfectant	/_/	/_/
Quand lavez-vous les mains ?		
Touchant l'argent	/_/	/_/
Manipulation de la poubelle	/_/	/_/
Se mouchant	/_/	/_/
Après usage des toilettes	/_/	/_/

Manipulation des produits crus	/_/	/_/
Grattage du corps	/_/	/_/
Après avoir été en contact avec une foule	/_/	/_/
Après avoir touché l'argent	/_/	/_/
Après avoir utilisé un ordinateur	/_/	/_/

VI : l'État de santé des vendeurs de la nourriture de la rue

Pour quelle maladie le personnel est exclu de la chaîne de service ?

	O	N	ND
Fièvre	/_/	/_/	/_/
Toux	/_/	/_/	/_/
Diarrhée	/_/	/_/	/_/
Nausée	/_/	/_/	/_/
Vomissement	/_/	/_/	/_/
Maux d'yeux	/_/	/_/	/_/
Douleur de ventre	/_/	/_/	/_/
Personne malade de la famille	/_/	/_/	/_/
Infection respiratoire et de la peau	/_/	/_/	/_/

VII : Pratiques de manipulation des aliments par les vendeurs

Où payez-vous les matières premières (ingrédients) ? _____

Production locale	O /_/ N /_/
Importé	O /_/ N /_/

Quel moyen de transport utilisez-vous pour les transporter ?

Vélo /_/ Moto /_/ voiture /_/ pied /_/ charrette /_/

Critères d'achat des condiments ?	OUI	NON
Prix	/_/	/_/
Fraîcheur	/_/	/_/
Propreté	/_/	/_/
Volume	/_/	/_/
Renommé du vendeur	/_/	/_/
Qualité	/_/	/_/

Les ingrédients sont-ils conservés avant utilisation

	OUI	NON	
Préparer directement	/_/_/	/_/_/	
A température ambiante	/_/_/	/_/_/	temps de conservation _____
Réfrigération	/_/_/	/_/_/	temps de conservation _____
Congélation	/_/_/	/_/_/	temps de conservation _____

Préparation et manipulation des aliments ?

	O	N
Les aliments sont préparés et vendus au même moment	/_/_/	/_/_/
Les aliments sont vendus sur charrette	/_/_/	/_/_/
Les aliments sont vendus au sol	/_/_/	/_/_/
Aliments sont protégés	/_/_/	/_/_/
Les légumes sont épluchés et lavés avant utilisation	/_/_/	/_/_/

Comment les aliments sont servis ?

	OUI	NON
Avec des louches	/_/_/	/_/_/
Avec la main	/_/_/	/_/_/
Dans des bols	/_/_/	/_/_/
Dans des papiers	/_/_/	/_/_/

Comment les aliments de la veille sont utilisés

Jetés	/_/_/	/_/_/
Mangés à la maison	/_/_/	/_/_/
Réfrigérés et vendus	/_/_/	/_/_/
Réchauffés et vendus	/_/_/	/_/_/
Pas de réponse	/_/_/	/_/_/
Mélangés à la nouvelle préparation	/_/_/	/_/_/

Découpe des aliments

	O	N
Table en bois	/_/_/	/_/_/
Table en l'acier inoxydable	/_/_/	/_/_/
Couteau spécifique pour les aliments crus	/_/_/	/_/_/
Couteau spécifique pour les aliments cuits	/_/_/	/_/_/
Nettoyage régulier des couteaux	/_/_/	/_/_/

VIII : Connaissance sur les contaminations et maladies d'origine alimentaires

Avez-vous reçu une formation en hygiène ? O /_/ N /_/

Qu'est une maladie d'origine hydrique bonne réponse/_/ mauvaise réponse/_/

Qu'est-ce qu'une maladie d'origine alimentaire bonne réponse /_/mauvaise réponse /_/

Les maladies alimentaires changent ? O /_/ N /_/

Si oui pourquoi ? _____

Combien de type de maladies transmis par les aliments connaissez-vous au Burkina Faso ?

