

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES
DE LA VIE, SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

UNITÉ DE RECHERCHE ET DE
FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE

FACULTÉ DES SCIENCES

DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE,
HEALTH AND ENVIRONMENTAL
SCIENCES

DOCTORATE RESEARCH UNIT IN LIFE
SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

CENTRE D'ÉTUDE ET DE CONTRÔLE DES MALADIES TRANSMISSIBLES DE LA FMSB
CENTRE OF STUDY AND CONTROL OF COMMUNICABLE DISEASES OF FMBS

Profil des biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques et ceux atteints de carcinome hépatocellulaire : cas de deux hôpitaux de la ville de Yaoundé

THÈSE

Rédigée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme Doctorat/Ph.D de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Médicale

Par

MBAGA Donatien Serge

Matricule : 10Q0345

Master de Microbiologie



Président :	ETOA François-Xavier, Professeur	Université de Yaoundé I
Rapporteurs :	NJIKI BIKOI Jacky, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
	RIWOM ESSAMA Sara Honorine, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
Membres :	GONSU KAMGA Hortense, Professeur	Université de Yaoundé I
	ASSAM ASSAM Jean Paul, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
	KORO KORO Francioli, Maître de Conférences	Université de Douala

Année Académique 2023/2024

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES DE
LA VIE, SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

UNITÉ DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE

FACULTÉ DES SCIENCES

DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POST GRADUATE SCHOOL FOR LIFE
SCIENCE, HEALTH AND ENVIRONMENT

DOCTORATE RESEARCH UNIT IN LIFE
SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

CENTRE D'ÉTUDE ET DE CONTRÔLE DES MALADIES TRANSMISSIBLES DE LA FMSB
CENTRE OF STUDY AND CONTROL OF COMMUNICABLE DISEASES OF FMBS

**Profil des biomarqueurs immunologiques, virologiques et
biochimiques chez les participants atteints d'hépatopathies
chroniques et ceux atteints de carcinome hépatocellulaire :
cas de deux hôpitaux de la ville de Yaoundé**

THÈSE

Rédigée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme Doctorat/Ph.D de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Médicale

Par

MBAGA Donatien Serge

Matricule : 10Q0345

Master de Microbiologie

Président :	ETOA François-Xavier, Professeur	Université de Yaoundé I
Rapporteurs :	NJIKI BIKOÏ Jacky, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
	RIWOM ESSAMA Sara Honorine, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
Membres :	GONSU KAMGA Hortense, Professeur	Université de Yaoundé I
	ASSAM ASSAM Jean Paul, Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
	KORO KORO Francioli, Maître de Conférences	Université de Douala

Année Académique 2023/2024

ATTESTATION DE CORRECTION

UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I
FACULTÉ DES SCIENCES
Département de Microbiologie
BP 812 - Yaoundé
Tél/fax (237) 222 23 44 96



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
Department of Microbiology
P.O. Box 812 Yaoundé
Tel/fax (237) 222 23 44 96

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du Jury de la soutenance de Thèse de Doctorat/Ph.D de Microbiologie (Option Microbiologie Médicale) de M. **MBAGA Donatien Serge**, Matricule **10QO345**, soutenance autorisée par la correspondance

N° **240126/UY1/VR-EPDTIC/DAAC/DA-AAC/DRD/SR/CB-ER** du 02 Mai 2024, et défendue le 04 Juin 2024 à 14 heures dans la salle Multimédia de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I sous le Thème : « Profil des biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques et ceux atteints de carcinome hépatocellulaire : cas de deux hôpitaux de la ville de Yaoundé », attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation ont été effectuées et que le dit document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi la présente attestation lui est établie pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **27 JUIN 2024**

Examineurs

Prof. H. Gomsu Kamga
Médecin Biologiste
Professeur Titulaire des
Universités

P. Nono Nono Franciosi (PhD)
Université de Douala

Jean Paul Nsam Nsam (Ph.D)
Associate Professor of Microbiology

Chef de Département de Microbiologie

Président du Jury

Dr. ETOA François-Xavier
Dr 3^e, Ph.D
Commandeur de l'Ordre de la Valeur

Jean Justin Essia Ngang
Professeur



LISTE PROTOCOLAIRE

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2023/2024

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 04 Juin 2024

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Professeur*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOCHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF/FS</i>
13.	DAKOLE DABOY Charles	Maître de Conférences	En poste
14.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Maître de Conférences	En poste
15.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
16.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
17.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
18.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste

19	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
20	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
21	MANANGA Marlyse Joséphine	Maître de Conférences	En poste
22	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
23	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
24	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
25	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
26	Palmer MASUMBE NETONGO	Maître de Conférences	En poste
27	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Maître de Conférences	En poste
28	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

29.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
30.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
31.	BEBOY EDJENGUELE Sara N.	Chargé de Cours	En poste
32.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
33.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
34.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
35.	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Chargé de Cours	En poste
36.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
37.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

38.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
39.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
40.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
41.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
42.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (49)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4.	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
5.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
6.	KEKEUNOU Sévior	Professeur	<i>Chef de Département (a.i)</i>
7.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
10.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
11.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

12.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
-----	-----------------------	-----------------------	-----------------------------

13.	ATSAMO Albert Donatien	Maître de Conférences	En poste
14.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
17.	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
18.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Maître de Conférences	En poste
19.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
21.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
22.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
23.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
24.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
25.	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
26.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Maître de Conférences	En poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

31.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
38.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
39.	MAPON NSANGO Indou	Chargé de Cours	En poste
40.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
41.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
42.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
43.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
44.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
45.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
46.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

47.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
48.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
49.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	---------------	------------	----------------------------

2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	NDONGO BEKOLO	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	DAAC/UDla
12.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
13.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	CT/MINRESI
14.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
15.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

17.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargé de Cours	En poste
19.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20.	MANGA NDJAGA JUDE	Chargé de Cours	En poste
21.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
22.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
23.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	En détachement/UNESCO MALI
24.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
25.	KABELONG BANAHO Louis- Paul-Roger	Chargé de Cours	En poste
26.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
27.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
28.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
29.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
30.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
31.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
32.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	Ministre Chargé de Mission PR
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	CT/MINRESI
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	Vice Chancellor/UB

6.	NJOMOU C. épouse DJANGANG	Professeur	En poste
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUNI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
17.	PABOUDAM GBAMBI AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
18.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
19.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
20.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
21.	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

22.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
23.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
24.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
25.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
26.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste
27.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste

6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
3.	NGOUELA Silvére Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i>
5.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
6.	MKOUNGA Pierre	Professeur	En poste
7.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Professeur	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
8.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
11.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
12.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste

13.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
15.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
16.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
17.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Dir ENS/Uté Bertoua</i>
18.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
19.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
20.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
21.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Maître de Conférences	En poste
22.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

23.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
24.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Chargé de Cours	En poste
25.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
26.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
27.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
28.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
29.	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
30.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
31.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
32.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
33.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

34.	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
-----	---------------------	-----------	----------

6- DEPARTEMENT DES ENERGIES RENOUVELABLES (ER) (1)			
	BODO Bertrand	Professeur	<i>Chef de Département</i>

7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division des SI/ MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général Académique/ MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINOU HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15.	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
16.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
17.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur Adjoint ENSET Ebolowa</i>
18.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

19.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. Ml. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	-----------------------	------------	----------------------------

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	<i>Chef de Division/ENSPY</i>
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	<i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i>
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>VDRC/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10.	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Chargé de Cours	En poste
13.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste

15.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
18.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19.	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
20.	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
21.	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
22.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
23.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
24.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
25.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
26.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Chargé de Cours	En poste
27.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
28.	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste

29.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
30.	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
31.	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
32.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33.	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste

9- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7.	KOUITCHEU MABEKEU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
10.	TCHIKOUA Roger	Maître de Conférences	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>

11.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
13.	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
14.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
15.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
16.	NKOUÉ TONG Abraham	Chargé de Cours	En poste
17.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste

18.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Chargé de Cours	En poste
19.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

20.	EZO'O MENGOU Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
21.	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22.	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23.	NGOUENAM Romial Joël	Assistant	En poste
24.	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (42)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	BIYA MOTTO Frédéric	Professeur	DG/HYDRO Mekin
3.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
4.	EKOBENA FOUDA Henri Paul	Professeur	Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré
5.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
6.	EYEBE FOUDA Jean sire	Professeur	En poste
7.	HONA Jacques	Professeur	En poste
8.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
9.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
10.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
11.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
12.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
13.	SAIDOU	Professeur	Chef de centre/IRGM/MI NRESI
14.	SIMO Elie	Professeur	En poste
15.	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FSUniv/Bda
16.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
17.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
18.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

19.	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	FOUEJIO David	Maître de Conférences	Chef Cell/ MINADER
22.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
23.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
24.	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
25.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste

26.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
27.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	<i>En stage depuis février 2023</i>
31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
37.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
38.	NGA ONGODO Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /Uds</i>
2.	EKOMANE Emile	Professeur	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
3.	GANNO Sylvestre	Professeur	En poste
4.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
5.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
7.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
10.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>
11.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste

12.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En poste
13.	EYONG John TAKEM	Maître de Conférences	En poste
14.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT (ai)</i>
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En poste
17.	MBESSE Cécile Olive	Maitre de Conférences	En poste
18.	METANG Victor	Maître de Conférences	En poste
19.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
20.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
21.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
22.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
23.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
24.	TCHAKOUNTE Jacqueline épse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
25.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
26.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
27.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

28.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
29.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
30.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
31.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
32.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
33.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
34.	NGO'O ZE ARNAUD	Chargé de Cours	En poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

41.	KOAH NA LEBOGO Serge P.	Assistant	En poste
42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
43.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	20 (12)	9 (04)	6 (05)	43 (22)
BPA	11 (01)	19 (09)	16 (05)	3 (02)	49 (17)
BPV	6 (01)	10 (02)	14 (08)	2 (00)	32 (11)
CI	7 (01)	14 (04)	5 (01)	1 (00)	27 (06)
CO	7 (01)	15 (05)	11 (05)	1 (00)	34 (11)
ER	1 (00)		/	/	1 (0)
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	22 (01)
MAT	1 (00)	8 (00)	19 (02)	5 (01)	33 (03)
MIB	3 (01)	7 (03)	9 (05)	5 (02)	24 (11)
PHY	18 (01)	12 (04)	11 (01)	1 (00)	42 (06)
ST	10 (00)	17 (03)	13 (03)	3 (01)	43 (07)
Total	74 (07)	124 (42)	121 (35)	31 (11)	350 (95)

Soit un total de **350 (95)** dont :

- Professeurs **74 (07)**
- Maîtres de Conférences **124 (42)**
- Chargés de Cours **121 (35)**
- Assistants **31 (11)**

() = Nombre de Femmes **95**

DÉDICACE

**À
MES PARENTS**

<< *A journey of a thousand miles begins with a single step.* >>

Lao Tzu

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à mes Directeurs de thèse :

Madame le Professeur RIWOM ESSAMA Sara Honorine,

Vous avez accepté avec une bonté de cœur de m'encadrer, depuis mon cycle Master. Malgré vos nombreuses charges, vous avez su trouver le temps nécessaire à mon accompagnement, toutes les fois où j'ai eu recours à vous. Votre accessibilité, votre patience, votre cœur de maman, ont ouvert pour moi les portes d'un nouveau monde, en m'initiant au concept de la recherche et de la communication. Je vous serai toujours reconnaissant de m'avoir permis de profiter de votre expérience et de vos connaissances, avec enthousiasme, passion et précision. Je vous remercie du plus profond de mon cœur.

Madame le Professeur NJIKI BIKOÏ Jacky,

Vous avez accepté avec beaucoup de spontanéité et de générosité de me tenir la main tant dans la vie sociale que dans mon cursus académique. Votre soutien inestimable, multiforme et indéfectible ainsi que vos encouragements m'ont guidé, inspiré et motivé à chaque instant de la vie. Votre rigueur scientifique couplée à votre bienveillance, ainsi que votre attitude compréhensive et positive à toute épreuve, n'ont cessé de me galvaniser. Vos conseils avisés et vos encouragements m'ont permis au fil des années, d'acquérir une grande maturité et une grande autonomie dans le travail, ce qui m'a aidé à me sortir de biens des situations.

Je tiens particulièrement à remercier Monsieur le Docteur KENMOE Sebastien

Vous avez méthodiquement, patiemment et grandement su propulser mon entrée dans le monde de la recherche. Vous m'avez toujours coaché, inspiré, encouragé et motivé, parfois à bout de bras sans jamais vous décourager. Vous avez fait germer en moi l'instinct du chercheur. En un mot vous m'avez façonné. Je vous dis un grand merci.

J'adresse ma profonde gratitude à toutes les personnes formidables que j'ai eu à rencontrer tout au long de mon cursus académique à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, concrètement au département de Microbiologie.

Je pense particulièrement :

-Au Chef de Département **Monsieur le Professeur ESSIA NGANG Jean Justin** à qui j'adresse ici un vibrant Merci. Merci de n'avoir ménagé aucun effort pour faire de nous des chercheurs accomplis et soucieux de mettre à profit nos acquis.

-À l'ensemble du corps enseignant, du Département de Microbiologie, dont les enseignements, remarques et conseils m'ont permis de façonner ce travail.

Je pense particulièrement à

- **Mesdames les Professeurs, NYEGUE Maximilienne Ascension et KOUITCHEU MABEKU Laure Brigitte.**

- **Messieurs les Professeurs, BOYOMO ONANA, SADO KAMDEM Sylvain Leroy, ASSAM ASSAM Jean Paul et BOUGNOM Blaise Pascal.**

Je tiens à remercier grandement **Monsieur le Docteur ATENGUENA OKOBALEMBA Etienne**, Chef Service d'Oncologie de l'Hôpital Général de Yaoundé, **Monsieur le Docteur TALLA Paul**, Chef Service de Gastro-entérologie de l'Hôpital Général de Yaoundé, **Monsieur le Professeur KOWO Mathurin Pierre**, Gastro-entérologue exerçant au Service de Médecine interne du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé. Je ne saurais oublier l'aimable personnel des Services d'Oncologie, de Gastro-entérologie et Médecine interne respectivement, de l'Hôpital Général de Yaoundé, et du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement, les chercheurs du Centre d'Étude et Contrôle des Maladies Transmissibles de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I.

-À mes camarades de promotion et amis, pour la combativité, la communion, l'amitié, le soutien et la solidarité. Merci à vous : **Alexandra Emmanuelle MEMBANGBI, Arnaud Franck ELANG, Arnol BOWO, Chris André MBONGUE MIKANGUE, Elsa MAKUE NGUIFFO, Jean Thierry EBOGO BELOBO, Justin Olivier ESSINDI, Olivier NDONGO BELA, Sharonne Ladiff KOKO-TA et tous les autres....**

Je dis également un grand merci à toutes ces personnes formidables malgré leur état de santé, ont fourni volontairement des informations pour l'obtention des résultats probants qui ont permis la rédaction de cette thèse.

Je ne saurais terminer cet exercice sans remercier **Elbertine Géraldine NGONO ENAMA** l'amour de ma vie. Tu as une place spéciale dans mon cœur. Merci d'être venue dans ma vie et de l'avoir rendue spéciale.

TABLE DES MATIÈRES

ATTESTATION DE CORRECTION.....	i
LISTE PROTOCOLAIRE.....	ii
DÉDICACE.....	xiv
REMERCIEMENTS	xvi
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES.....	xxi
LISTE DES TABLEAUX	xxiii
LISTE DES FIGURES	xxv
LISTE DES ANNEXES	xxvi
RÉSUMÉ.....	xxvii
ABSTRACT	xxviii
INTRODUCTION.....	1
Contexte	1
Problématique.....	2
Question et Hypothèse de recherche	3
Objectifs de la recherche	3
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE	4
I.1. Biomarqueurs immunologiques : les cytokines	4
I.1.1. Cytokines pro-inflammatoires.....	4
I.1.2. Cytokines anti-inflammatoires	5
I.1.3. Cytokines antivirales.....	6
I.1.4. Facteurs de croissance.....	6
I.1.5. Cytokines de régulation des réponses immunitaires	7
I.2. Biomarqueurs virologiques : Virus de l'hépatite B et C	8
I.2.1. Virus de l'hépatite B	8
I.2.2. Virus de l'hépatite C	13
I.3. Carcinome hépatocellulaire.....	21
I.3.1. Généralités	21
I.3.2. Diagnostic	21
I.3.3. Traitement	22
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES	23
II.1. Étude de l'association entre le VHB, le VHC et le développement du CHC	23
II.1.1. Recherche documentaire.....	23
II.1.2. Critères d'inclusion et d'exclusion	23
II.1.3. Sélection, extraction et évaluation du risque de biais des études incluses.....	24
II.1.4. Analyses statistiques des données.....	26
II.2. Méthodologie de la description et l'identification des biomarqueurs pertinents dans le diagnostic du CHC	26

II.2.1. Type d'étude, et calcul de la taille de l'échantillon	26
II.2.2. Lieu et durée de l'étude	26
II.2.3. Population de l'étude	27
II.2.4. Description de la sélection des participants inclus dans l'étude	28
II.2.4. Collecte et le devenir des échantillons sanguins.....	32
II.3. Procédure de collecte des données.....	32
II.3.1. Collecte des données sociodémographiques et cliniques.....	32
II.3.2. Recherche des biomarqueurs virologiques, biochimiques et immunologiques	33
II.4. Considérations éthiques	47
II.5. Analyses statistiques des données.....	48
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION	33
III.1. Résultats	49
III.1.1. Résultats de la méta-analyse.....	49
III.1.1.1. Niveau d'association entre l'infection au VHB et le développement du CHC	49
III.1.1.2. Niveau d'association entre l'infection au VHC et le développement du CHC	50
III.1.1.3. Niveau d'association entre la coinfection du VHB/VHC et le développement du CHC	50
III.1.2. Description des participants en fonction caractéristiques démographiques	52
III.1.3. Description des participants en fonction caractéristiques sociales	55
III.1.4. Description des participants en fonction des antécédents médicaux	58
III.1.5. Description des participants en fonction des traitements	60
III.1.6. Profil virologique des participants à l'étude.....	62
III.1.7. Profil du traitement contre le VHB en fonctions de quelques caractéristiques chez les participants sélectionnés au hasard.....	66
III.1.8. Profil du traitement des participants VHC en fonctions de quelques caractéristiques chez les participants sélectionnés au hasard.....	67
III.1.9. Profil biochimique des participants	68
III.1.10. Profil cytokinique des participants	71
III.1.11. Profil des biomarqueurs analysés en fonction des groupes étudiés.....	74
III.1.12. Profil cytokinique des participants en fonction des caractéristiques sociodémographiques et cliniques	80
III.1.13. Profil cytokinique des participants en fonction des traitements	82
III.1.14. Corrélations entre différents biomarqueurs cytokiniques, virologiques et biochimiques ...	83
III.1.15. Performances diagnostiques des biomarqueurs.....	84
III.1.16. Validation du modèle de prévision des performances diagnostiques des biomarqueurs chez les individus atteints d'hépatopathies chroniques.	87
III.2. Discussion	94
III.2.1. Association entre VHB, VHC et développement du CHC	94
III.2.2. Profil des marqueurs virologiques.....	96

III.2.3. Profil des marqueurs biochimiques	98
III.2.4. Profil des marqueurs cytokiniques	99
III.2.5. Performances diagnostiques des biomarqueurs	103
III.2.6. Forces et limites.....	105
CONCLUSION, SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES	106
Conclusion.....	106
Suggestions.....	107
Perspectives	108
LISTE DES PUBLICATIONS ISSUES DE LA THÈSE	109
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	111
ANNEXES	127