Comment l'aliment peut être contaminé ? _____

Comment l'hépatite E est transmise à l'homme

Aliments souillés O /_/ N /_/ ND /_/

Eau sale O /_/ N /_/ ND /_/

Main sale O /_/ N /_/ ND /_/

Que font les autorités pour la prévention des maladies transmises par les aliments

ANNEXE 5 : poster XVIème journée Francophone de Virologie



XVIe Journées Francophones de Virologie

Epidémiologie du virus de l'hépatite E chez les porcs de boucherie au Burkina Faso

Abdoulaye TRAORE(1), Alfred S. TRAORE(1), Nicole PAVIO(2), Nicolas BARRO(1), Pierre ROQUES(3,4)
 (1) Université de Ouagadougou, Ecole Doctorale Sciences et Technologie- Service : CRSBAN, BP 7021 Ouagadougou - Burkina Faso,
 (2) UMR 1161 Virologie, INRA, ANSES, ENVA, 94706 Maisons-Alfort - France,
 (3) CEA - Service : Service d'Immuno-Virologie, 92265 Fontenay-aux-Roses - France,
 (4) Université Paris-Sud XI - Service : UMR-E1, 91000 Orsay - France,

INTRODUCTION

L'hépatite E est une maladie à transmission féco-orale pouvant déclencher des hépatites fulminantes avec un niveau de mortalité variant de 1 à 4% dans la population générale et à près de 20% chez la femme enceinte lors des flambées épidémiques (OMS 2014). Le virus responsable de la maladie est à ARN simple brin non enveloppé de la famille des *Hepeviridae*.

Dans la population humaine au Burkina, la séroprévalence du VHE a été estimée à 11,6% [IC95, 7.1-16.2%], 19,1% [IC95, 13.3-24.9%] respectivement chez les femmes venant en consultation prénatale et les donneurs de sang (Traoré et al. 2012 Plos One). Il a été montré que le VHE de génotypes 3 et 4 était présent chez les suidés sauvages et domestiques chez lesquels il ne déclenche pas de pathologie et reste donc silencieux. Ces génotypes sont de nos jours dans les élevages du monde entier à la faveur des importations et croisements destinés à améliorer la productivité en élevage. En Afrique de l'ouest, des porcs *Large White* européens et chinois ont été importés (FAO 2012), cependant, il n'y a pas de données sur le portage du VHE chez les porcs destinés à la consommation de rue ni sur les risques de transmission du porc à l'homme.

L'objectif de notre étude est de déterminer la séroprévalence de l'infection à VHE chez les porcs de boucherie et la présence du VHE dans les foies de porcs dans la ville de Ouagadougou.

MATERIEL ET METHODES

Les foies de différentes espèces de porcs (images ci-dessous) ont été collectés dans 157 sites de vente tirés au sort dans les sites recensés par notre équipe dans le grand Ouagadougou de novembre à décembre 2012 (55) puis de juillet à septembre 2013 (102). Cent (100) sérums de porcs ont été prélevés sur l'une des principales aires d'abattage située en périphérie de la ville.



Les Tests sérologiques sont réalisés avec le kit HEV ELISA4.0v de MP Biomedicals. La détection du virus sur les broyats de foie collectés est faite dans deux laboratoires distincts selon deux méthodes : PCR nichée dérivée de (Temman et al. 2013 Am J Trop Med Hyg) et PCR en temps réel (Barnaud et al. 2012. Appl Environ Microbiol).

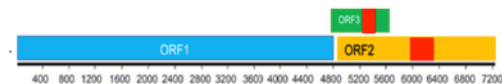


Fig. 1: Génome du VHE : zones amplifiées par PCR en rouge

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Localisation des sites de ventes

La vente et la consommation de la viande de porc est observée dans plusieurs points de la ville. Il a été dénombré plus de 290 sites permanents essentiellement situés au centre de la ville de Ouagadougou (Fig. 2). En moyenne 1 à 2 carcasses de porc sont vendus/jour/site.

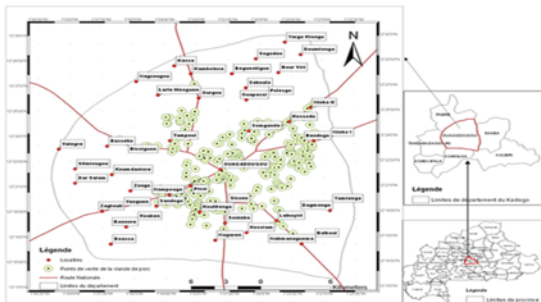


Fig. 2: Carte de localisation des points de vente et de consommation de la viande de porc

2. Chaîne de production porcine en maison traditionnelle d'abattage

Les conditions de production de carcasses porcines sont sommaires (Fig. 3) : Les opérations d'abattage se font à même le sol ou sur terrasse. L'éviscération et la découpe de la carcasse sont réalisées par le boucher, à mains nues.

Fig.3: Conditions de vente des porcs, d'abattage et de vente de la viande.