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

AAD	: Antiviraux à Action Directe
Ac Anti X	: Anticorps Anti X
ADN	: Acide DésoxyriboNucléique
AFP	: Alpha-fœtoprotéine
Ag HBs	: Antigène de surface l'hépatite B
AgHBc	: Antigène Core de l'hépatite B
ALAT	: Alanine Aminotransférase
ANRS	: Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les Hépatites virales
Apo X	: apolipoprotéines X
ASAT	: Aspartate aminotransférase.
ARN	: Acide RiboNucléique
CDC	: <i>Centre for Diseases Control and prevention</i>
CECMT	: Centre d'Étude et Contrôle des Maladies Transmissibles
CHC	: Carcinome Hépatocellulaire
CHUY	: Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé
CI	: Cellules Immunitaires
CSCCD	: <i>Centre of Study and Control of Communicable Diseases</i>
EDTA	: Ethylène diamine tetra acétique
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FMSB	: Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales
FN	: Faux Négatif
FP	: Faux Positif
G-CSF	: <i>Granulocyte Colony-Stimulating Factor</i>
HC	Hépatite Chronique
HDV	: Hépatite virale D
IC	Intervalle de confiance
IL	: Interleukine
ISGs	: <i>Interferon-Stimulated Genes</i>
JIRB	: <i>Joint Institutional Review Board for Animal & Human Bioethics</i>
kDa	: kilo Dalton
LDL	: <i>Low-Density Lipoproteins</i>

LVP	: lipo-viroparticules
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
OR	: <i>Odds Ratio</i>
PRISMA	: <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
ROC	: <i>Receiver Operator Characteristic</i>
Se	: Sensibilité
SI	: Système Immunitaire
Sp	: Spécificité
SPSS	: <i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TDR	: Test de Dépistage Rapide
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
UI	: Unité Internationale
UNSD	: <i>United Nations Statistics Division</i>
UYI	: Université de Yaoundé I
VHB	: Virus de l'Hépatite B
VHC	: Virus de l'Hépatite C
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine
VLDL	: <i>Very-Low-Density Lipoproteins</i>
VPN	: Valeur Prédictive Négative
VPP	: Valeur Prédictive Positive

LISTE DES TABLEAUX

Tableau :	Titre du Tableau	Page
I	: Association entre le VHB/VHC et le développement du CHC	51
II-a	: Caractéristiques démographiques des participants VHB	53
II-b	: Caractéristiques démographiques des participants VHC	54
III-a	: Caractéristiques sociales des participants VHB	56
III-b	: Caractéristiques sociales des participants VHC	57
IV-a	: Répartition des participants VHB à l'étude en fonction de quelques facteurs de risque, et la vaccination	58
IV-b	: Répartition des participants VHC à l'étude en fonction de quelques facteurs de risque, et la vaccination	59
V-a	: Répartition des participants à l'étude en fonction des traitements contre le VHB	60
V-b	: Répartition des participants à l'étude en fonction des traitements contre le VHC	61
VI	: Séroprévalence des marqueurs du VHB et VHC recherchés	62
VII-a	: Profil des marqueurs du VHB recherchés par immuno chromatographie	63
VII-b	: Profil de marqueurs du VHC recherchés par immuno chromatographie	63
VIII	: Profil de marqueurs du VHB et VHC recherchés par ELISA	64
IX	: Charge virale VHB et VHC des participants	65
X	: Profil du traitement des participants VHB sélectionnés au hasard en fonctions de quelques caractéristiques	66
XI	: Profil du traitement des participants VHC sélectionnés au hasard en fonctions de quelques caractéristiques	67
XII	: Profil biochimique des participants positifs aux hépatites virales	68
XIII	: Profil biochimique des participants VHB	69
XIV	: Profil biochimique des participants VHC	70
XV	: Profil des cytokines pro et anti-inflammatoires des participants	72
XVI	: Profil des cytokines antivirales, facteurs de croissance et chimiokines des participants	73
XVII	: Comparaison des biomarqueurs chez les participants atteints d'hépatite Chronique et ceux atteints de Cirrhose du foie	75
XVIII	: Comparaison des biomarqueurs chez les participants atteints d'hépatite Chronique et ceux atteints de CHC	77

XIX	: Comparaison des biomarqueurs chez les participants atteints de Cirrhose et ceux atteints de CHC	79
XX	: Profil cytokinique en fonction des caractéristiques sociodémographiques	81
XXI	: Profil cytokinique en fonction des caractéristiques cliniques	81
XXII	: Profil cytokinique des participants en fonction des traitements	82
XXIII	: Corrélation des différents biomarqueurs étudiés	83
XXIV	: Indices de performance des différents biomarqueurs	86
XXV	: Indices de performance des différents biomarqueurs cas de figure ou les participants Cirrhose sont des cas	90
XXVI	: Indices de performance des différents biomarqueurs où les participants Hépatite chronique choisis aléatoirement sont des cas	93

LISTE DES FIGURES

Figure :	Titre de la figure	Page
1	Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B	8
2	Structure du virus de l'hépatite B	10
3	Evolution des marqueurs au cours de l'hépatite B	11
4	Prévalence mondiale de l'hépatite chronique C	13
5	Structure du VHC	14
6	Arbre phylogénique du VHC	15
7	Cycle viral du VHC	16
8	Modes de transmission du VHC d'une cellule infectée à une cellule naïve	17
9	Histoire naturelle de l'infection par le VHC	18
10	Cinétique des différents marqueurs lors de l'infection aiguë par le VHC	19
11	Cinétique des différents marqueurs lors de l'infection chronique par le VHC	20
12	Diagramme d'aide à la décision thérapeutique	22
13	Organigramme de sélection et inclusion des études	25
14	Organigramme de sélection des participants mono infectés par le VHB	30
15	Organigramme de sélection des participants mono infectés par le VHC	31
16	Principe immunochromatographie	33
17	Représentation schématique du principe de l'ELISA Sandwich direct pour détection Ag HBs	35
18	Représentation schématique de la répartition des échantillons pour la recherche de l'AgHBs	36
19	Représentation schématique de l'ELISA sandwich direct pour la recherche de l'Ag VHC	38
20	Représentation schématique répartition des échantillons pour la recherche de l'AgVHC	39
21	Étapes du principe de la quantification de l'AFP	42
22	Principe de quantification des cytokines avec Luminex	45
23	Courbes ROC de l'IFN γ ; ADN du HBV ; IL2 ; IL6 ; VEGF et AFP (Hépatite chronique et Cirrhose sont des témoins)	84
24	Courbes ROC de l'IFN γ ; ADN du HBV ; IL2 ; IL6 ; VEGF et AFP (Cirrhose sont des cas)	88
25	Courbes ROC de l'IFN γ ; ADN du HBV ; IL2 ; IL6 ; VEGF et AFP (Hépatite chronique choisis aléatoire sont des cas)	91

LISTE DES ANNEXES

Annexe	:	Titre de l'annexe	Page
1	:	Outil d'évaluation du risque de biais dans les études de cohortes et des Cas Control	127
2	:	Cytokines analysés	128
3	:	Valeurs de référence des cytokines chez les donneurs sains	129
4	:	Matériel utilisé	130-133
5	:	Notice d'information	134-136
6	:	Formulaire de consentement éclairé	137-138
7	:	Fiche de collecte des données	139
8	:	Autorisation Hôpital Général de Yaoundé	140
9	:	Autorisation du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé	141
10	:	Autorisation du Centre d'Etude et Contrôle des Maladies Transmissibles	142
11	:	Clairance Ethique	143
12	:	Publications issues de la thèse	144-204

RÉSUMÉ

Contexte : La recherche des biomarqueurs pour le diagnostic précoce du carcinome hépatocellulaire (CHC) représente un grand enjeu dans la mise en évidence d'outils nouveaux capables d'être utilisés concomitamment avec l'Alpha foetoprotéine (AFP) et l'imagerie médicale dans le diagnostic du CHC. L'objectif principal de cette étude était d'identifier les biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques pertinents dans le diagnostic du CHC chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques.

Méthodes : Nous avons utilisé une évidence basée sur les preuves pour déterminer l'association entre les infections aux VHB/VHC et le développement du CHC par la méthode effet aléatoire. Par la suite, chez les participants atteints d'hépatite chronique, de cirrhose du foie et du CHC, nous avons prélevé 5ml d'échantillon de sang où nous avons recherché dans le plasma quelques biomarqueurs virologiques (AgHBs, Anticorps antiVHC/AgVHC), à l'aide des techniques immunochromatographie et ELISA, puis nous avons quantifié quelques biomarqueurs immunologiques (12 cytokines) par LUMINEX et quelques biomarqueurs biochimiques (ALAT, ASAT et AFP) par dosage enzymatique et immunochromatographie de fluorescence. Nous avons déterminé les performances diagnostiques de certains de ces biomarqueurs quantifiés à l'aide de la courbe ROC. Toutes les valeurs de $p < 0,05$ étaient considérées statistiquement significatives.

Résultats : Globalement la méta-analyse a confirmé que les témoins infectés par le VHB/VHC avaient un risque élevé de développer le CHC. Dans cette étude, les participants ayant un CHC présentaient des taux d'ALAT, ASAT et AFP plus élevés par rapport aux participants atteints d'hépatopathies chroniques. Nous avons également observé des variations significatives des cytokines pro-inflammatoires (IL-2 et IL-6) et le facteur de croissance angiogénique (VEGF) ($p < 0,0001$; $p = 0,050$ et $p < 0,0001$) chez les trois groupes étudiés. Pour le diagnostic du CHC, le VEGF (Se=80% et Sp=70%), l'AFP (Se=80% ; Sp= 35%) et l'IL-6 (Se=60% ; Sp= 80%), ont montré de meilleures performances diagnostiques.

Conclusion : Les résultats de cette étude montrent la nécessité d'associer à l'AFP et à l'imagerie médicale, l'IL-6 et le VEGF pour espérer diagnostiquer précocement le CHC chez les personnes ayant une hépatopathie chronique infectées par le VHB ou VHC.

Mots-clés : Biomarqueurs, Diagnostic, Hépatopathies Chroniques, CHC

ABSTRACT

Background: The search for biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC) represents a major challenge in the identification of new tools capable of being used concomitantly with Alpha fetoprotein (AFP) and medical imaging in the diagnosis of HCC. The main objective of this study was to identify relevant immunological, virological and biochemical biomarkers in the diagnosis of HCC in participants with chronic liver disease.

Methods: We used evidence-based evidence to determine the association between HBV/HCV infections and HCC development by random effect method. Subsequently, in participants with chronic hepatitis, liver cirrhosis and HCC, we took 5 ml of blood sample where we looked for some virological biomarkers in the plasma (HBsAg, anti-HCV/HCVAg), using immunochromatography and ELISA techniques, then we quantified some immunological biomarkers (12 cytokines) by LUMINEX and some biochemical biomarkers (ALAT, AST and AFP) by enzymatic assay and fluorescence immunochromatography. We determined the diagnostic performance of some of these biomarkers quantified using the ROC curve. All values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results: Overall, the meta-analysis confirmed that controls infected by HBV/HCV had a high risk of developing HCC. In our study, participants with HCC had higher ALT, AST and AFP levels compared to participants with chronic liver disease. We also observed significant variations in pro-inflammatory cytokines (IL-2 and IL-6) and angiogenic growth factor (VEGF) ($p < 0.0001$; $p = 0.050$ and $p < 0.0001$) in the three groups studied. For the diagnosis of HCC, VEGF (Se=80% and Sp=70%), AFP (Se=80%; Sp= 35%) and Il-6 (Se=60%; Sp= 80%), showed better diagnostic performance.

Conclusion: The results of this study show the need to combine AFP and medical imaging, IL-6 and VEGF to hope for early diagnosis of HCC in people with chronic liver disease infected by HBV or HCV.

Keywords: Biomarkers, Diagnosis, Chronic Liver Disease, HCC

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Contexte

L'homme et son environnement constituent une niche écologique où les microorganismes peuvent trouver des conditions de vie favorables à leur prolifération (**Sauvé & Godmaire, 2004**). En fonction des conditions de vie du milieu, le microorganisme peut s'établir ou pas de façon permanente et causer progressivement des dommages à son hôte. Au niveau cellulaire, ces dommages peuvent engendrer la transformation cellulaire et à long terme développer un cancer. Ce schéma est potentiellement celui emprunté par les virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite C (VHC) pour promouvoir la survenue du Carcinome Hépatocellulaire (CHC) (**Chen et al., 2021**). Le CHC est la tumeur maligne du foie, il occupe le sixième rang des cancers et la troisième cause de mortalité par cancer dans le monde, son incidence avoisine 900 000 nouveaux cas mondiaux par an (**Sung et al., 2021**). Les taux de CHC varient considérablement à travers le monde et les pays en développement supportent près de 17% de sa morbi-mortalité (**GLOBOCAN, 2020**). Le CHC survient le plus souvent chez les patients atteints d'hépatopathies chroniques telles que l'hépatite chronique et la cirrhose, liée aux VHB et/ou VHC (**McGlynn et al., 2021**) dont les prévalences au Cameroun sont respectivement de 11,2 % et 6,5 % (**Bigna et al., 2017a Bigna et al., 2017b**), mais également à la consommation excessive d'alcool, à l'exposition à l'aflatoxine B1 et aux maladies rares (**Garrido & Djouder, 2021**). Les facteurs étiologiques du CHC varient considérablement dans le monde et justifient la forte disparité des incidences du CHC (**Spearman & Sonderup, 2015**). Les zones de forte prévalence aux VHB/VHC sont intuitivement celles où les taux de CHC sont les plus élevés (**Li & Lan, 2016**). Ainsi, l'Afrique qui est une région à forte endémicité pour les VHB et VHC affiche plus de 15 cas incidents de CHC pour 100 000 habitants par an (**Bray et al., 2021**). L'OMS Afrique estime que le VHB et le VHC sont responsables à 96 % de la mortalité des individus atteints de cirrhose et carcinome hépatocellulaire en Afrique (**OMS régionale Afrique, 2018**). Pourtant, il existe des traitements tels que les Antiviraux à Action Directe (AAD) qui ont pour but l'obtention de la réponse virologique. Cependant, cette réponse virologique est rarement atteinte, que ce soit spontanément ou par le traitement (**Lee et al., 2010**). Après l'arrêt du traitement, une rechute à différentes périodes de temps est couramment observée et un traitement sur du long terme facilite l'émergence des génotypes viraux résistants (**Kangbai, 2017**).

Problématique

Un nombre croissant de données cliniques et expérimentales a montré que l'activité du VHB et/ou VHC était associée à une réponse inflammatoire chronique susceptible d'augmenter la probabilité de cancer **(Sukowati et al., 2016)**. En réponse à l'activité de ces virus oncogènes, le système immunitaire produit différents types de cytokines dont les rôles ont été démontrés d'une part, dans l'inhibition de la réplication virale et d'autre part, dans l'inhibition de la transformation cellulaire. Ces rôles pourraient être exploités dans le diagnostic du CHC, le suivi et le traitement des personnes atteintes d'hépatopathies chroniques **(Mondal et al., 2020)**. Des synthèses systématiques clés, qui comprenaient très peu d'études africaines, ont rapporté l'importance des VHB/VHC et certaines cytokines comme biomarqueurs pour l'identification précoce de la progression vers le CHC **(An et al., 2020)**.

Au Cameroun, les chercheurs qui se sont penchés sur la question des hépatites virales se sont appesantis sur la surveillance épidémiologique **(Bigna et al., 2017a ; Bigna et al., 2017b ; Ndifontaiyong et al., 2021 ; Eyong et al., 2019 ; Kowo et al., 2019 ; Tsague et al., 2019)** pour ne citer que les études les plus récentes. Actuellement aucune étude locale à notre connaissance ne s'est intéressée à la recherche des biomarqueurs sensibles à l'installation du CHC chez les populations à risque de développer le CHC. Pourtant l'alpha fœtoprotéine (AFP) et les transaminases ont montré leurs limites dans le diagnostic et la surveillance du CHC mais plus encore la biopsie du foie qui est l'examen de référence pour le diagnostic du CHC est de moins en moins utilisée en pratique médicale. Ces limites sont à l'origine de l'augmentation du fardeau du CHC dans le monde en général et en Afrique Subsaharienne en particulier **(Sung et al., 2021)**. Chez les individus atteints d'hépatopathies chroniques ou de CHC, l'accès aux cellules hépatiques n'étant envisageable que lors d'une biopsie du foie, il nous paraît indiqué d'investiguer dans le sang périphérique, les performances diagnostiques des biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques produits respectivement par les cellules immunitaires, l'agent infectieux et les cellules cibles de l'agent infectieux.

Question et Hypothèse de recherche

- **Question de recherche**

Parmi les biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques étudiés, lesquels sont pertinents dans le diagnostic du CHC chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques ?

- **Hypothèse de recherche**

Il existe des biomarqueurs immunologiques (pro-inflammatoires) et virologiques capables de rentrer dans le diagnostic du CHC chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques.

Objectifs de la recherche

- **Objectif général**

Identifier les biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques pertinents dans le diagnostic du CHC chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques.

- **Objectifs spécifiques**

- 1- Étudier l'association entre le VHB, le VHC et le développement du CHC ;
- 2- Décrire le profil de quelques marqueurs virologiques, biochimiques et cytokiniques des participants à l'étude ;
- 3- Identifier les biomarqueurs pertinents dans le diagnostic du CHC chez les participants atteints d'hépatopathies chroniques.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. Biomarqueurs immunologiques : les cytokines

Au cours de la dernière décennie, le domaine de l'immunothérapie anticancéreuse a connu des progrès impressionnants. L'immunothérapie telle que l'inhibition du point de contrôle immunitaire, les thérapies engageant les lymphocytes T, des anticorps monoclonaux a démontré son efficacité. Cette partie de la revue de la littérature fournit les généralités sur quelques cytokines cibles que nous avons recherché dans la population étudiée.

I.1.1. Cytokines pro-inflammatoires

❖ Interleukine-2 (IL-2)

L'IL-2 est un facteur de croissance essentiel pour la prolifération des lymphocytes T et la génération de cellules effectrices et mémoires. Sur la base de cette activité, la première application thérapeutique de l'IL-2 est de stimuler les réponses immunitaires chez les patients cancéreux. L'IL-2 est essentielle pour favoriser la génération, la survie et l'activité fonctionnelle des cellules Treg qui stimulent, maintiennent et contrôlent les réponses immunitaires des cellules T (Abbas *et al.*, 2018 ; Kolitz *et al.*, 1985).

❖ Interleukine 6 (IL-6)

L'IL-6 est une cytokine multifonctionnelle qui joue un rôle clé dans régulateur primaire des inflammations aiguës et chroniques. Lors de la stimulation antigénique de cellules T CD4 + naïves indifférenciées, l'IL-6 dirige ces cellules pour qu'elles expriment le facteur de transcription Ror γ t, qui est nécessaire à la différenciation Th17. Dans certaines conditions, l'IL-6 présente un rôle anti-inflammatoire dans les cellules myéloïdes, telles que les cellules dendritiques et les macrophages (Hirano, 2021 ; Kleiner *et al.*, 2013).

❖ Interleukine 12 (IL-12)

L'IL-12 est une cytokine pro-inflammatoire produite par les cellules dendritiques, les macrophages et les lymphocytes B en réponse à des agents pathogènes microbiens. L'IL-12 induit la production d'IFN γ par les lymphocytes T, les cellules tueuses naturelles. L'IL-12 est une puissante cytokine pro-inflammatoire de type 1 qui a longtemps été étudiée comme immunothérapie potentielle contre le cancer (Ethuïn *et al.*, 2004 ; Yan *et al.*, 2018).

❖ Interleukine 17 (IL-17)

L'IL-17 est la cytokine signature du sous-ensemble de cellules T helper 17 (Th17) récemment identifié. En effet, l'IL-17 est une cytokine inflammatoire impliquée dans le recrutement des neutrophiles en induisant l'expression des cytokines pro-inflammatoires telles que : Tumor Necrosis Factor (TNF), IL-1, IL-6, Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF), et le Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF), les chimiokines (CXCL1, CXCL5, IL-8, CCL2 et CCL7) (Eyerich *et al.*, 2017 ; Kawaguchi *et al.*, 2004).