REMERCIEMENT

Le travail a été réalisé grâce au partenariat et à la collaboration entre UO/CRSBAN, UPSud XI/CEA, ANSES et Ambassade française.

3. Analyses sérologiques

Sur les sérums de porc prélevés sur le site d'abattage a donné une séroprévalence de 80% IC95[72-87%] (Fig. 4)

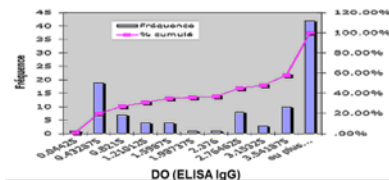


Fig. 4: Distribution des valeurs de DO mesurée sur les échantillons de sérums de porcs.

4. Détection moléculaire du VHE dans les foies de porc

Sur les foies prélevés sur les sites de vente, 3 seulement (1,9% IC95[0-4%]) ont été testé positifs pour l'ARN du VHE.

CONCLUSION

- Notre étude est la première à mettre en évidence la présence et la circulation active du VHE chez les suidés domestiques au Burkina.
- Les Porcs pourrait être une source de contamination de l'homme par contact direct (bouchers, vendeurs) ou par l'alimentation en cas de mauvaise cuisson.
- Il reste à déterminer quels génotypes circulent dans ces deux populations.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barnaud E, Rogée S, Garry P, Rose N, PAVIO N. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. 2012. Appl Environ Microbiol. 2012 Aug;78(15):5153-9.
- FAO. (2012). Secteur Porcin Burkina Faso. Revues nationales de l'élevage de la division production et santé animales de la FAO. Rome. (<http://www.fao.org/docrep/015/i2567fr/i2567i00.pdf>)
- OMS 2013: Hépatite E. Aide-mémoire N° 280
- Temman S, Besnard L, Andriamandimby S F, Foray C, Harentsoaniaina R-A, Héraud J-M, Cardinale E, PAVIO N, Pascalis H, & Porphyre V (2013). High prevalence of hepatitis E in humans and pigs and evidence of genotype-3 virus in swine, Madagascar. Am J Trop Med & Hyg, 88(2), 329-338.
- Traoré KA, Rouamba H, Nébié Y, Sanou M, Traoré A S, Barro N & Roques P (2012). Sero-prevalence of fecal-oral transmitted hepatitis A and E virus antibodies in Burkina Faso. PloS One, 7(10), e48125

ANNEXE 6 : poster VI AFRAVIH (2014)



VIIe Conférence Internationale Francophone sur le VIH et les Hépatites AFRAVIH 2014

Séroprévalence du virus de l'hépatite E (VHE) chez les donneurs de sang au Burkina Faso

Kuan Abdoulaye Traoré¹, Hortense Rouamba², Yacouba Nèbié³, Mahamadou Sanou³, Alfred S. Traoré¹, Pierre Roques^{4, 5}, Nicolas Barro¹
 1 Laboratoire de Biologie Moléculaire et d'Épidémiologie et de Surveillance Bactériennes et Virus transmissibles par les Aliments, CRSBAN/ Département de Biochimie-Microbiologie, UFR-SVT/Université de Ouagadougou, 03 B.P. 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso
 2 Centre National de Transfusion Sanguine, Ouagadougou 03, Burkina Faso
 3 Centre médical de Samadin, Ouagadougou 03, Burkina Faso
 4 CEA, Division of Immuno-Virology, Institute of Emerging Diseases and Innovative Therapies, Fontenay-aux-Roses, France.
 5 UMR E1, University Paris Sud 11, Orsay, France

INTRODUCTION

Le virus de l'hépatite E (VHE) est endémique dans les pays émergents où la surveillance est parcellaire. Son étiologie évolue d'une transmission oro-fécale vers une zoonose avec des formes chroniques (Xing D, Emerging Infectious Diseases 2013). Il est devenu une préoccupation pour la sécurité transfusionnelle (Kaufmann, Plos One 2011). En effet, des études récentes ont révélé respectivement une séroprévalence de 14,3%, 16,6% et 22,7% chez les donneurs de sang en Iran, en France et en Chine (Kaufmann, Plos One 2011; Ehteram, Iranian journal of microbiology 2013; Cheng, WJG 2012). L'objectif de notre étude était de déterminer la séroprévalence de l'infection par le VHE chez les donneurs de sang au Burkina Faso.