❖ Tumor Necrosis Factor (TNF- α)

TNF- α est une cytokine proinflammatoire puissante, pléiotrope, produite par les macrophages, les neutrophiles, les fibroblastes, les kératinocytes, les cellules NK, T et B, ainsi que par les cellules tumorales. Le TNF- α présente un double effet dans le développement des tumeurs. Il est cytotoxique pour les cellules tumorales à forte dose. Mais à faible dose, il est également impliqué dans la formation tumorale et l'angiogenèse dans l'environnement tumoral (Camussi *et al.*, 1991 ; Salomon *et al.*, 2018).

I.1.2. Cytokines anti-inflammatoires

❖ Interleukine 4 (IL-4)

L'IL-4 est une cytokine pléiotrope et glycoprotéique. L'IL-4 est une cytokine principalement produite par des cellules T auxiliaires de type 2 (Th2). Mais, plusieurs types de cellules immunitaires innées, notamment les mastocytes, les basophiles et les éosinophiles, produisent aussi l'IL-4. L'IL-4 a une capacité à supprimer la production de TNF- α et d'IL-1, elle induit également la production de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1ra). Il est maintenant reconnu que l'IL-4 dirige un programme d'activation alternatif des macrophages. Contrairement aux macrophages classiquement activés, qui participent à la production de cytokines pro-inflammatoires, les macrophages activés alternativement neutralisent l'inflammation via la libération d'IL-1ra, et IL-10 (Dubin *et al.*, 2021 ; Noma, 1992).

❖ Interleukine-10 (IL-10)

L'IL-10 est une cytokine immunosuppressive produite par de nombreuses cellules de la réponse immunitaire innée et adaptative, notamment les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules B et les cellules T. le rôle majeur de l'IL-10 est d'agir comme un régulateur de rétroaction de la réponse immunitaire en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules innées telles que les macrophages et les cellules dendritiques. Dans les cancers, l'IL-10 peut jouer un rôle dans l'immunosuppression et les réponses immunitaires antitumorales en supprimant l'angiogenèse qui est un processus nécessaire au développement d'un apport sanguin à la tumeur et par ricochet, supprimer l'établissement d'une tumeur (Donnelly *et al.*, 1999 ; Wei *et al.*, 2019).

I.1.3. Cytokines antivirales

❖ Interféron

Découverts dans les années 1950 et nommés pour leur capacité à « interférer » avec la réplication virale, les IFN forment une famille diversifiée de cytokines. Chez l'homme, on distingue les IFN de type I composés d'IFN- α , d'IFN- β , d'IFN- ϵ et d'IFN- ω . Les IFN de type II et III comportent respectivement l'IFN- γ et l'IFN- λ . Les d'IFN- α et IFN- γ sont principalement associés à une réduction de la réplication du VHC et du VHB. La croissance, la maturation et la migration des cellules impliquées dans la réponse immunitaire spécifique est facilitée par l'IFN- γ (Lazear *et al.*, 2019 ; McNair & Kerr, 1992).

I.1.4. Facteurs de croissance

❖ Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF)

Le VEGF est un régulateur clé du développement des vaisseaux sanguins et lymphatiques au cours de la croissance tumorale. L'angiogenèse soutient la croissance tumorale en fournissant une source d'oxygène, de nutriments, de facteurs de croissance, d'enzymes protéolytiques et de facteurs de coagulation et fibrinolytiques. La surexpression du VEGF a été associée à la progression tumorale et à un mauvais pronostic dans plusieurs tumeurs malignes humaines, notamment les carcinomes du sein, du côlon, du rein, du foie, du poumon, du pancréas, de la prostate et de l'estomac (Melincovici *et al.*, 2018 ; Plate & Warnke, 1997).

❖ Granulocytes Colonies Stimulating Factor (G-CSF)

La G-CSF est une glycoprotéine qui stimule la granulopoïèse et conduit à la prolifération, la maturation et la mobilité des neutrophiles. La G-CSF est fortement produit dans plusieurs cancers, tels que le cancer du côlon, du sein, de la thyroïde, du pancréas, de la vessie, du poumon et du foie. Des études ont montré que la présence de la G-CSF dans le microenvironnement tumoral peut favoriser la progression de la malignité, les métastases, un mauvais pronostic et une diminution de la survie globale des patients. Diverses études ont démontré une corrélation entre les taux plasmatiques élevés de G-CSF et une progression tumorale aberrante (**Hamilton, 2020 ; Rapoport et al., 1992**).

I.1.5. Cytokines de régulation des réponses immunitaires

❖ Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted (RANTES)/CCL5

CCL5/RANTES appartiennent à la sous-famille des chimiokines C--C, dont les chimiokines présentent des cystéines adjacentes et comprend la majorité des chimiokines. Bien qu'initialement considérée comme une cytokine spécifique des lymphocytes T (d'où son nom original, RANTES), CCL5 est produite par les plaquettes, les macrophages, les éosinophiles, les fibroblastes, les cellules endothéliales, épithéliales et endométriales. Cette chimiokine médie de multiples processus biologiques pour le contrôle des agents pathogènes et l'amélioration de l'inflammation dans plusieurs troubles, tels que le cancer et l'athérosclérose. Les polymorphismes du gène CCL5 ont montré que CCL5 est protecteur contre VHC et le VHB (**Aldinucci et al., 2020 ; Olbrich et al., 1999**).

❖ Interleukine 15

L'IL-15 est une cytokine multifonctionnelle qui cible de nombreux types de cellules et relie le système immunitaire inné au système immunitaire adaptatif. Il agit comme un facteur de croissance et favorise également la survie des cellules T, B et NK en empêchant l'apoptose par la régulation à la hausse des facteurs anti-apoptotique et à la baisse des facteurs pro-apoptotique. L'IL-15 joue un rôle crucial dans le développement, l'homéostasie et la fonction des cellules T, NK et NK-T, et est en outre nécessaire pour diverses fonctions des cellules B, des cellules dendritiques (DC), des macrophages et des mastocytes (**Cosman et al., 1995 ; Fiore et al., 2020**).

I.2. Biomarqueurs virologiques : Virus de l'hépatite B et C

I.2.1. Virus de l'hépatite B

I.2.1.1. Épidémiologie du Virus de l'hépatite B

L'OMS estime l'incidence de l'hépatite virale aiguë à plus de 4 millions de nouveaux cas par an dans le monde (Petruzziello, 2018). Dans les Régions OMS du Pacifique occidental et l'Afrique, on observe respectivement 116 millions et 81 millions de personnes infectées par le VHB (WHO, 2021). (Figure 1) La morbidité et la mortalité liées au VHB sont principalement corrélées aux maladies chroniques du foie. (Gentile & Antonelli, 2019). Environ 20 à 25% des patients ayant une hépatite chronique développeront une cirrhose, parmi ceux-ci 5 à 10% développeront le CHC. La mortalité liée au VHB affecte près de 255 000 en Afrique subsaharienne (Badawi *et al.*, 2018). Selon une enquête réalisée 2017, la prévalence du VHB au Cameroun est de 11,2 %. Cette prévalence varie en fonction des régions au Cameroun. Nous pouvons classer la prévalence entre ces régions en trois groupes : les régions à forte prévalence (> 15 % ; régions de l'Extrême-Nord, du Nord et du Sud), les régions à prévalence moyenne (8 % à 15 % ; Centre, Est et Sud-Ouest) et les régions à faible (<8%, Littoral, Nord-Ouest et Ouest). Nous constatons une absence de données pour la prévalence du VHB dans la région de l'Adamaoua. (Bigna *et al.*, 2017b)

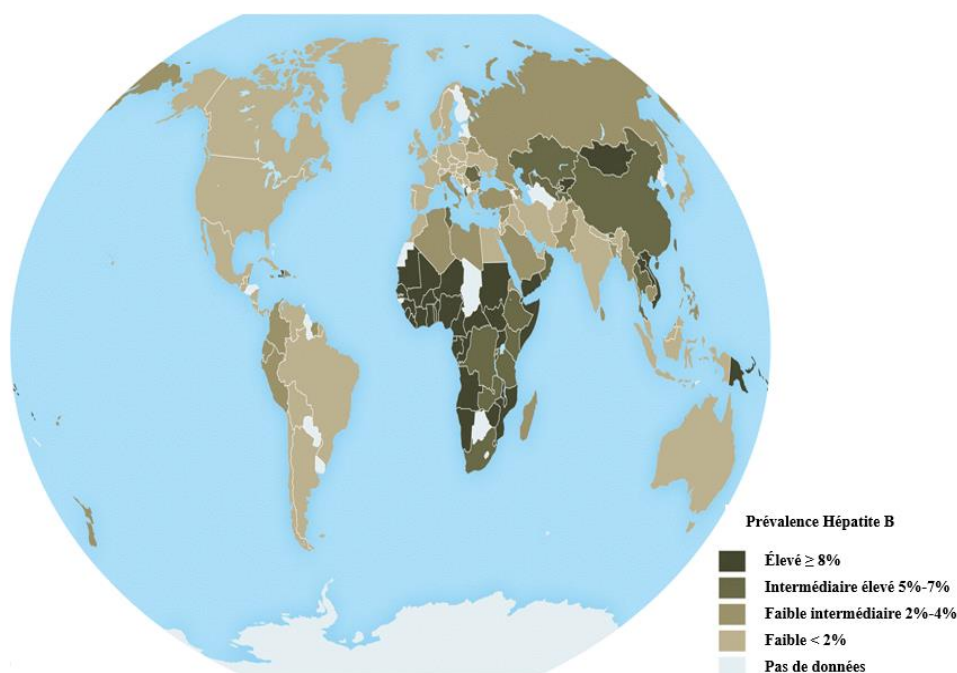


Figure 1 : Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B (CDC, 2019a)

I.2.1.2. Histoire et Biologie du VHB

C'est en 1969 que BLUMBERG et ses collaborateurs ont découvert un marqueur antigénique dans le sérum d'un aborigène australien, qu'ils ont nommé antigène Australia et connu aujourd'hui sous le nom d'antigène de surface du VHB (AgHBs). En 1970, DANE et ses collaborateurs ont identifié la particule virale. En 1976, MAUPAS et collaborateurs publient les premiers essais d'un vaccin (Gerlich, 2013).

- **Taxonomie**

Le VHB appartient à la famille des *Hepadnaviridae* et au genre *Hepadnavirus*. À ce niveau taxonomique regroupe deux sous genres : *Orthohepadnavirus* et *Avihepadnavirus*. Le genre *Orthohepadnavirus* comprend le VHB humain et mammifères. Le genre *Avihepadnavirus* regroupe le VHB des oiseaux qui diffère de celui des mammifères par l'absence du gène X (Schaefer, 2007).

- **Structure**

En microscopie électronique, trois formes différentes du VHB ont été identifiées à savoir, les particules de Dane (particules infectieuses), les particules sphériques et les particules allongées. La particule de Dane mesure 42 à 43 nm de diamètre, elle est composée d'une nucléocapside icosaédrique de 22 à 24nm, d'un ADN associé aux protéines core du HBV (AgHBc), et d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les protéines de surface du HBV (AgHBs) (Tsukuda & Watashi, 2020). L'ADN du VHB est circulaire partiellement double brin, disposant de quatre fenêtres de lectures ouvertes. La région S code pour les protéines d'enveloppe (l'antigène HBs). La région C code pour deux protéines : la protéine core et une protéine non structurale (antigène HBe). La région P code pour l'ADN polymérase virale. La région X code pour un transactivateur du génome viral et cellulaire. C'est ce dernier polypeptide qui dispose d'un pouvoir oncogène (Tong & Revill, 2016). À ce jour huit génotypes sont connus, de A à H, qui se distinguent par leur distribution géographique. Certains génotypes de VHB sont également subdivisés en sous-génotypes ou sous types (Schaefer, 2007). Les particules sphériques et filamenteuse sont non infectieuses car elles sont composées uniquement d'une enveloppe lipidique sur laquelle sont insérées les protéines de surface (Tsukuda & Watashi, 2020) (Figure 2) page 10.

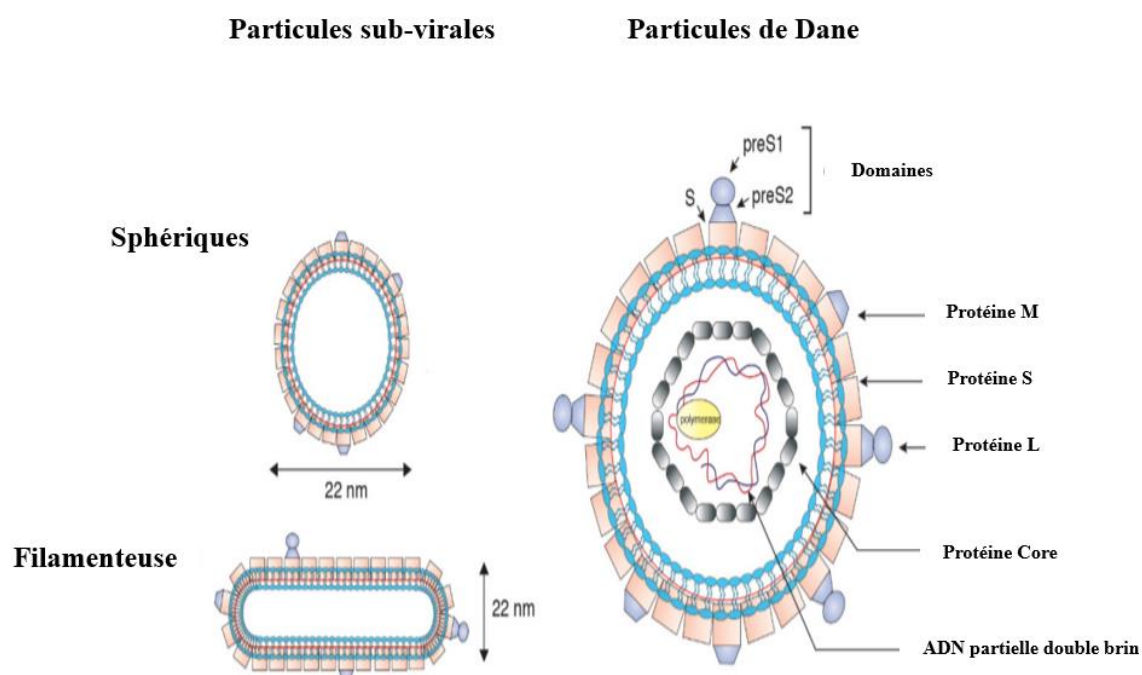


Figure 2 : Structure du virus de l'hépatite B (Herrscher *et al.*, 2020)

I.2.1.3. Modes de transmission

Le VHB est présent dans la plupart des liquides biologiques (sang, sperme, sécrétions vaginales, la salive, lait maternel et les urines). La contagiosité du VHB est liée à la résistance du virus dans le milieu extérieur, sa capacité de garder son pouvoir infectieux pendant plus de 7 jours à température ambiante (Nguyen *et al.*, 2020). On distingue 2 modes de transmission : la transmission horizontale (la voie sexuelle, la voie parentérale par voie intraveineuse ou per-nasale etc....) transmission verticale (se produit habituellement au moment de la naissance, par allaitement, la transmission *in utéro* est rare) (WHO, 2021).

I.2.1.4. Diagnostic de l'hépatite B

Le diagnostic du VHB se fait par la recherche des antigènes (Ag), de l'ADN du VHB et des anticorps (Ac). L'Ag HBs indique la présence du virus. L'Ag HBe indique la répllication virale l'infectiosité. L'Ac Anti HBc indique un contact avec le VHB. L'Ac Anti HBs indique une réponse immunologique soit naturelle soit à la vaccination. L'Ac Anti HBe permet de différencier le VHB « sauvage » du « mutant de la région pré-C ». L'ADN du VHB indique la présence du virus et la répllication virale (Moretto *et al.*, 2020).

❖ Hépatite virale B aiguë

Le diagnostic du VHB aiguë repose sur la présence simultanée de l'Ag HBs et des IgM Anti HBc. La disparition de l'Ag HBs de l'apparition des Ac Anti HBs (séroconversion HBs) est un critère sérologique de guérison du VHB aiguë. En cas de persistance de l'Ag HBs, la recherche de l'ADN du VHB et de l'Ag HBe est indiquée pour un cas d'évolution chronique (Tsai *et al.*, 2015), la figure 3 (page 11) nous montre l'évolution de ces marqueurs.

❖ Hépatite B chronique

Au cours du VHB chronique, plusieurs phases peuvent être décrites. Au cours de la phase de tolérance immunitaire, l'Ag HBe est positif, ADN VHB est positif (réplication virale active) les transaminases sont normales (lésions hépatiques minimales) et la contagiosité est élevée. Pendant la phase de clairance immunitaire, l'Ag HBe est positif, la réplication virale diminue les transaminases et les lésions hépatiques augmentent. La phase de portage inactif, l'Ag HBs est positif, l'Ac Anti HBe est présent, nous observons de très faible taux d'ADN VHB et des transaminases normales. La phase améliorative, l'Ag HBs négatif, ADN VHB indétectable, Ac Anti HBc, plus ou moins les Ac anti HBs. L'Ag HBe positif, l'Ac Anti HBe négatif, indique la présence s VHB « sauvage ». L'Ag HBe négatif, l'Ac Anti HBe positif, indique le VHB mutant dans la région pré-C (figure 3) (Li *et al.*, 2020 ; Tang *et al.*, 2018).

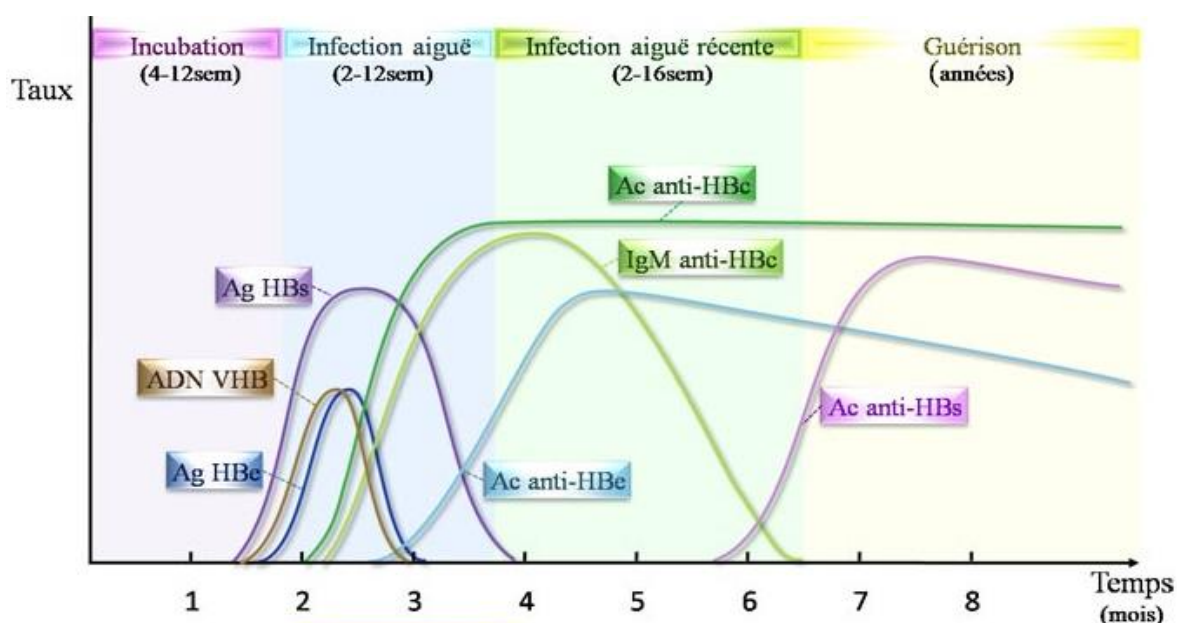


Figure 3 : Evolution des marqueurs au cours de l'hépatite B (Chen & Tian, 2019).

I.2.1.5. Prévention de l'hépatite B

❖ Mesures non vaccinales

Les mesures non vaccinales consistent à la sensibilisation des populations, à la promotion du préservatif, aux examens dépistages de routines, aux respects des règles d'hygiène, à stérilisation du matériel médical, à la sélection et l'exclusion des donneurs de sang porteurs du VHB, à la prescription des prophylaxies aux porteurs du VHB (**Broussard & Kahwaji, 2021 ; Gentile & Antonelli, 2019**).

❖ Mesures vaccinales

La vaccination contre le VHB est le moyen le plus efficace pour prévenir l'hépatite B. Son mécanisme repose sur l'induction d'anticorps neutralisants, qui ont pour rôle de bloquer la pénétration des Ag viraux dans les cellules cibles. On considère que si le système immunitaire, est apte à produire des Ac protecteurs contre le VHB (10 mUI/ml) après la prise du vaccin sera, capable d'induire une protection à l'organisme à l'aide de la mémoire immunitaire (**Posuwan et al., 2020 ; Soriano et al., 2020**).

I.2.2. Virus de l'hépatite C

I.2.2.1. Epidémiologie Virus de l'hépatite C

L'infection par le VHC est un problème de santé publique majeur, elle affecte sensiblement 3% de la population mondiale, soit environ 170 millions d'individus. Mais la prévalence varie en fonction des zones géographiques, ainsi de nombreux pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du Sud sont les plus affectés (CDC, 2019b). Selon une enquête réalisée en 2017, la prévalence du VHC au Cameroun est de 6,3 %. Cette séroprévalence varie selon les régions. Cette prévalence varie en fonction des régions. La région de l'Est vient en tête avec la séroprévalence la plus élevée 21,1%, suivie par la région du Centre 4,1% tandis que les taux les plus bas sont enregistrés dans la région de l'Ouest 0,4%, le sud-ouest 1,7%, la région du Nord-Ouest 1,9% et la région du Littoral 2,2. Il est important de noter que les régions de l'Adamaoua et du Nord manquent de données pour la prévalence du VHC (Bigna *et al.*, 2017a). La figure 4 décrit la répartition du VHC dans le monde.

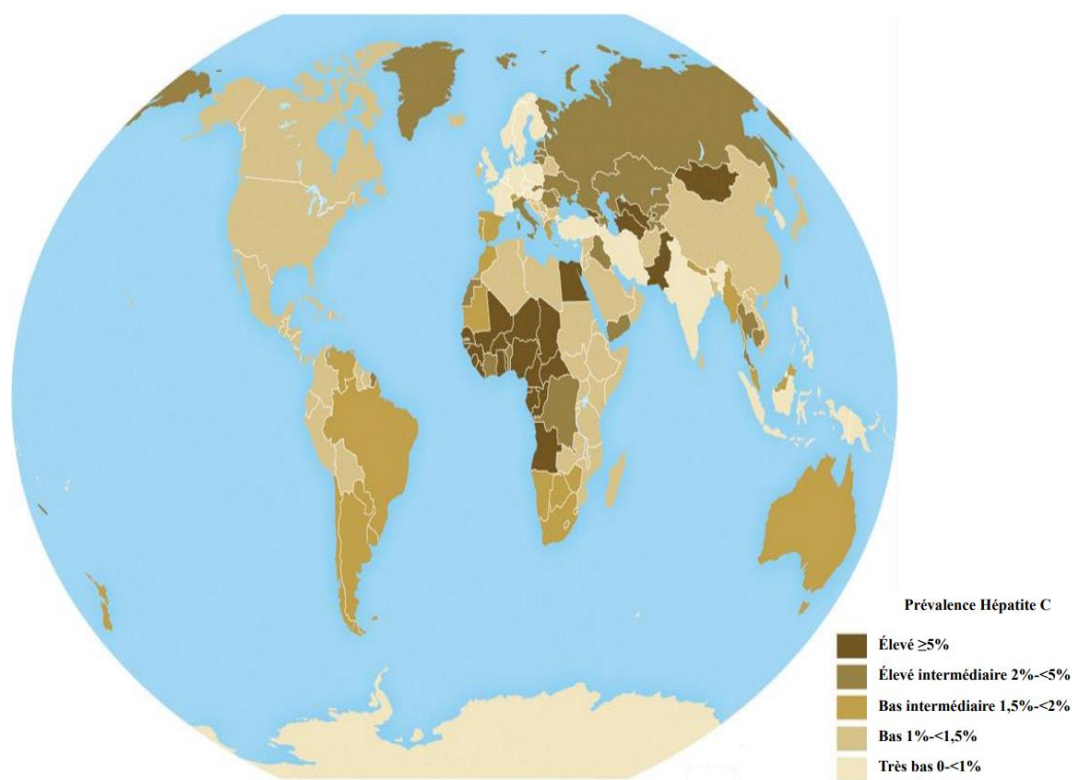


Figure 4 : Prévalence mondiale de l'hépatite chronique C (CDC, 2019b)

I.2.2.2. Structure, classification et variabilité génomique du VHC

Le VHC a été découvert dans les années 1970 par l'équipe de Feinstone et collaborateurs (**Simmonds, 1995**). Mais c'est en 1989 que ses caractéristiques moléculaires ont été mises en évidence et baptisé VHC. Le VHC est un virus à ARN monocaténaire linéaire de polarité positive, doté d'une capside icosaoédrique et d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont ancrées les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 (**figure 5**). Le VHC appartient à la famille des Flaviviridae, du Genre Hepacivirus (**Le Guillou-Guillemette & Apaire-Marchais, 2019**). Les génotypes sont au nombre de six (1 à 6) divisés eux-mêmes en sous-types (a, b, c...) Figure 6, décrit l'arbre phylogénique et les différents génotypes du VHC (**Bukh, 2016**).

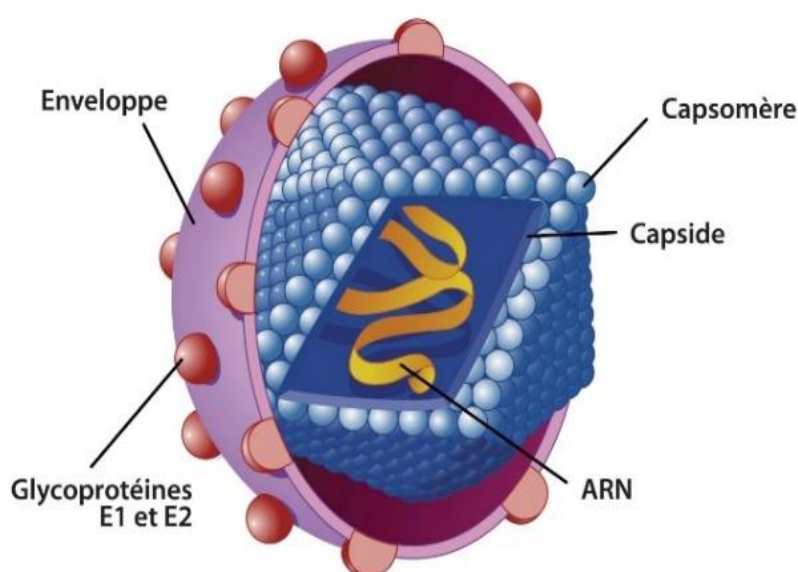


Figure 5 : Structure du VHC (Le Guillou-Guillemette & Apaire-Marchais, 2019)

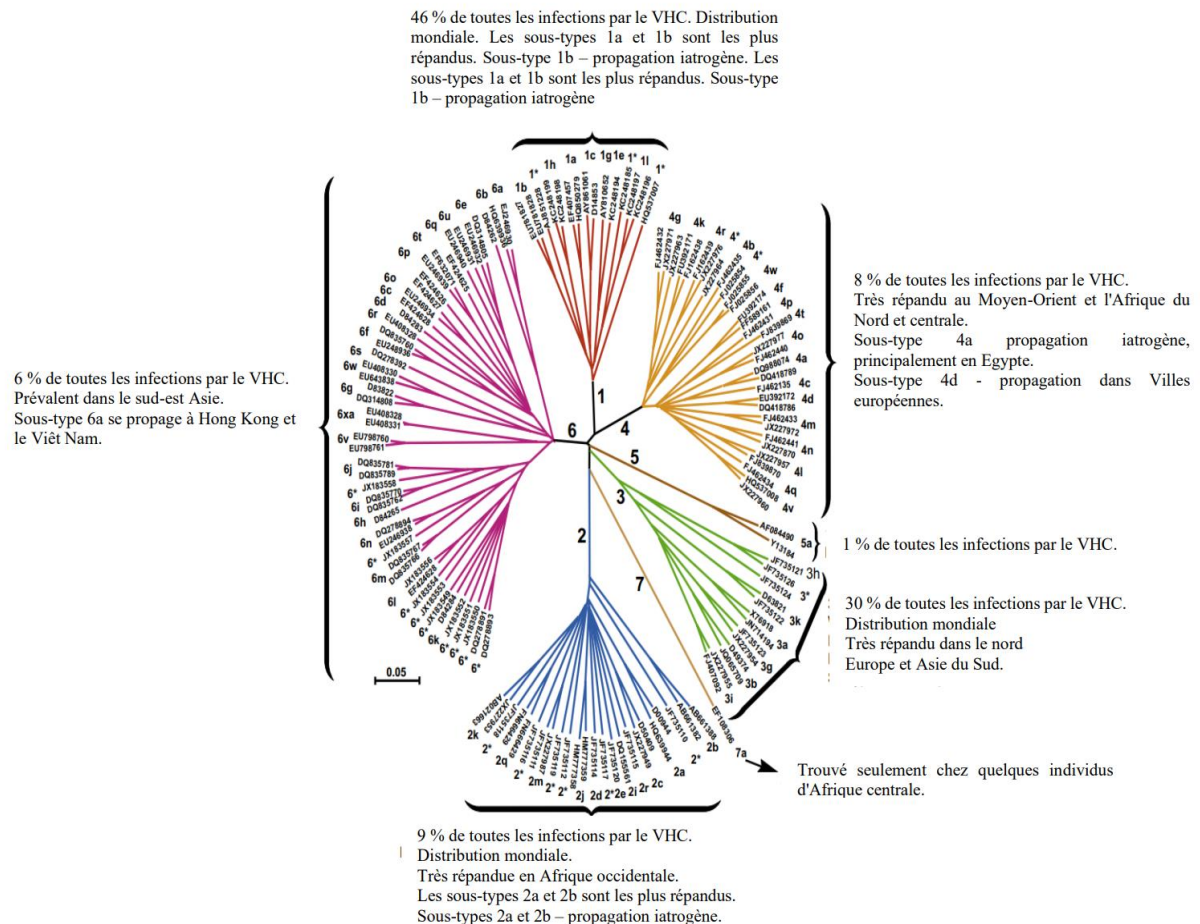


Figure 6 : Arbre phylogénétique du VHC (Bukh, 2016)

I.2.2.3. Cycle viral

Le VHC a un tropisme particulièrement restreint, les seules cellules cibles du virus sont les hépatocytes et les cellules mononucléées qui constituent ses réservoirs. L'être humain et le chimpanzé peuvent être infectés par le VHC (**Pol & Corouge, 2014**). La traduction des protéines virales et la réplication de l'ARN virale ont lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les particules virales sont assemblées et maturées dans l'appareil de Golgi avant d'être relarguées à l'extérieur de la cellule. Les virions nouvellement formés peuvent alors infecter de nouvelles cellules cibles (**Pol & Corouge, 2014**). Le VHC est présent dans la circulation sanguine de l'hôte sous différentes formes. Il peut circuler sous forme libre, et sous forme associé à des Low-Density Lipoproteins (LDL), des Very-Low-Density Lipoproteins (VLDL) ou des immunoglobulines. Les associations virus-LDL ou virus-VLDL, appelées lipoviroparticules (LVP) sont davantage infectieuses que le virus sous forme libre (**Walic, 2010**). La figure 7 ci-dessus décrit le cycle viral du VHC.

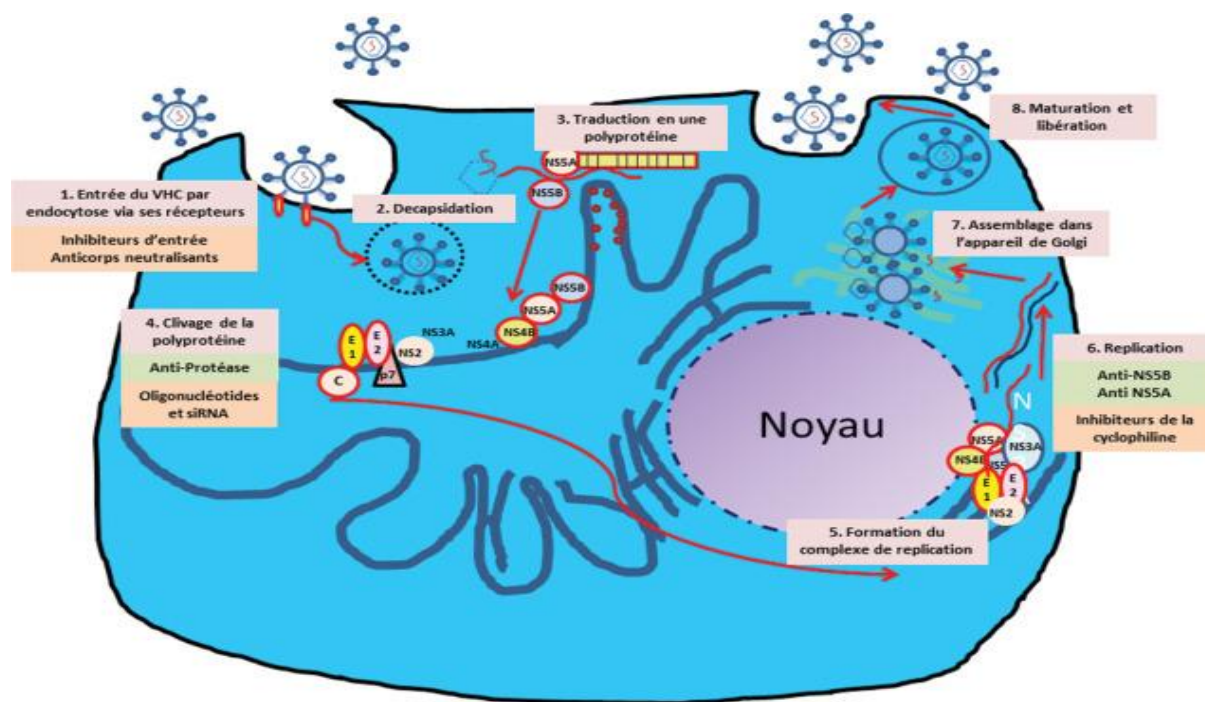


Figure 7 : Cycle viral du VHC (Gozlan, 2016)

Après attachement à la cellule cible (1), le VHC interagit avec des récepteurs membranaires pour être endocyté (2). Après décapsidation (3), l'ARN viral est relargué dans le cytoplasme puis traduit (4) et répliqué au niveau du RE (5) où il va être assemblé (6). Sa maturation a lieu dans l'appareil de Golgi (7), puis le virion nouvellement formé est exocyté dans l'espace extracellulaire (8) pour l'infection de nouvelles cellules. GL, gouttelette lipidique ; RE, réticulum endoplasmique.

I.2.2.4. Transmission du virus, physiopathologie et diagnostic

a) Modes de transmission entre cellules

Deux modes de transmission des particules virales nouvellement formées entre les cellules existent, la transmission du virus libre ou la transmission directe de cellule à cellule. Lors de la transmission du virus libre, le virus est exocyté de la cellule infectée et relargué dans l'environnement extracellulaire, puis peut infecter une cellule naïve par un mécanisme d'entrée classique en utilisant les récepteurs spécifiques du virus à la surface de la cellule cible. Lors de la transmission cellule à cellule, le virus est transmis directement à la cellule naïve grâce aux jonctions cellulaires. Ce mode de transmission permet au virus d'échapper aux réponses immunitaires et notamment aux anticorps neutralisants, ainsi qu'aux drogues antivirales ciblant le virus libre présent dans l'espace extracellulaire. La transmission cellule à cellule serait la voie dominante pour la persistance virale au niveau hépatique chez les patients chroniquement

infectés (**Carlioni et al., 2012**). La figure 8 présente la transmission entre cellule, en ressortant les récepteurs et ligands impliqués.

b) Modes de transmission chez l'homme

La transmission du VHC peut se faire par voie parentérale, intraveineuse, sexuelle, transfusion sanguine, par transplantation d'organe. On peut aussi avoir la transmission mère-enfant. De nombreux facteurs de risque non-négligeables sont à l'origine du maintien de la prévalence élevée du VHC suite à l'utilisation du matériel chirurgical mal aseptisé, la montée des piercing et tatouage et consommations de drogues des facteurs dans ces pays (**Bukh, 2016**).

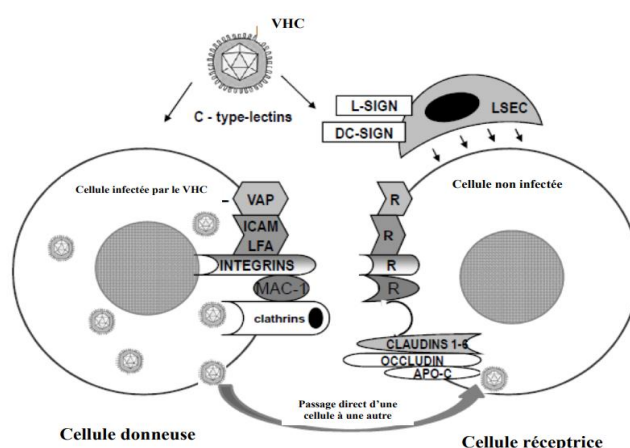


Figure 8 : Modes de transmission du VHC entre cellules (Carlioni et al., 2012)

c) Physiopathologie

L'infection par le VHC conduit dans 10 à 25% des cas à une infection aiguë qui peut guérir spontanément. Dans le cas où l'infection devient chronique, 20 à 30% peut aboutir à la cirrhose parmi ceux-ci 1 à 4% peuvent développer le CHC. Ce processus progresse lentement et peut atteindre un délai de moyen 30 à 40 ans pour la survenue d'un CHC. Les mécanismes impliqués dans la progression des lésions hépatiques ne sont pas complètement connus. Il est largement admis que le virus n'a pas d'effet cytopathique direct sur les hépatocytes, excepté le phénomène d'accumulation de lipides au sein des cellules hépatocytaires appelé stéatose. Les lésions au niveau du foie sont principalement inflammatoires, résultant d'infiltrations lymphocytaires (**Bahadi et al., 2013**) (Figure 9).

d) Diagnostic

Le diagnostic du VHC peut se faire par la détection directe du virus ou mettant en évidence la présence d'anticorps anti-VHC. Les tests ciblant le virus permettent la détection de l'ARN viral ou de l'antigène Core. La détection de l'antigène Core par tests immunologiques est facilement réalisable, mais moins sensible que la quantification de l'ARN viral. Les anticorps anti-VHC qui apparaissent au début de l'infection peuvent être quantifiés grâce à des tests immunologiques. Un génotypage peut être réalisé soit par le séquençage qui consiste en l'analyse de séquences après amplification de fragments du génome viral par PCR, soit par l'hybridation inverse qui identifie des nucléotides ou motifs spécifiques à des positions données (Pol & Corouge, 2014). La figure 9 (page 19) décrit l'évolution de la maladie, de l'infection à VHC aux complications dont le CHC.

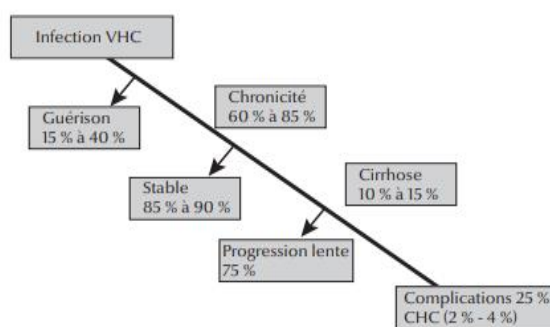


Figure 9 : Histoire naturelle de l'infection par le VHC (Bahadi *et al.*, 2013)

❖ L'hépatite aigüe

La primo-infection par le VHC est généralement asymptomatique. L'ARN viral peut être détecté dans le sérum en quelques jours, ou plusieurs semaines après l'infection. Une augmentation sérique des transaminases est aussi observable, dont l'alanine aminotransférase (ALAT) qui prédomine au niveau du foie. L'infection aigüe se caractérise par la présence l'ARN viral dans le sérum, un pic de l'ALAT, des anticorps anti-VHC spécifiques (**Maheshwari et al., 2008**). La figure 10 ci-dessous décrit l'évolution des différents marqueurs impliqués au cours d'une hépatite aigüe.