MATERIEL ET METHODES

Un total de 178 échantillons de sérum sanguin de donneurs (négatifs pour VIH, VHB et VHC) ont été recueillis de Novembre 2010 à Mars 2012, au Centre régional de Transfusion Sanguine de Ouagadougou (CRSTO). Ces échantillons ont été testés pour la présence d'anticorps IgG anti-VHE à l'aide des kits de détection immunoenzymatique Dia.pro et Wantai (ELISA). L'étude a été approuvée par le comité d'éthique en santé et s'inscrivait dans les activités de routine du CRSTO instance légale.

Photo 1: Spectromètre, Lecteur de plaque ELISA



CONCLUSION

Cette étude montre une prévalence élevée d'anticorps anti-VHE chez les donneurs de sang dans la capitale burkinabè. Plus de recherches sont nécessaires pour identifier les réservoirs du VHE en rapport avec les habitudes alimentaires de chaque région, et évaluer le bénéfice potentiel de l'ajout de dépistage du VHE dans les examens de routines des banques de sang, afin de garantir la sécurité transfusionnelle du receveur de sang. Cela permettra aussi d'évaluer le bénéfice/cout d'un éventuel vaccin anti-VHE (Zhu FC Lancet 2010).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Xing D, Chen D, Zhenxian Z, Jiuhong L, Min D, Yan Y, Jianguang F, et al. Hepatitis E Virus Genotype 4, Nanjing, China, 2001–2011. Emerging Infectious Diseases. 2013. Vol. 19(9). 1528-1530
- Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, Canellini G, Burgisser P, Moradpour D, et al. Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. PloS one. 2011; 6:e21150.
- Ehteram H, Ramezani A, Eslamifard A, Sofian M, Banifazl M, Ghassemi S, et al. Seroprevalence of Hepatitis E Virus infection among volunteer blood donors in central province of Iran in 2012. Iranian journal of microbiology. 2013; 5:172-6.
- Cheng XF, Wen YF, Zhu M, Zhan SW, Zheng JX, Dong C, et al. Serological and molecular study of hepatitis E virus among illegal blood donors. World journal of gastroenterology : WJG. 2012; 18:986-90.
- Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ, et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet. 2010; 376:895-902.

REMERCIEMENT

Le travail a été réalisé grâce au partenariat et à la collaboration entre UO/CRSBAN, CNTS/BF, UPSud XI/CEA.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Comparaison des résultats d'analyses avec les kits ELISA anti-VHE Wantai (A) et Dia.pro. (B)

La comparaison des résultats bruts des ELISA (mesure de DO) a montré une très bonne corrélation entre les deux tests, bien que la plage de mesure utile soit plus petite avec le test Dia.Pro. Toutefois, des échantillons classés comme indéterminée dans le test Wantai étaient positifs dans le test Dia.Pro (cinq sérums flèche blanche).

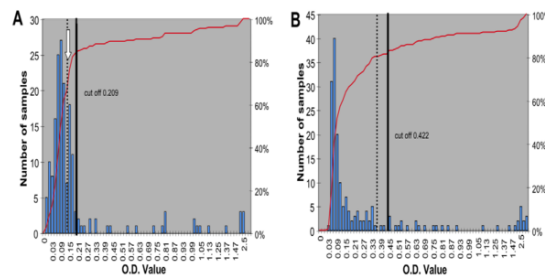


Fig.1. comparaison des valeurs de DO obtenus avec les kits Wantai et Diapro

2. séroprévalence des IgG anti-VHE chez les donneurs de sang (2011-2012)

Tableau 1: séroprévalence des IgG anti-VHE chez les donneurs de sang

Années et Marqueur	Donneurs de sang
2011 Femmes (n = 22)	Hommes (n = 67)
	IgG 23% IC95 [5-40%]
2012 Femmes (n = 25)	Hommes (n = 64)
	IgG 24% IC95 [7-40%]
2011 – 2012 Femmes (n = 47)	Hommes (n = 131)
	IgG 23,4 % IC95 [11-36 %]

Les IgG anti-VHE ont été détectés chez 19,1% [IC95, 13,3–24,9%] des donneurs. La séroprévalence des IgG anti-VHE chez les femmes (23,4 % ; IC95 [11,3-35,6 %]) n'était pas significativement différente de celle des hommes (17,6% ; IC 95 [11-24 %]) (Tableau.2).

3. Distribution des IgG anti-VHE chez les donneurs de sang en fonction des tranches d'âge.

Nous avons observé un pic significatif de séroprévalence de 22% dans les moins de 25 ans. Ce pic inattendu en zone d'endémicité où on attend plutôt un accroissement lié à l'âge, pourrait être dû à des facteurs d'exposition alimentaire fig.2.