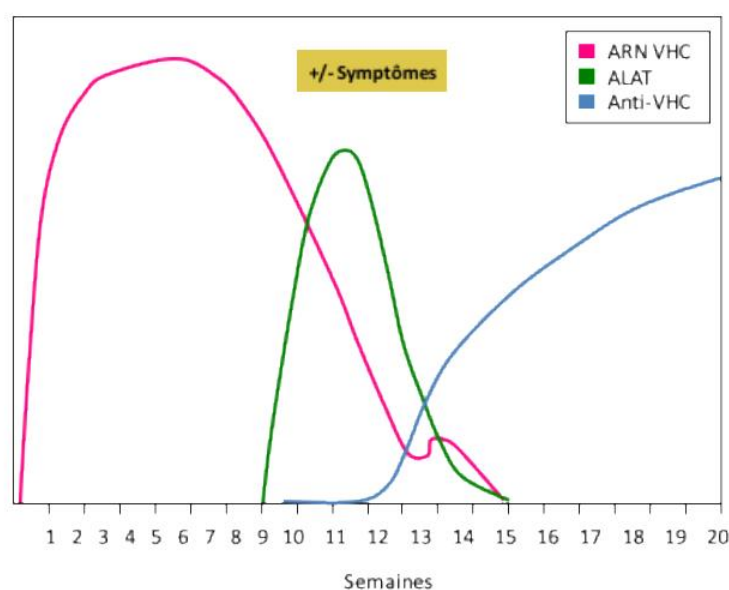


Figure 10 : Cinétique des différents marqueurs lors de l'infection aigüe par le VHC (Maheshwari et al., 2008)

❖ L'hépatite chronique

Dans 75-90% des cas d'hépatite chronique, l'ARN viral persiste au-delà de 6 mois après le début de l'infection. La charge virale est généralement stable, et varie selon les individus. L'hépatite chronique est rarement symptomatique, elle se caractérise par des lésions hépatiques, l'ALAT élevée, l'ARN viral persistant malgré la présence d'anticorps anti-VHC (**Malnick et al., 2014**). La figure 11 ci-dessous décrit l'évolution des différents marqueurs impliqués au cours de l'hépatite chronique.

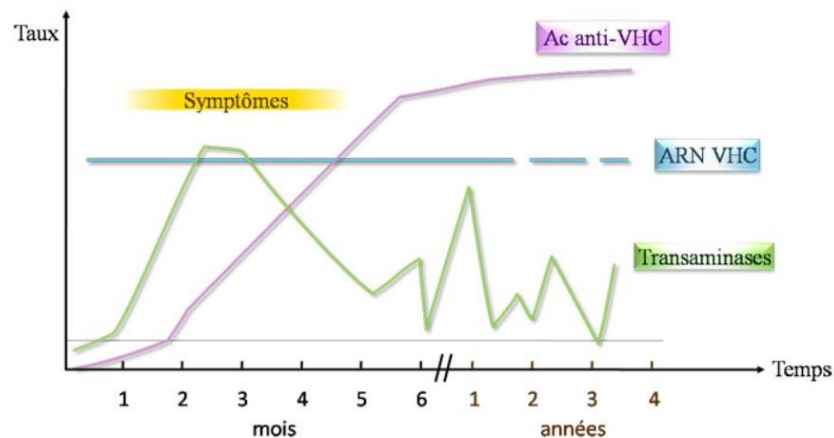


Figure 11 : Cinétique des différents marqueurs lors de l'infection chronique par le VHC (Adinolfi *et al.*, 2017)

I.2.2.5. Stratégies d'évasion du VHC au système immunitaire

Afin de persister de façon chronique, le virus développe des stratégies pour échapper aux réponses immunitaires de l'hôte. En effet, le VHC via ses protéases NS3, NS4A, NS5A et ses protéines Core, E1 et E2 bloque de manière plus ou moins directe, les voies de signalisation RIG-1 (*Retinoic acid inducible gene-1*), TLR (*Toll-like Récepteur*), Jak-STAT (*signal transducers and activators of transcription*), ISGs (*Interferon-Stimulated Genes*), RLR (*RIG-I-like Receptor*), TRIF et CARDIF (protéine de signalisation antivirale mitochondriale) en induisant une altération dans la production d'interférons [de type I (IFN- α/β) et de type III (IFN- λ)] par les hépatocytes et les cellules mononuclées du sang (Rodrigue-Gervais & Lamarre, 2010 ; Stuart *et al.*, 2021). Malgré le fait que les lymphocytes T infiltrent le foie, ils ne parviennent pas à combattre l'infection car le virus agit activement via ses protéases et ses protéines pour inhiber les réponses cellulaires de l'hôte. La protéine Core interagit avec le récepteur du complément gC1q présent à la surface des lymphocytes T intrahépatiques, pour induire une surexpression du PD-1 (*Programmed Death-1*) qui inhibe l'activation des cellules T par conséquent, la production de cytokines (Dustin *et al.*, 2014). La diversité génétique des différentes quasi-espèces circulant dans l'hôte permet l'échappement aux anticorps neutralisants et aux réponses cellulaires spécifiques. En effet, des changements d'acides aminés dans la région hypervariable 1 de la glycoprotéine E2 permet l'échappement aux anticorps neutralisants, et des mutations dans des régions immunogènes ont pour conséquence la non-reconnaissance par les cellules T spécifiques du virus (Rodrigue-Gervais & Lamarre, 2010).

I.3. Carcinome hépatocellulaire

I.3.1. Généralités

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) se développe le plus souvent sur une cirrhose (75 à 80% des cas), rarement sur une hépatite chronique, exceptionnellement sur un foie sain. Le CHC est la tumeur maligne la plus fréquente du foie. Son incidence a connu une nette augmentation ces dernières années (**Bruix et al., 2001**). En Afrique francophone, GLOBOCAN en 2012 a enregistré 13 539 décès, au Cameroun, c'est le quatrième cancer et la quatrième cause de décès par cancer. L'âge moyen de survenue se situe autour de 34 ans et les facteurs de risque sont tels que la consommation d'alcool, les infections aux VHB, VHC, VHD, l'exposition à l'aflatoxine B1 et des maladies rares (**Noah et al., 2016a**).

I.3.2. Diagnostic

Le diagnostic est envisagé après la découverte d'une lésion hépatique à l'échographie, ou à l'occasion de symptômes tumorales. Les tests non invasifs ne sont pas recommandés pour les tumeurs de moins de 10 mm, car un tiers des cas seulement peuvent être diagnostiqués. La biopsie qui est un test invasif, est l'examen de référence du diagnostic du CHC. Il est de moins en moins pratiqué et ceci a pour conséquence l'absence d'échantillon histologique qui pénalise la recherche car les fragments tumoraux sont essentiels aux progrès des connaissances sur les mécanismes de la carcinogenèse et la détermination de biomarqueurs pronostiques et prédictifs du CHC (**EASL, 2017a**).

❖ Examens

La caractérisation radiologique des nodules permet de définir plusieurs catégories de nodules allant du nodule bénin au CHC (**Couri & Pillai, 2019**). Le scanner hélicoïdal, l'IRM, l'échographie de contraste peuvent être utilisés pour la caractérisation des nodules. L'IRM permet de distinguer les nodules de régénération et les nodules cancéreux par rapport au scanner hélicoïdal. L'échographie de contraste permet de caractériser la vascularisation d'un nodule. Sa sensibilité pour dépister l'hyper vascularisation à la phase artérielle est supérieure à celle du scanner (**Kanwal & Singal, 2019**). La biopsie permet une caractérisation indispensable pour la prise en charge. Car le CHC est très hétérogène au niveau anatomo-pathologique et moléculaire. La biopsie permet également d'évaluer le pronostic tumoral (**Vogel et al., 2021**).

❖ Éléments nécessaires à la décision thérapeutique

Pour les tumeurs solides excepté le CHC, la décision thérapeutique est prise en fonction de la classification TNM (T pour tumeur correspond à la taille de la tumeur ; N pour « node » indique si des ganglions lymphatiques ont été ou non envahis ; M pour métastase, indique la présence ou l'absence des métastases). Pour le CHC la classification BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*) est la plus recommandée par les organisations internationales (**Couri & Pillai, 2019**).

I.3.3. Traitement

Les 2 critères principaux sur lesquels s'appuient les discussions thérapeutiques sont l'extension tumorale et l'état anatomique et fonctionnel du foie non tumoral. Les indications de résection, destruction percutanée et Chimio Embolisation artérielle sont limitées aux malades en bon état général (OMS 0-1). Les indications de traitements systémiques aux malades en état général « conservé » ($OMS \leq 2$) (**EASL, 2017a**). La figure 12 ci-dessus donne le diagramme d'aide à la décision thérapeutique. Les traitements peuvent être curatifs ou palliatifs. Parmi les traitements curatifs on distingue la transplantation, la résection, la destruction percutanée auxquels est toujours associé un traitement adjuvant (**Couri & Pillai, 2019**). Parmi les traitements palliatifs on distingue la Chimio embolisation artérielle, les traitements médicamenteux (Sorafenib, Lenvatinib) ; les traitements de seconde ligne (Regorafenib, Cabozantinib, Ramucirumab) (**Vogel et al., 2021**).

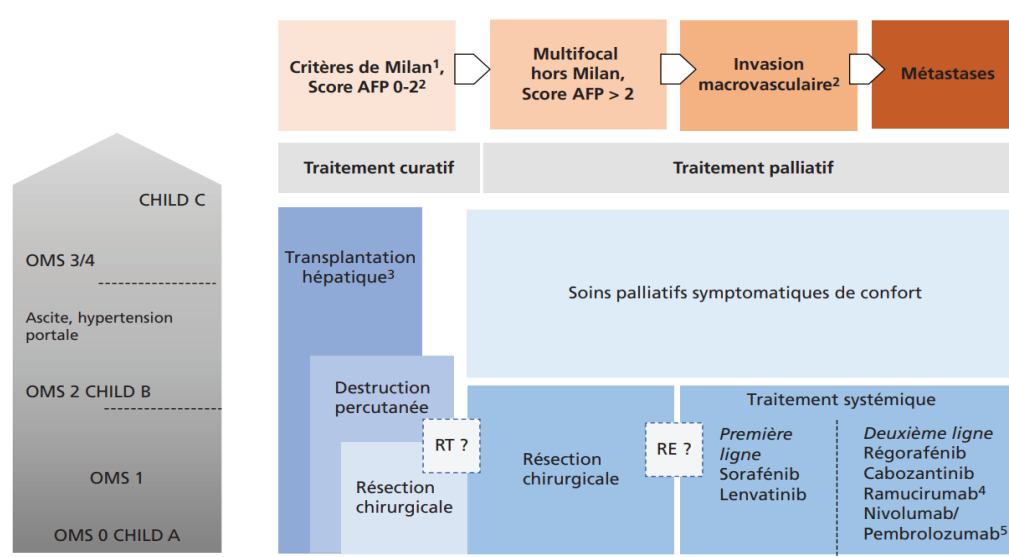


Figure 12 : Diagramme d'aide à la décision thérapeutique (Nault et al., 2018)



CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Étude de l'association entre le VHB, le VHC et le développement du CHC

Dans cette partie de la méthodologie nous décrivons le processus utilisé pour identifier les individus à haut risque de développer le CHC lorsqu'ils sont infectés par le VHB et/ou VHC par le biais d'une revue systématique et d'une méta-analyse.

II.1.1. Recherche documentaire

La recherche électronique des études publiées a été effectuée dans les bases de données Pubmed, Web of Science, African Index Medicus et African Journal Online jusqu'en mars 2021, après avoir monté une stratégie de recherche qui a consisté à la combinaison de mots clés pour l'exposition (VHB, VHC), le « *outcomes* » (CHC) et le contexte (Afrique) à l'aide des opérateurs booléens pour optimiser la recherche. Des études supplémentaires pertinentes ont été recherchées manuellement à partir de la liste de références des articles inclus et des revues pertinentes. Le protocole a été déclaré dans la base de données internationale PROSPERO (CRD42020181381).

II.1.2. Critères d'inclusion et d'exclusion

❖ Critères d'inclusion

Nous avons inclus toutes les études comparatives (essais cliniques, cohorte et cas-témoins) examinant la relation entre l'infection au VHB, VHC, les coinfections VHB/VHC et le risque de développer le CHC. Seules les études en français ou en anglais menées en Afrique ont été considérées. Nous avons considéré tous les types de CHC diagnostiqués par des approches cliniques, histologiques, biochimiques et radiologiques. Les témoins étaient des personnes en bonne santé, des personnes atteintes de maladies non hépatiques, des personnes atteintes de cirrhose du foie et des personnes atteintes de maladies hépatiques autres que la cirrhose du foie (autres maladies du foie). Toutes les techniques de détection des marqueurs d'infection par le VHB (AgHBs, AgHBe et ADN du VHB) et le VHC (Anticorps-anti-VHC (Ac-antiVHC) et ARN du VHC) ont été prises en compte.

❖ Critères de non inclusion

Les études non incluses étaient celles sans groupes de contrôle, avec un biais de sélection des participants, sans texte intégral et/ou résumés disponibles, menées en dehors de l'Afrique, des doublons, des rapports de cas et des revues.

II.1.3. Sélection, extraction et évaluation du risque de biais des études incluses

❖ Sélection des études

Le processus de sélection des articles est présenté dans la figure 13 (page 25). Un total de 5469 articles a été identifié à partir de notre recherche documentaire électronique et 21 articles manuellement à partir de la bibliographie révisée. Nous avons exclu 1299 doublons grâce au logiciel EndNote. Ensuite Nous avons exclu 4076 sur la base du titre et en lisant les résumés grâce à l'outil Rayyan. Sur les 110 articles qui ont réuni les critères d'inclusion, nous avons exclu 79 en lisant intégralement les textes. Les raisons d'exclusion étaient diverses, notamment une population ou un type d'étude incorrecte, des textes intégraux d'articles non disponibles, des données d'études recueillies hors de l'Afrique, des études en doublons, des données sur les hépatites virales non confirmées en laboratoire et l'impossibilité d'extraire les données pertinentes. La figure 13 (page 25) montre l'organigramme de la sélection et l'inclusion des études.

❖ Extraction des données

Nous avons utilisé le questionnaire Google forms pour l'extraction des données des articles inclus. Les données extraites étaient le nom du premier auteur, l'année de publication, la conception de l'étude, l'approche d'échantillonnage, le moment du dépistage de l'infection par le virus de l'hépatite (rétrospectif/prospectif), le pays, la région UNSD, le niveau de revenu du pays, la période de recrutement des participants à l'étude, le contexte d'étude (rural/urbain et communautaire/hôpital). Nous avons également collecté les critères d'inclusion des participants, la définition du CHC, les critères d'inclusion des témoins, les facteurs de confusion sociodémographiques, d'autres facteurs de confusion non viraux connus pour être associés au risque de CHC, les paramètres biochimiques du foie, le type de virus hépatique (VHB ou VHC), la méthode de détection du virus de l'hépatite, le marqueur recherché pour la détection du virus de l'hépatite, le nombre de participants et de témoins et le nombre de sujets exposés et non exposés.

❖ Evaluation du risque de biais des études incluses

Données pour l'évaluation du risque individuel de biais des études utilisant la méthode Newcastle-Ottawa voir annexe 1 (page 127). La discussion et le consensus ont été utilisés pour résoudre les problèmes en cas de désaccord entre les enquêteurs.

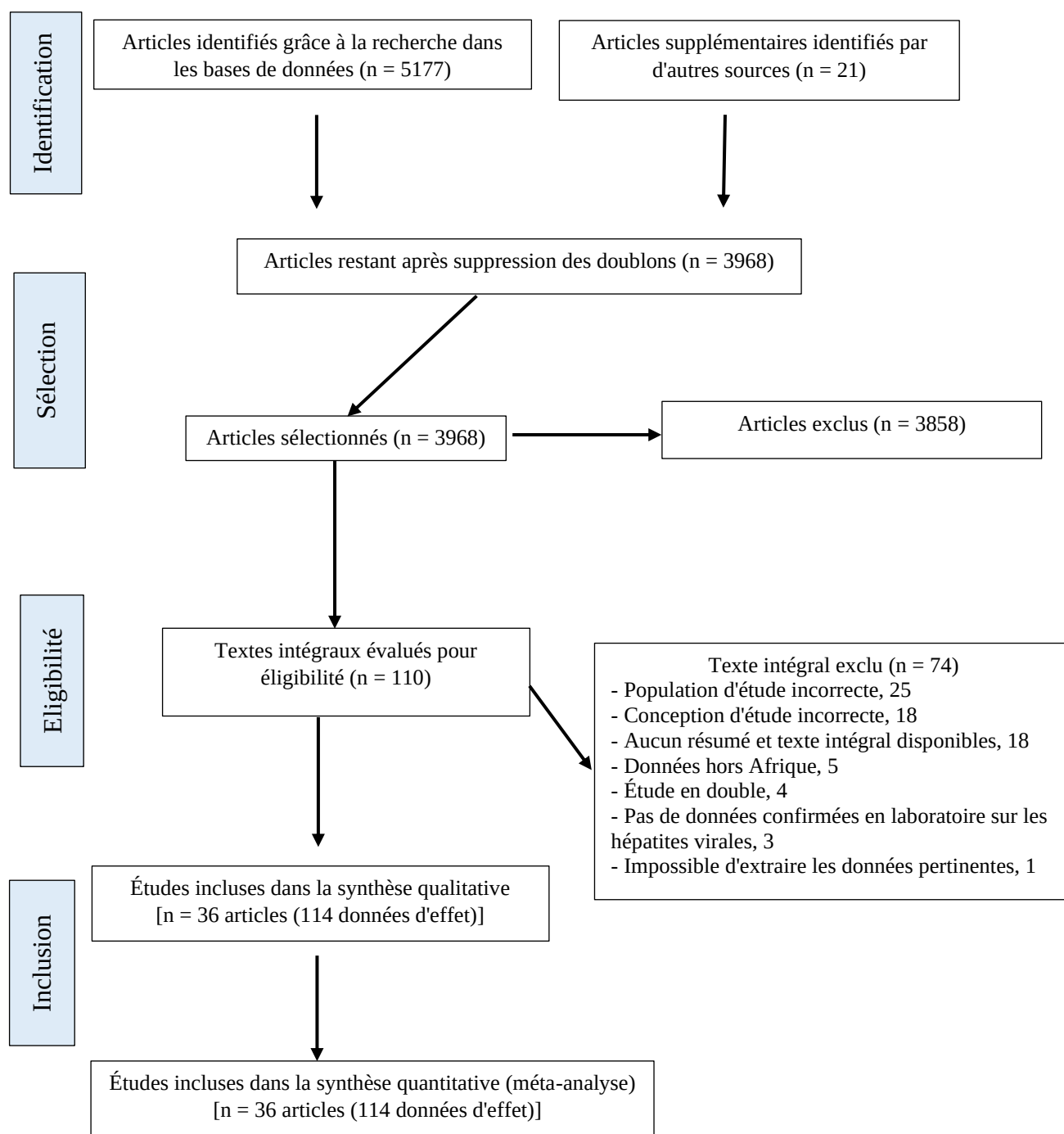


Figure 13 : Organigramme de sélection et inclusion des études

II.1.4. Analyses statistiques des données

L'estimation de l'association entre avoir l'hépatite virale et le risque de développer un carcinome hépatocellulaire a été fait par les rapports de cotes (OR) et les intervalles de confiance à 95 % correspondants, déterminés par la méthode effet aléatoire des méta-analyses (**Spearman & Sonderup, 2015a**). L'analyse quantitative a été réalisée à l'aide des packages « meta » et « metafor » du logiciel R version 4.0.3 (**Balduzzi et al., 2019 ; DerSimonian & Laird, 2015**). L'hétérogénéité a été évaluée entre les études à l'aide du test Q de Cochrane et de la mesure du I^2 (**Schwarzer, 2007**). Une $P\text{-value} \leq 0.10$ ou $I^2 \geq 50\%$ indique une hétérogénéité significative.

II.2. Méthodologie de la description et l'identification des biomarqueurs pertinents dans le diagnostic du CHC

Dans cette partie de la méthodologie nous décrivons le processus utilisé pour recruter les participants dans les sites d'études et collecter les données chez les individus à haut risque de développer le CHC et ceux atteints de CHC.

II.2.1. Type d'étude, et calcul de la taille de l'échantillon

Notre étude était de type transversal, avec un échantillonnage consécutif non probabiliste. La taille minimale de notre échantillon était de 301 participants repartis tel que : 153 participants atteints d'hépatite B, 93 participants atteints d'hépatite C et 55 participants atteints de CHC. Le calcul de cette taille minimale de notre échantillon a été fait à l'aide des prévalences des VHB et VHC qui sont respectivement de 11,2% et 6.5% (**Bigna et al., 2017a ; Bigna et al., 2017b**) et selon les données de GLOBOCAN qui fournit une prévalence de 3,7 % pour le cancer du foie au Cameroun (**GLOBOCAN, 2020**). Ce calcul a été fait à l'aide la formule suivante :

$$N = \frac{P(1-P)(Z_{1-\alpha})^2}{i^2} \quad (\text{Charan \& Biswas, 2013})$$

$\alpha = 0,05 \rightarrow Z_{1-\alpha} = 1,96$ d'après la loi normale;
 P : Prévalence de sujets présentant la variable étudiée,
 $Z_{1-\alpha}$: erreur d'échantillonnage constante ;
 i : erreur opérationnelle ou marge d'erreur.

II.2.2. Lieu et durée de l'étude

L'étude a été menée dans la ville de Yaoundé de Décembre 2020 à Avril 2022. L'Hôpital Général de Yaoundé (HGY) et le Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé (CHUY) ont servi de sites de recrutement des participants, de collecte des données sociodémographiques, cliniques, et des échantillons sanguins. *The Centre of Study and Control of Communicable Diseases (CSCCD)* de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales (FMSB) a servi au

stockage et à l'analyse des échantillons sanguins pour la recherche des AgVHB, AgVHC/Ac anti-VHC, la quantification des transaminases et l'AFP. Le *Department of Medical virology and Immunology, University of Stellenbosch, Cape Town, South Africa* a servi à la quantification des cytokines par Luminex. Voir annexe 2 (page 128). Le laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I (UYI) a servi à la rédaction du manuscrit.

II.2.3. Population de l'étude

La population d'étude était composée des participants atteints d'hépatopathies chroniques (groupe témoin) et ceux atteints de carcinome hépatocellulaire (cas) liées aux hépatites B et C venus pour un suivi au service de Gastro Entérologie de l'HGY et au service de médecine interne (service de consultation et hospitalisation) du CHUY, nous nous sommes basés sur l'étude de (**Noah et al., 2016**), pour répartir nos participants en 3 groupes distincts :

Groupe 1 était composé de participants atteints d'hépatite chronique (HC). Les participants HC étaient ceux caractérisés par la persistance de l'AgHBs depuis au moins 6 mois (avec ou sans présence concomitante de l'antigène HBe) pour ceux atteints par le VHB, mais pour ceux atteints du VHC, ils étaient caractérisés par une charge virale positive qui persistait depuis au moins 6 mois.

Groupe 2 était composé de participants atteints de cirrhose qui a été diagnostiquée par les examens radiographiques, biochimiques et confirmée par un médecin.

Groupe 3 était composé de participants atteints de CHC qui a été diagnostiqué par les examens radiographiques, biochimiques et confirmé par un médecin.

Les figures 14 (page 38) et 15 (page 39) déroulent l'organigramme de sélection des participants mono infectés par le VHB ou le VHC. Ces participants ont été choisis, indépendamment de leur sexe, âge, nationalité et à l'aide des critères suivants :

❖ Critères d'inclusion

- Être venu pour une prise en charge dans le service d'hépatogastro-entérologie de l'HGY ou de médecine interne du CHUY ;
- Être sous traitement antiviral hépatite B depuis 24 semaines
- Être sous traitement antiviral hépatite C depuis 12 semaines

- Avoir une cirrhose diagnostiquée par les examens radiographiques et biochimiques ;
- Avoir un CHC diagnostiqué par les examens radiographiques et biochimiques ;
- Être âgé de 21 ans ou plus.

❖ Critères de non inclusion

- Participants n'étant pas sous traitement antiviral contre le VHB ou VHC ;
- Participants sous immunosuppresseurs ;
- Participants ayant une autre infection autre que le VHB ou le VHC ;
- Participants ne pouvant pas donner son consentement.

II.2.4. Description de la sélection des participants inclus dans l'étude

Les figures 14 et 15 respectivement des page 30 et 31 décrivent le processus de sélection des participants.

❖ Sélection des participants atteints de VHB

La figure 14 de la page 30 décrit le processus de sélection des participants mono infectés VHB. Nous avons proposé l'étude à 619 patients venus en consultation au CHUY ou à l'HGY, respectivement 331 patients au CHUY et 288 patients à l'HGY. Sur ces 619 patients, 41 ont refusé de participer à l'étude, ce qui a donné un taux de non-réponse de 6,6 %, et 92 ont été exclus car ils en étaient à leur première visite médicale. Sur les 294 patients VHB soumis au traitement, 48 ont été exclus car VIH positifs. Parmi les 246 participants VIH négatifs restants, 80 participants étaient à moins de 24 semaines de traitement, 135 étaient à 24 semaines de traitement et 31 étaient à plus de 24 semaines de traitement. Sur les 135 participants éligibles, seuls 97 participants étaient positifs pour l'HBsAg avec les TDR HEXAGON HBsAg, respectivement 65 participants atteints d'hépatite chronique, 19 atteints de cirrhose et 13 atteints de CHC. Parmi ceux-ci, seuls 69 échantillons étaient positifs pour l'HBsAg par Monolisa™ HBs Ag ULTRA, respectivement 37 hépatite chronique, 19 Cirrhose et 13 CHC. Parmi lesquels nous avons respectivement tiré au sort 10 échantillons par groupe pour quantifier les AFP, les transaminases (ASAT, ALAT) et les cytokines.

❖ Sélection des participants atteints de VHC

La figure 15 de la page 31 décrit le processus de sélection des participants mono infectés VHC. En effet, sur les 486 participants qui ont accepté participer à l'étude, seuls 192 participants étaient sous traitement contre le VHC, parmi lesquels 32 étaient positifs au VIH et ont été exclus. Sur les 160 participants restants, 28 étaient à moins de douze semaines de traitement ceux-ci ont été exclus, 92 étaient à 12 semaines de traitement, ceux-ci ont été inclus et 40 étaient à plus de 12 semaines de traitement, ceux-ci ont été exclus. Parmi les patients qui étaient à 12 semaines de traitement, 69 (75 %) étaient positifs pour l'Anticorps anti-VHC avec les TDR VOXTUR BIO LTD, parmi ces participants, seuls 44 (47,8 %) étaient positifs pour l'Ag VHC (19 Hépatite Chronique, 14 Cirrhose du foie et 11 CHC) avec Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA. Parmi lesquels nous avons respectivement tiré au sort 10 échantillons par groupe pour quantifier les AFP, les transaminases (ASAT, ALAT) et les cytokines.

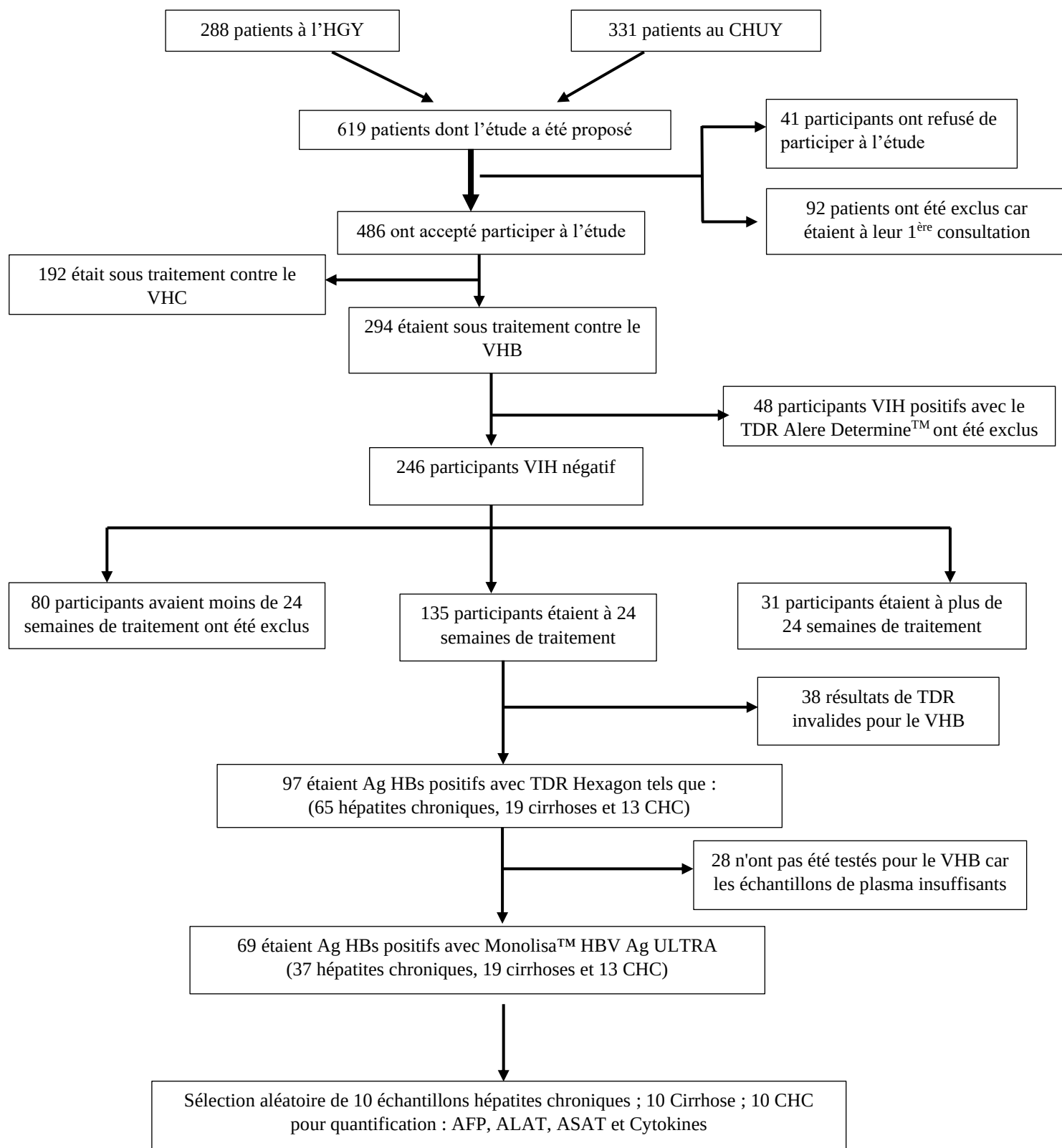


Figure 14 : Organigramme de sélection des participants mono infectés par le VHB

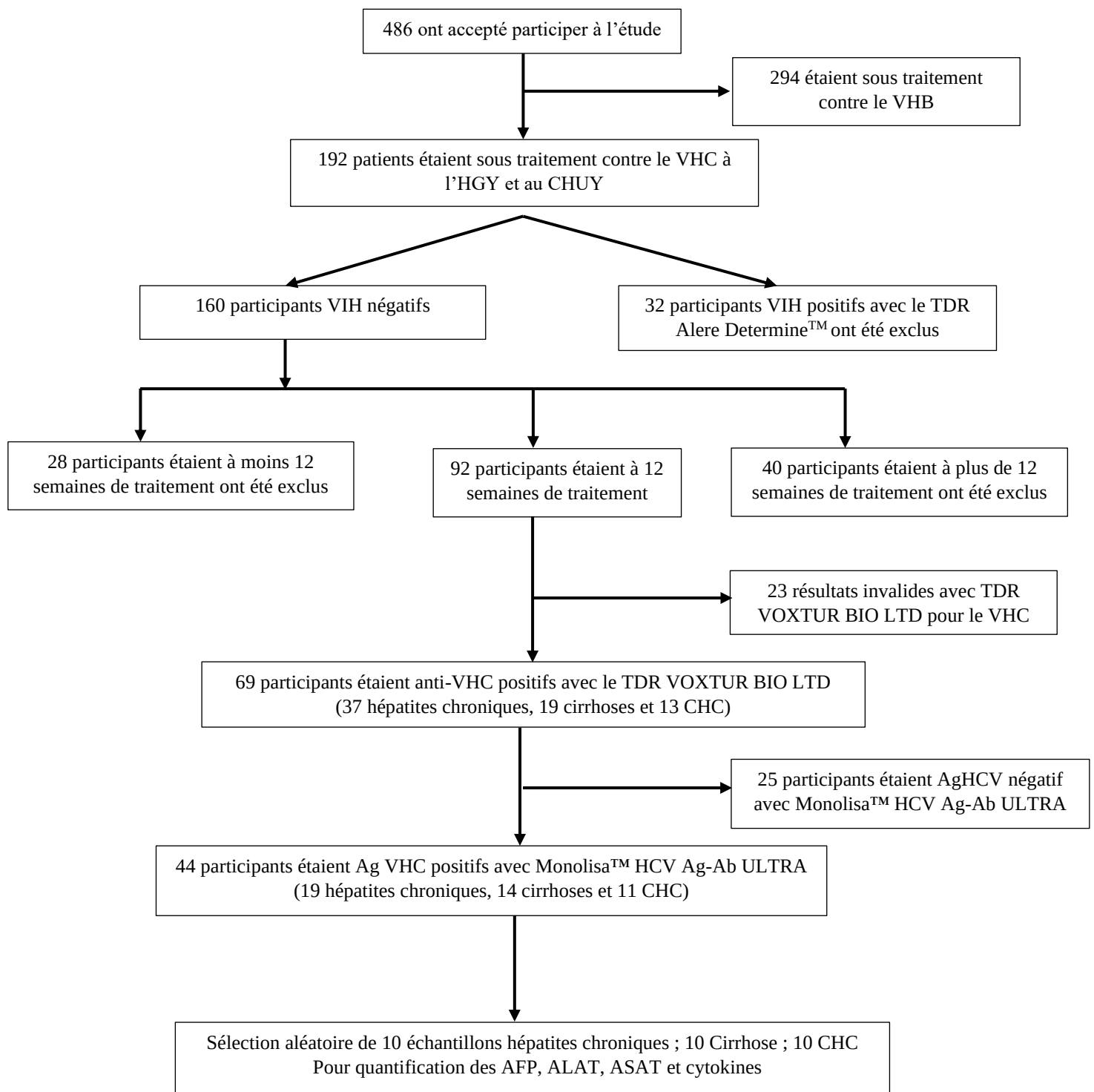


Figure 15 : Organigramme de sélection des participants mono infectés par le VHC

II.2.4. Collecte et le devenir des échantillons sanguins

Globalement, cinq millilitres d'échantillons de sang ont été prélevés au creux du coude de chaque participant consentant, dans un tube EDTA. En mi-journée, les échantillons ont été transférés au CECMT, répartis en trois aliquots de même volume chacun. Le premier aliquot nous a servi à la recherche des AgHBs, AgVHC/Ac Anti VHC, le deuxième aliquot a servi la quantification des ASAT, ALAT et l'AFP. Le troisième aliquot a servi à la quantification des cytokines (IL-2 ; IL-4 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IFN α 2 ; IFN γ ; VEGF ; G-CSF ; RANTES).

II.3. Procédure de collecte des données

La collecte des données a été faite prospectivement. Chacun des participants s'est entretenu dans le box de consultation avec l'investigateur principal. La notice d'information leur a été présentée, pour ceux incapables de lire, l'investigateur principal a lu le contenu de la notice puis a expliqué l'objectif de la recherche au participant. À la fin de l'échange entre le potentiel participant et l'investigateur principal, le patient consentant a donné son accord signé pour participer à l'étude. Voir annexes 5, 6 et 7 de la page 134 à la page 139.

II.3.1. Collecte des données sociodémographiques et cliniques

Pour la recherche des facteurs de risques non infectieux, nous avons procédé à la collecte des données sociodémographiques et cliniques à l'aide d'une fiche préétablie et standardisée, voir annexe 7 (page 139). Les données sociodémographiques et cliniques ont été recueillies par interviews des participants.

II.3.2. Recherche des biomarqueurs virologiques, biochimiques et immunologiques

a) Recherche des biomarqueurs virologiques

✚ Sérologie VHB, VHC, VIH-1/2 par immunochromatographie

La sérologie VHB, VHC, VIH-1/2 a été réalisée à l'aide des TDR Alere Determine™; HEXAGON HBsAg et VOXTUR BIO LTD pour le VHC respectivement fabriqués au Japon, en Allemagne et en Inde.

Le principe :

Le principe a consisté à la détection qualitative des anticorps/antigènes par immunochromatographie. L'anticorps monoclonal ou l'antigène de synthèse couplé à un réactif de détection, est immobilisé à la surface d'une membrane de nitrocellulose afin de fixer l'antigène ou l'anticorps recherché présent dans un échantillon, entraînant l'apparition d'une bande colorée en cas de positivité.

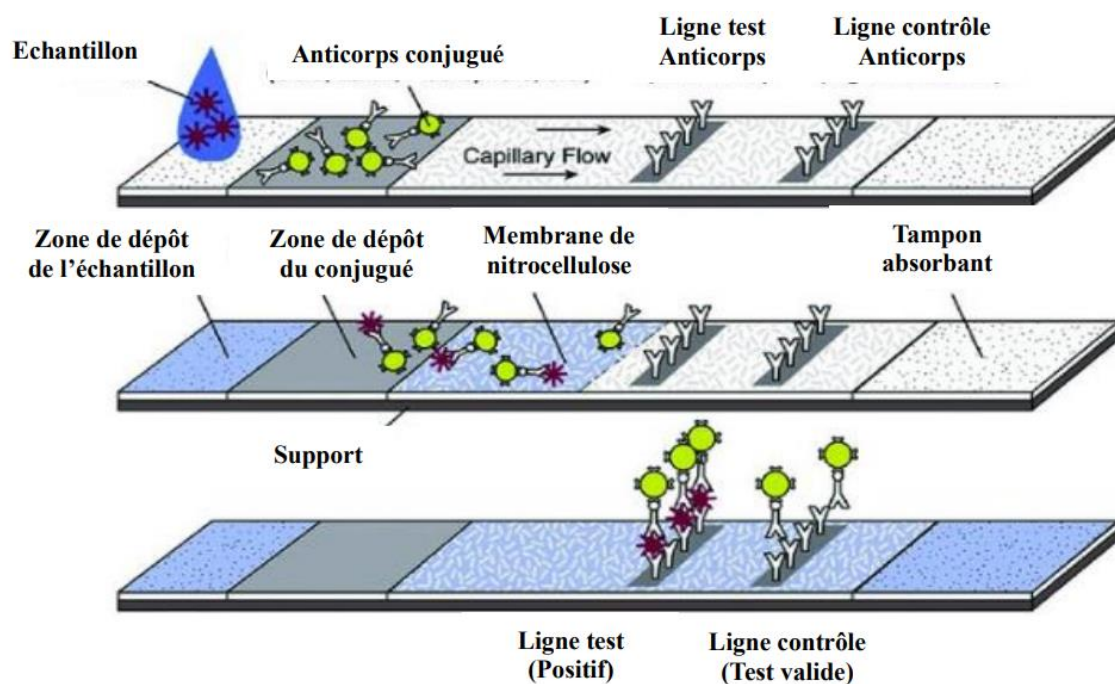


Figure 16 : Principe immunochromatographie (Abduljalil, 2020)

Le mode opératoire :

Selon les instructions des concepteurs des tests, nous avons déposé un volume de 50 µl d'échantillon sur la zone de dépôt de l'échantillon, puis nous avons attendu qu'il y ait formation du complexe immun entre les anticorps conjugués aux nanoparticules et anticorps/antigènes recherchés. Nous avons attendu pendant 15 minutes que l'ensemble migre sur la phase solide jusqu'aux anticorps recombinants immobilisés au niveau de la fenêtre-patient. Puis nous avons lu le résultat.