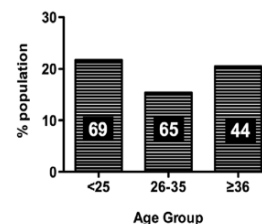


Fig.2. Prévalence en fonction des classes d'âge



RESUME

Le virus de l'hépatite E (VHE) est l'agent causal d'une partie des hépatites aiguës ou fulminantes qui surviennent essentiellement dans les pays en voie de développement (Afrique, Asie) ou le VHE de génotype 1 semble présenter un profil endémique ponctué de bouffées épidémiques souvent liées à des déplacements de populations (catastrophe climatique ou conflits) (Lui *et al.*, 2013). Récemment il a été montré que ce virus était largement distribué dans des réservoirs animaux (génotype 3 et 4) et la cause d'un grand nombre d'infections zoonotiques aussi bien dans les pays du nord que du sud.

Dans la plupart des cas, il s'agit d'une infection spontanément résolutive avec une clairance virale rapide, mais il peut évoluer vers des formes plus sévères avec un niveau de mortalité variant de 1 à 4% dans la population générale et à près de 20% chez la femme enceinte lors des flambées épidémiques (OMS, 2014). Au Burkina Faso, très peu de données existent sur la prévalence chez l'homme, l'épidémiologie moléculaire du VHE ou la présence de ce virus dans le réservoir animal principal que constituent les porcs. De plus, l'ignorance de la population quant aux causes de cette infection d'origine alimentaire, est un facteur de risque qu'on ne peut pas ignorer. L'objectif de ce travail est donc d'améliorer notre connaissance sur cet agent des hépatites.

La première partie de notre étude s'est consacrée à l'évaluation de la séroprévalence du VHE chez les donneurs de sang et les femmes venant en consultation prénatale à Ouagadougou. Au total plus de 1700 échantillons de sérums de volontaires ont été collectés dans les banques de sang et centres médicaux: entre 2010 et 2012, sur les 178 donneurs de sang et 189 femmes enceintes testés, 19,1% [IC95, 13,3-24,9%] et 11,6% [IC95, 7,1-16,2%] étaient respectivement positifs aux IgG anti-VHE. Ces taux élevés sont peut-être associés au faible statut socioéconomique et à l'absence de réseaux d'assainissement des eaux (Traoré *et al.*, 2012). En 2014, 1,9% [IC95, 1,2-2,6%] des 1485 donneurs de sang testés étaient positifs aux IgM anti-VHE. Ces résultats montrent un risque résiduel transfusionnel non négligeable associé à une transmission à bas bruit et confirme l'intérêt d'identifier la ou les sources de ce virus.

La seconde partie de ce travail a été de vérifier le rôle d'une source zoonotique des infections à VHE, via l'évaluation du VHE (par sérologie et typage moléculaire après PCR) dans le réservoir potentiel que sont les porcs et la population à risques exposés à ce réservoir (bouchers et éleveurs). Pour cela nous avons réalisé un recensement des sites de ventes de porcs et évalué la consommation d'animaux. Un taux de séroprévalence de 76% [IC95, 67,6-84,4%] a été mesuré dans une cohorte de 100 bouchers de Ouagadougou avec un facteur de risque de séropositivité 3 fois plus élevé par rapport à la population générale (OR = 3,46 [95%CI 2,85 – 4,21] p <0.001). Les IgG anti-VHE chez les porcs abattus ont été estimés à 80% IC95 [72-87%]. Cette forte prévalence confirme une circulation silencieuse du VHE dans l'élevage porcin au Burkina Faso comme en témoigne l'échantillon positif de foie pour l'ARN VHE qui soutient fermement le risque de zoonose. L'analyse des séquences des produits de PCR des foies de porcs positifs pour VHE a révélé la présence de VHE génotype 3 et 99,8 % d'homologie avec les souches Yaoundé et Madagascar.

En conclusion, notre étude, la première caractérisation moléculaire des souches du VHE au Burkina, montre la présence de souches VHE génotype 3 dans la région sahélienne où seul le génotype 1 avait été identifié jusqu'alors. L'évaluation du risque transfusionnel associé nécessite des études complémentaires afin d'évaluer le bénéfice/coût de l'ajout de dépistage du VHE dans les examens de routines des banques de sang, afin de garantir la sécurité du receveur de sang.

Mots clés : Épidémiologie, VHE, transfusion sanguine, incidence, génotypage, Burkina Faso.

ÉCOLE DOCTORALE : SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Laboratoire : Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles (CRSBAN)