Interprétation du résultat : le test négatif a consisté à l'apparition d'une bande au niveau de la zone contrôle et le test positif a consisté à l'apparition de deux bandes, l'une au niveau de la zone contrôle et l'autre au niveau de la fenêtre-patient.

Recherche de l'Antigène HBs avec Monolisa™ HBs Ag ULTRA (ELISA)

Monolisa™ HBs Ag ULTRA est une technique immuno-enzymatique de type sandwich de 4ème génération pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'Hépatite B (Ag HBs) dans le sérum ou le plasma humain (**Bio-Rad, 2009**).

Le Principe :

La phase solide de Monolisa™ HBs Ag ULTRA est sensibilisée avec des anticorps monoclonaux. Après distribution des échantillons et des sérums de contrôle dans les cupules de la microplaque, les Anticorps monoclonaux anti-HBs de souris et anticorps polyclonaux anti-HBs de chèvre couplés à la peroxydase (conjugué) sont distribués dans les cupules de la microplaque. Après incubation pendant une heure et demi à 37°C, le conjugué non lié est éliminé par lavage. Puis la solution de révélation (substrat) est distribuée dans les cupules de la microplaque. Enfin est distribué la solution d'arrêt. Lecture des densités optiques est faite à 450/620 nm (**Bio-Rad, 2009**). Voir figure 17 (page 35).

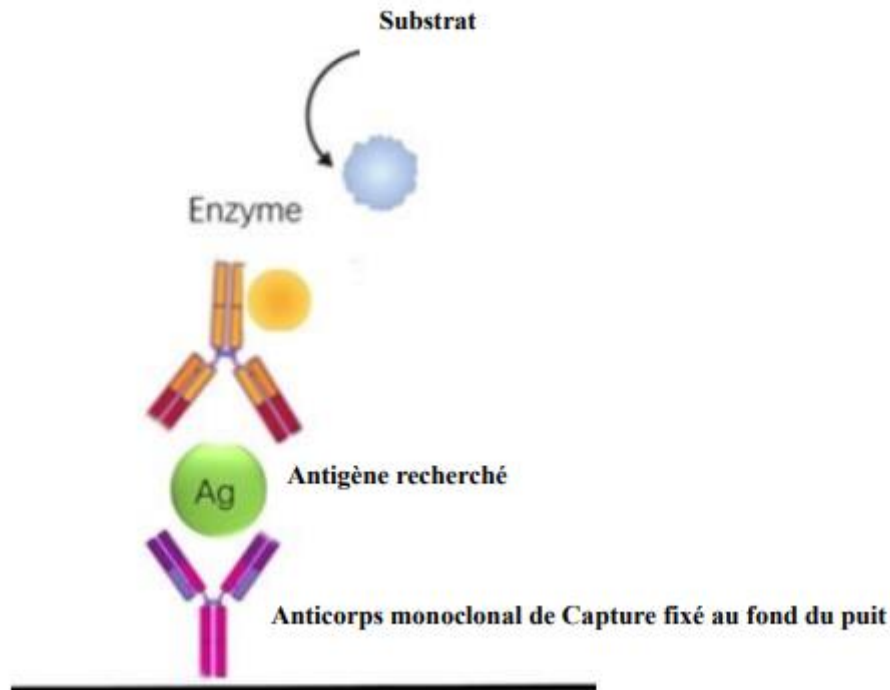


Figure 17 : Représentation schématique du principe de l'ELISA Sandwich direct pour détection Ag HBs (Heiat *et al.*, 2014)

Le mode opératoire :

Nous avons suivi strictement du protocole du fabricant du Kit Monolisa. Nous avons établi un plan de distribution et d'identification des échantillons. Ensuite nous avons préparé la solution de lavage et la solution de conjugué respectivement en diluant au 1/20^e la solution de lavage dans de l'eau distillée (soit 6400 ml) pour toute la microplaque et en transvasant le contenu du flacon de diluant pour le conjugué dans le flacon de conjugué lyophilisé puis nous avons laissé reposer le contenu rebouché pendant 10 minutes en y homogénéisant de temps en temps pour faciliter la dissolution. Nous avons Distribué 100 µl de chaque échantillon et les sérums de contrôle dans les cupules de la microplaque. Voir figure 18 (page 36).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A											
B											
C											
D											
E											
F											
G											
F											
	Cupules A1, B1, C1 et D1 : 100 µl de contrôle négatif										
	Cupule E1 : 100 µl de contrôle positif										
	Cupules: 100 µl d'échantillons à tester										

Figure 18 : Représentation schématique de la répartition des échantillons pour la recherche de l'AgHBs

Puis nous avons homogénéisé et nous avons distribué rapidement 50 µl de la solution de conjugué dans toutes les cupules et nous avons homogénéisé le mélange réactionnel suivi d'une incubation d'une heure et demi à 37°C. Après incubation nous avons éliminé le conjugué non lié par lavage. Ensuite nous avons distribué rapidement dans toutes les cupules 100 µl de la solution de révélation préalablement préparée. Puis nous avons incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite nous avons ajouté 100 µl de la solution d'arrêt en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Puis nous avons essuyé soigneusement le dessous des plaques. Nous avons attendu au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt avant la lecture et dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, nous avons lu notre plaque à une densité optique comprise entre 450/620 nm à l'aide d'un automate. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) disparaissait pour donner des cupules incolores. La coloration du substrat bleu (pour les échantillons positifs) disparaissait des cupules et devenait jaunes pour les échantillons positifs après addition de la solution d'arrêt. Voir Annexe 4 (page 130-133) pour matériel de manipulations. (Bio-Rad, 2009).

Interprétation des résultats : Les échantillons ayant un ratio <1 ont été considérés négatifs et les échantillons ayant un ratio ≥ 1 ont été considérés comme positifs (**Bio-Rad, 2009**).

$$\text{Ratio}_x = \frac{\text{Densité Optique échantillon}_x}{\text{Valeur Seuil}}$$

$$\text{Avec Valeur Seuil} = \frac{\sum \text{Densité Optique des contrôles négatifs}}{4} + 0,05$$

Recherche de l'Antigène VHC avec Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA

Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA est un test immuno-enzymatique de 4ème génération permettant la mise en évidence de l'infection à VHC basé sur la détection de l'antigène de la capside associé à une infection par le virus de l'hépatite C dans le plasma humain (**Bio-Rad, 2014**).

Principe :

Après sensibilisation de la microplaque avec un anticorps monoclonal dirigé contre la capside de l'hépatite C, les échantillons à étudier et les sérums de contrôle sont distribués dans les puits de la microplaque. Si des antigènes de la capside de l'hépatite C sont présents dans le plasma humain analysé, ces antigènes sont liés par les anticorps monoclonaux de la phase solide et les anticorps monoclonaux biotinylés. Après une incubation de 90 minutes à 37°C et une étape de lavage, le conjugué peroxydase/streptavidine se fixe sur la biotine de l'anticorps monoclonal murin biotinylé dirigé contre la capside de l'hépatite C dans le cas d'une présence de l'antigène de la capside du virus de l'hépatite C dans l'échantillon. Après 30 minutes d'incubation à 37°C et élimination des conjugués enzymatiques non liés par lavage, la présence des complexes antigène-anticorps-peroxydase sont révélés par addition du substrat. Après 30 minutes d'incubation à température du laboratoire et arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450/620 nm. L'absorbance mesurée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence de l'antigène de capside de l'hépatite C dans l'échantillon testé. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'antigène de la capside de l'hépatite C liés sur la phase solide (**Bio-Rad, 2014**). Voir figure 19 (page 38).

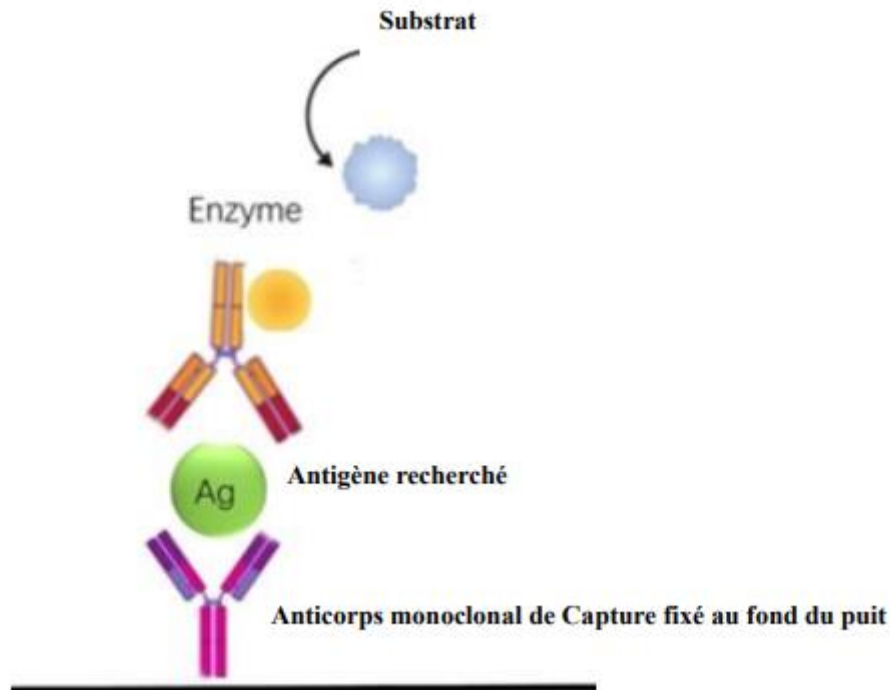


Figure 19 : Représentation schématique de l'ELISA sandwich direct pour la recherche de l'Ag VHC (Heiat *et al.*, 2014)

Mode opératoire :

Nous avons suivi strictement le protocole proposé par le fabricant du Kit Monolisa. Nous avons établi soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons. Nous avons préparé la solution de lavage diluée et la solution de travail (l'antigène positif de contrôle). Nous avons déposé directement, sans prélavage de la plaque, successivement, 100 µl d'anticorps monoclonal murin dirigé contre la capsid du VHC marqué à la biotine de Coloration violet (conjugué 1) dans chaque cupule. Puis nous avons :

Ajouté en A1, 50 µl de contrôle négatif (Tampon Tris HCl)

Ajouté en B1, C1, D1, 50 µl de contrôle positif (Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2),

Ajouté en E1, 50 µl de la solution de travail que nous avons soigneusement préparé en remplissant le flacon du contrôle antigène positif avec la totalité de la solution du flacon diluant du contrôle antigène. Puis nous avons rebouché et attendu 10 minutes à température ambiante du laboratoire en agitant de temps en temps le flacon par inversion du flacon.

Ajout de 50 µl du premier échantillon en F1, deuxième échantillon en G1, etc... Voir figure page 39.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A											
B											
C											
D											
E											
F											
G											
F											
	Dans toutes les cupules, 100 µl d'anticorps monoclonal murin dirigé contre la capsid du VHC marqués à la biotine										
	cupule A1, 50 µl de contrôle négatif										
	Cupule B1, C1, D1, 50 µl de contrôle positif										
	Cupule E1, 50 µl de la solution de travail										
	Cupules restantes, 50 µl de chaque échantillon										

Figure 20 : Représentation schématique de la répartition des échantillons pour la recherche de l'AgVHC

Puis nous avons homogénéisé le mélange par 3 aspirations minimum et couvert d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité. Ensuite nous avons incubé la microplaque au bain-marie thermostaté pendant : 90 ± 5 minutes à $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. ensuite nous avons retiré le film adhésif et nous avons aspiré le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et nous avons ajouté dans chacune d'elles un minimum de 0,370 ml de solution de lavage et nous avons aspiré de nouveau. Nous avons répété le lavage 4 fois et nous avons séché la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant. Nous avons préparé la solution de révélation en diluant le chromogène contenant du tétraméthyl benzidine dans le tampon substrat de la peroxydase au 1/11e (c'est à dire que nous avons utilisé 8 ml du chromogène dans 88 ml du tampon substrat de la peroxydase pour le traitement de toute la plaque). Ensuite nous avons homogénéisé et nous avons distribué rapidement 80 µl de la solution préalablement préparée dans toutes les cupules de la plaque. Puis nous avons incubé à nouveau à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante. Lors de cette incubation, nous n'avons pas utilisé de film adhésif. Puis nous avons ajouté 100 µl de la solution d'arrêt (Solution d'acide sulfurique) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Nous avons essuyé soigneusement le dessous des plaques et nous avons au moins attendu 4

minutes après la distribution de la solution d'arrêt et les 30 minutes qui ont suivi l'arrêt de la réaction, nous avons lu les densités optiques à 450/620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques (**Bio-Rad, 2014**).

Interprétation des résultats : Les échantillons dont la densité optique était inférieure à la valeur seuil (ratio < 1) ont été considérés comme négatifs. Les échantillons dont la densité optique était supérieure ou égale au seuil (ratio ≥1) ont été considérés comme positifs (**Bio-Rad, 2014**). Voir Annexe 4 pour matériel de manipulations (page 130-133).

$$\text{Ratio}_x = \frac{\text{Densité Optique échantillon}_x}{\text{Valeur Seuil}}$$

$$\text{Avec Valeur Seuil} = \frac{\sum \text{Densité Optique des contrôles positifs}}{15}$$

Collecte charge virale (ADN VHB et ARN VHC)

Nous avons collecté la charge virale de la 12^{ème} et 24^{ème} semaine respectivement pour les participants atteints de VHC et VHB venus pour un contrôle.

b) Recherche et quantification des biomarqueurs biochimiques

La quantification des AFP et transaminases, s'est effectuée sur les échantillons tirés au hasard à l'aide du programme Excel 2016. Ceci a été fait pour équilibrer le nombre de participants dans les trois groupes étudiés. Car nous avons utilisé les moyennes $\pm$ l'écart-type pour quantifier l'effet estimé. La moyenne étant influencée par la taille de l'effectif dans un groupe, pour ressortir la réelle différence après la comparaison des groupes, nous avons uniformisé la taille des différents groupes d'une part et d'autre part pour donner la même chance à chaque échantillon de participer à l'étude, afin que le choix soit objectif, nous avons effectué un tirage aléatoire de 20 participants dans chacun des groupes étudiés.

En effet, nous avons choisi aléatoirement 10 codes correspondant à 10 participants différents pour chacun des 3 groupes étudiés positifs au TDR et à ELISA en fonction du VHB et VHC. Les codes correspondants ont été utilisés pour les aliquots dans le reste des analyses.

Quantification de l'AFP

Elle a été réalisée à l'aide de la bandelette quantitative Finecare TM Rapid AFP et l'appareil *Finecare TM FIA Meter* (**Wonfo BioTech, 2017b**).

Le principe du test quantitatif rapide Finecare TM AFP est basé sur la technique d'immunochromatographique de fluorescence. Lorsque l'échantillon est placé dans la cartouche, l'anticorps anti-AFP marqué par une molécule fluorescente capture l'antigène AFP présent dans l'échantillon de sang. Le complexe formé migre par capillarité sur la matrice de nitrocellulose de la bandelette, puis au niveau de la zone test, un deuxième anticorps fixé capture le complexe anticorps-antigène qui s'est formé précédemment au niveau de la zone de dépôt. De cette façon, plus il y a d'antigène AFP dans l'échantillon sanguin, plus il y a de complexes qui s'accumulent. L'intensité du signal de fluorescence du détecteur des anticorps reflète la quantité de composés AFP, et l'appareil *Finecare TM FIA Meter* reflète la concentration d'AFP de l'échantillon de sang (**Wonfo BioTech, 2017a**). Voir figure 21 (page 42).

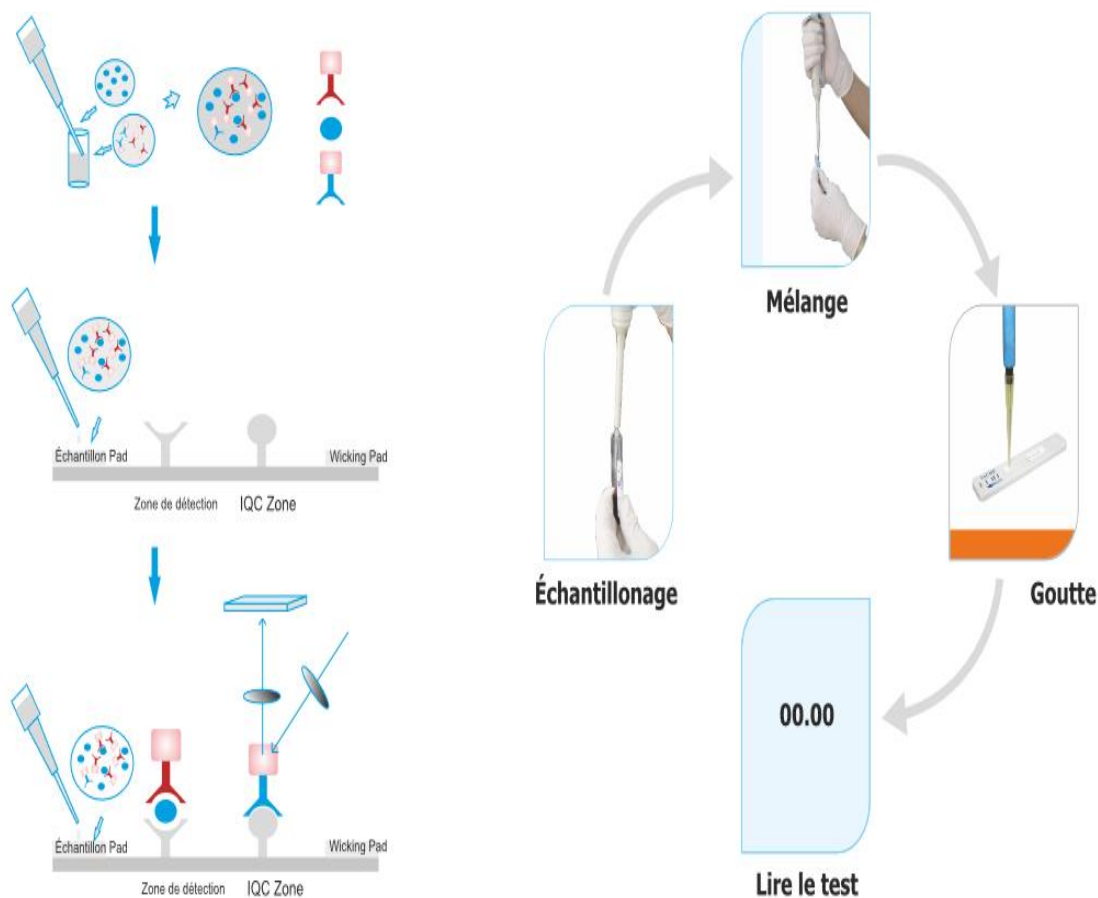


Figure 21 : Étapes du principe de la quantification de l'AFP (Wonfo BioTech, 2017b)

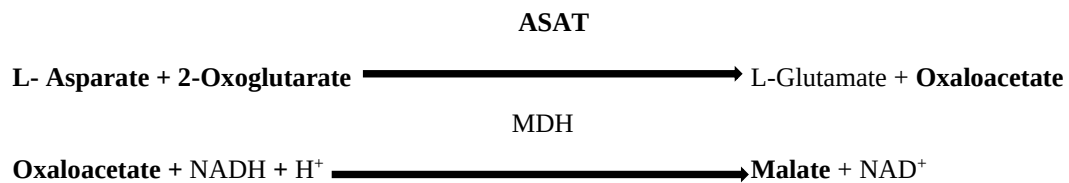
Le mode opératoire a consisté au prélèvement 75µl de plasma à l'aide d'une micropipette que nous avons introduit dans un tube contenant la solution tampon (fourni par le fabricant), puis nous avons homogénéisé le contenu en secouant le tube fermé, nous avons ensuite transféré les 75µl du mélange plasma + tampon au niveau de la zone de dépôt de la bandelette de test à l'aide de notre micropipette enfin nous avons introduit la bandelette du test dans le canal de test de l'analyseur immunochromatographique *Finecare FIA Meter* et nous avons lu le résultat du test après 4 minutes. Voir Annexe 4 pour matériel (page 130-133).

Interprétation : Les taux d'AFP compris entre 0-20 ng/ml sont considérés normaux et les quantités d'AFP > 20 ng/ml sont considérés comme anormaux (Wonfo BioTech, 2017a).

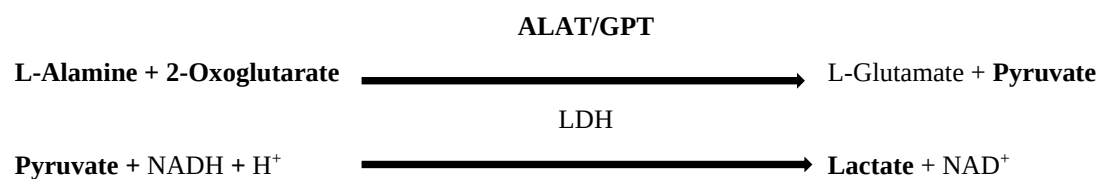
❖ Quantification des transaminases (ALAT et ASAT)

Principe : Les dosages sont basés sur une mesure cinétique des transaminases sériques dans un système réactionnel dont la finalité est l'oxydation du coenzyme NADH, H⁺.

L'Asparate aminotransférase (ASAT/GOT) catalyse le transfert du groupement amine de l'Asparate à l'oxoglutarate avec formation du glutamate et de l'oxaloacétate. Ce dernier est réduit en Malate par la Malate déshydrogénase (MDH) en présence du nicotinamide adénine di nucléotide (NADH) réduite. La réaction mesurée cinétiquement à 340 nm par la diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de la NADH en NAD⁺ est proportionnelle à l'activité enzymatique d'ASAT présente dans l'échantillon. (SPRINREACT, 2015b).



L'Alamine aminotransférase (ALAT/GPT) catalyse le transfert du groupement amine de l'Alamine à l'oxoglutarate avec formation du glutamate et du pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) en présence du nicotinamide adénine di nucléotide (NADH) réduite. La réaction mesurée cinétiquement à 340 nm par la diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de la NADH en NAD⁺ est proportionnelle à l'activité enzymatique d'ALAT présente dans l'échantillon. (SPRINREACT, 2015a).



Le mode opératoire a consisté à pipeter dans un tube à essai 1 ml du réactif de travail (mélanger 4 ml substrat ASAT/ALAT et 1 ml du Coenzyme ASAT/ALAT.) ensuite ajouter 50 µl du plasma puis mélanger doucement par retournement l'ensemble, ensuite à incuber à température ambiante pendant 1 minute. Enfin insérer le conduit aspirant de l'appareil dans notre tube contenant notre préparation et lire la concentration de la préparation. Voir Annexe 4 pour matériel (page 130-133).

Interprétation des résultats : Les taux d'ALT normaux sont compris entre 17-59 unités par litre. Les taux d'AST normaux sont compris entre 10-50 unités par litre.

c) Recherche et quantification des biomarqueurs immunologiques

Quantification des Cytokines par Luminex (Bio Plex 200 system)

La quantification des cytokines (IL-2 ; IL-4 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IFN α 2 ; IFN γ ; VEGF ; G-CSF ; RANTES) a été effectuée avec les échantillons tirés au hasard à l'aide du programme Excel précédemment décrit.

Principe :

La technologie Luminex est fondée sur le principe de la cytométrie en flux qui allie l'utilisation de microsphères fluorescents et une double lecture après excitation par deux lasers. La technologie Luminex repose sur des particules de polystyrène microscopiques appelées microsphères ou microbilles, qui servent de phase solide pour la détection des réactions biochimiques, qui sont analysées individuellement à partir d'échantillons en format microplaques de 96 puits. Chaque type de microbille peut être chargé avec différents réactifs de détection. Cette combinaison de différentes microbilles permet, lors d'un test, de réaliser 100 détections différentes simultanément par puit avec un très petit volume d'échantillon. Procédure de test multiplex. Les billes magnétiques (colorées en interne avec deux colorants fluorescents) couplées à des anticorps monoclonaux anti-cytokines sont incubées avec des échantillons et des standards : après lavages, les échantillons/standards sont incubés avec des anticorps monoclonaux anti-cytokines biotinylés ; et enfin, après d'autres lavages, avec une solution de streptavidine. L'instrument Luminex identifie les différentes cytokines présentes dans chaque puits et convertit l'intensité moyenne de fluorescence de chaque cytokine mesurée en pg/ml, grâce au logiciel et aux courbes standard (Vancurova & Zhu, 2020). Voir figure 22 (page 45).

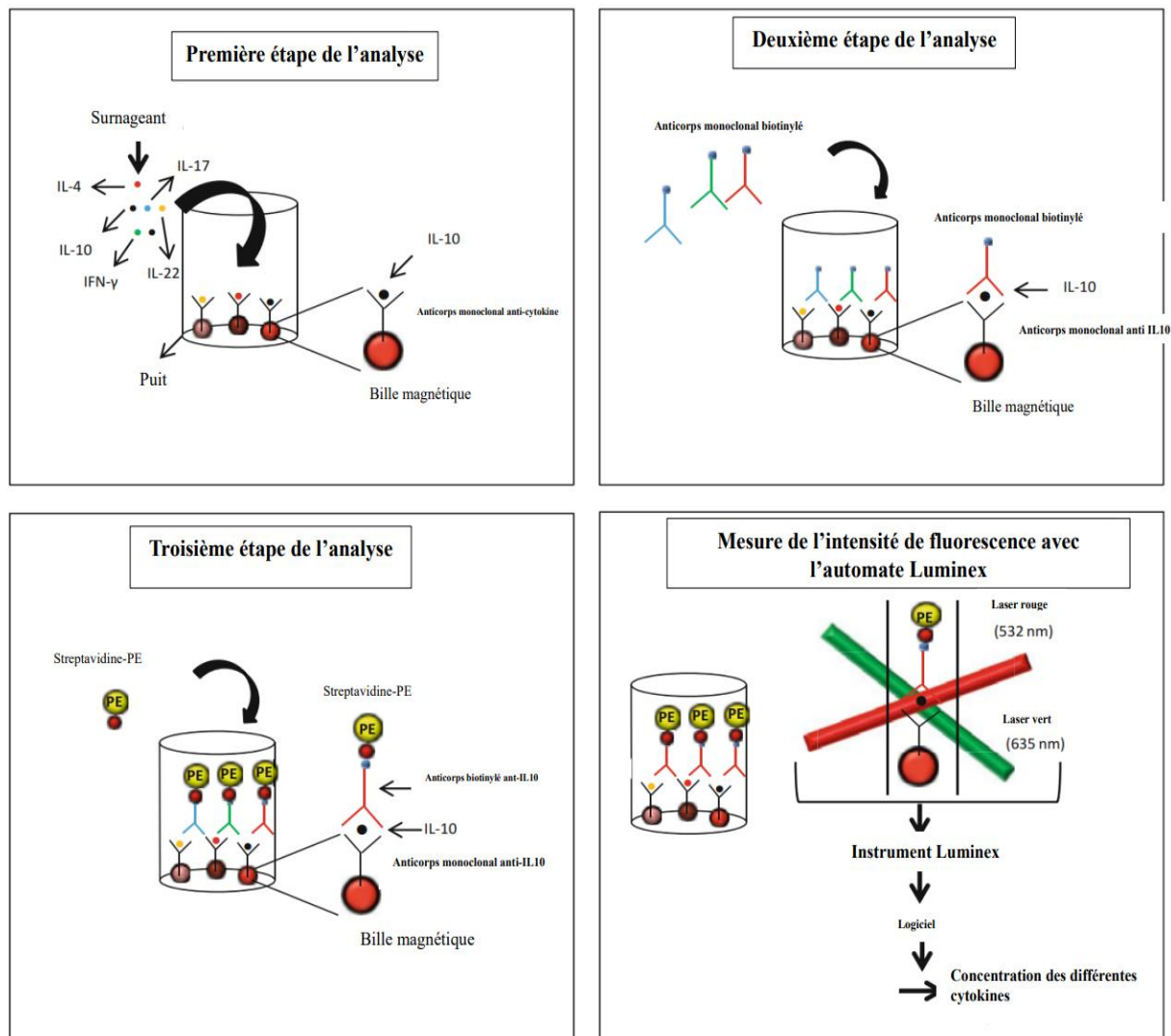


Figure 22 : principe de quantification des cytokines avec Luminex (Lombardelli *et al.*, 2021)

Mode opératoire

-Distribution des billes xMAP

Nous avons passé au Vortex les billes d'anticorps pendant 30 secondes, et nous avons soniqué pendant 30 secondes. Puis nous avons ajouté 25 μ l de billes conjuguées aux anticorps dans chaque puits de la plaque 96 puits en utilisant une pipette

-Lavage de la plaque

Ensuite nous avons placé notre plaque sur le séparateur à plaque magnétique et nous avons laissé les billes se déposer pendant 60 secondes. Nous avons tenu solidement la plaque et le séparateur magnétique et nous avons retourné en l'envers l'ensemble pour décanter le liquide puis nous avons tamponné l'excès de liquide dans une pile de serviettes en papier. Puis

nous avons retourné à l'endroit la plaque avec séparateur magnétique (plaque puits vers le haut) puis nous avons retiré la plaque du séparateur magnétique. Puis nous avons ajouté 200 µl de tampon de lavage à chaque puits. Ensuite nous avons placé la plaque de 96 puits sur le séparateur à plaque magnétique et nous avons laissé les billes se déposer à nouveau pendant 60 secondes. Comme précédemment, nous avons tenu solidement la plaque et le séparateur magnétique, et nous les avons retournés afin de décanter le liquide et nous avons tamponné l'excès de liquide dans une pile de serviettes en papier. Puis nous avons retourné à l'endroit le séparateur magnétique et la plaque.

-Incubation sur plaque

Nous avons ajouté 100 µl (50 µl de l'échantillon de plasma et 50 µl de diluant) dans chaque puits. Ensuite nous avons scellé la plaque avec un couvercle noir et nous avons incubé à température ambiante sur agitateur à assiettes pendant 2 h et protégé de la lumière. Nous avons Préparé l'anticorps de détection biotinylé (dilué selon les instructions du fabricant du kit). Puis nous avons placé l'assiette sur séparateur magnétique pendant 60 secondes, nous avons laissé décanter le liquide et nous avons effectué deux étapes de lavage tel que décrit plus haut. Ensuite nous avons épongé complètement l'excès de liquide à la fin de la procédure du lavage et nous avons ajouté 100 µl de l'anticorps de détection biotinylé dans chaque puits. Puis nous avons scellé la plaque avec le couvercle et nous avons incubé pendant 1 h à température ambiante sur un agitateur à plaque orbitale protégé de la lumière. Nous avons préparé la streptavidine-phycoérythrine selon les instructions du concepteur du réactif. Puis nous avons Placé la plaque sur le séparateur magnétique pendant 60 secondes ensuite nous avons laissé décanter le liquide et nous avons effectué deux étapes de lavage. Nous avons épongé complètement l'excès de liquide à la fin de la procédure de lavage. Puis nous avons ajouté 100 µl de streptavidine-phycoérythrine dans chaque puits. Enfin nous avons Scellé la plaque avec le couvercle puis incubé pendant 30 min à température ambiante sur agitateur à plaque orbitale à l'abri de la lumière. Nous avons placé la plaque sur le séparateur magnétique pendant 60 secondes et laissé décanter le liquide, puis nous avons lavé la plaque trois fois comme décrit plus haut. Nous avons tamponné l'excès de liquide après chaque étape de lavage. Puis nous avons ajouté 150 µl de tampon de lavage dans chaque puits et nous avons laissé la plaque agiter pendant 5 autres minutes.

-Lecture sur Luminex

Pendant l'incubation de la plaque avec l'anticorps de détection nous avons préparé l'automate Système BIO-PLEX SOFTWARE, Version 6.1 et nous avons lu le résultat après 15 minutes. Voir annexe 4 pour matériel (page 130-133).

II.4. Considérations éthiques

Dans le souci du respect de l'éthique de la recherche médicale, nous avons entrepris une démarche administrative dans l'objectif d'obtenir :

- Une autorisation de collecte des données délivrée par le CHUY et le HGY (annexes 8 et 9 pages 140 et 141) ;
- Une autorisation d'analyse des données délivrée par le CECMT (annexe 10 page 142) ;
- Clairance d'éthique délivrée par le JIRB (annexe 11 page 143) ;
- Le patient réunissant les critères d'inclusion lisait d'abord la notice d'information (annexe 5, pages 134-136) puis donnait son consentement signé (annexe 6, pages 137-138) enfin un code lui était attribué.

❖ Risques potentiels

Pendant le prélèvement, le patient encoure les risques suivants : hématome, douleur, malaise, piqûre du nerf médian. Tout au long de cette étude, les chercheurs et personnel médical étaient exposés à la contamination par le VHB, VHC et/ou VIH.

❖ Bénéfices

Pour le patient : en acceptant participer à cette étude, aucun bénéfice matériel ou financier n'était accordé aux patients mais leur participation a contribué largement à l'édification et l'évolution de la recherche dans notre pays en particulier.

Pour le chercheur : ce travail de recherche est purement d'ordre académique et n'a reçu aucun financement d'un organisme national ou international. Le chercheur a mené cette étude dans le cadre de ses travaux de Doctorat/PhD. Le bénéfice qu'il a tiré de cette étude est sa formation en tant que chercheur, la soutenance de sa thèse de Doctorat/PhD et la publication des résultats de cette étude.

❖ Mesures prises pour la confidentialité des données et la vie privée des participants

La participation à l'étude était libre et volontaire. Chaque tube de sang était étiqueté par le code qui figurait sur la fiche de collecte des données (annexe 7, page 139). Toutes les informations et données recueillies sur le terrain ont été tenues confidentielles et les résultats ont été anonymés lors des communications. Toutes les mesures ont été prises pour ne porter aucun préjudice aux participants ou une répression en cas de refus de participation.

II.5. Analyses statistiques des données

Pour chaque participant recruté, les variables qualitatives (genre, scarification, tatouage, alcoolisme, tabagisme, antécédent chirurgical, transfusion sanguine, Hépatite chronique, cirrhose, CHC, Ag HBs, Ag/Ac Anti-VHC) et les variables quantitatives (âge, IL-2 ; IL-4 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IFN α 2 ; IFN γ ; VEGF ; G-CSF ; RANTES ; ADN VHB ; ARN VHC) ont été collectées. Les données recueillies ont été enregistrées et traitées à l'aide du classeur *Excel (Version 2016)* et les analyses ont été faites à l'aide du logiciel biostatistique *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 25.0*. Les données catégorielles ont été résumées sous forme de fréquences et de pourcentages. Alors que les données continues ont été initialement testées pour la normalité à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov. Les données continues ont été présentées sous forme de moyennes $\pm$ d'écarts-types. Pour comparer les variables catégorielles, nous avons utilisé les tests exacts du chi carré et de Fischer. Pour comparer les variables quantitatives entre les trois groupes, nous avons utilisé le test de comparaison de moyenne (ANOVA), pour la comparaison des biomarqueurs analysés entre les groupes deux à deux, nous avons utilisé le test t de Student. Ensuite, nous avons effectué le test de corrélation de Pearson, le coefficient de corrélation (r) et les *P-values* (p) respectives ont été calculées. Nous avons retenu uniquement les variables ayant montré une corrélation statistiquement significative. Pour ces biomarqueurs, nous avons déterminé leurs performances diagnostiques que nous avons comparées à celle de l'AFP, grâce aux courbes ROC (*Receiver Operator Characteristic*). Ce qui nous a permis de déterminer les biomarqueurs ayant la sensibilité et la spécificité les plus élevées dans le diagnostic du CHC. Toutes les valeurs p inférieure à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Résultats de la méta-analyse

Nous avons eu au final un total de 36 études qui ont produit 114 données d'effet estimé (voir figure 13 page 24) pour l'établissement de l'association entre avoir le VHB et/ou VHC et le développement du CHC chez 11403 atteints de CHC et 13026 témoins.

III.1.1.1. Niveau d'association entre l'infection au VHB et le développement du CHC

Globalement les témoins infectés par le VHB ont montré des risques élevés de développer du CHC. En effet, à partir du tableau I (page 51), nous avons observé les résultats significatifs lorsque nous considérons les témoins ayant une maladie non hépatique infectés par l'Ag HBe avait un risque 19,9 fois élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [3,7–105,2], tandis ce risque était 9,9 fois élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [6,2–15,6] lorsque ces derniers étaient infectés par l'Ag HBs. Ce risque était 8,9 fois élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [5,9–13,4] lorsque les témoins ayant une maladie non hépatique étaient infectés par l'ADN. Lorsque nous avons considéré les témoins apparemment sains infectés par l'AgHBs, le risque était 8,9 fois élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [6,0–13,0]. Voir le tableau I de la page 51 qui récapitule l'association entre le VHB et le développement du CHC.

Par contre nous n'avons observé aucune différence significative pour témoins apparemment sains infectés par l'AgHBe même comme ces témoins montraient un risque de 3,4 élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [0,6–19,6].

Nous avons observé une hétérogénéité significative ($I^2 > 50\%$) pour toutes les analyses selon les différents types de marqueurs du VHB et les témoins. Voir le tableau I de la page 50 qui récapitule l'association entre le VHB et le développement du CHC.

III.1.1.2. Niveau d'association entre l'infection au VHC et le développement du CHC

Globalement les témoins infectés par le VHC ont montré des risques significatifs pour développer le CHC. Lorsque nous considérons les témoins ayant la maladie non hépatique positifs aux anticorps anti-VHC, le risque pour eux de développer le CHC était de 9,4 fois élevé dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [6,3–14,0]. Lorsque nous considérons les témoins ayant la maladie non hépatique positifs à l'ARN du VHC, le risque était de 16,5 fois élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [7,8–34,6]. Lorsque nous considérons les témoins apparemment sains, positifs aux anticorps anti-VHC, le risque de développer le CHC était de 7,7 fois élevé dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [5,6–10,6]. Voir le tableau I de la page 51 qui récapitule l'association entre l'infection au VHB et le développement du CHC.

Nous n'avons observé aucune différence significative lorsque nous avons considéré les anticorps anti-VHC chez les témoins atteints de cirrhose du foie malgré un faible risque de 1,9 élevé de développer le CHC chez ces derniers dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [0,9–3,8].

Nous avons observé une hétérogénéité significative ($I^2 > 50 \%$) pour toutes les analyses selon les différents types de marqueurs du VHC et les témoins. Voir le tableau I de la page 51 qui récapitule l'association entre l'infection au VHC et le développement du CHC.

III.1.1.3. Niveau d'association entre la coinfection du VHB/VHC et le développement du CHC

Globalement la coinfection au VHB/VHC a montré des associations significatives pour les témoins positifs aux marqueurs VHB/VHC et le développement du CHC. En effet, chez les individus atteints d'une maladie non hépatique positifs à l'ADN du VHB et à l'ARN du VHC le risque était de 22,5 fois élevé de développer le CHC dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [1,3–387,8]. Dans le même sens les témoins apparemment sains positifs à l'AgHBs et aux anticorps anti-VHC, le risque de développer le CHC était de 7,8 fois élevé dans un intervalle de confiance à 95 % compris entre [4,4–13,6]. Voir le tableau I de la page 51 qui récapitule l'association entre le VHB et le développement du CHC.

Tableau I : Association entre le VHB/VHC et le développement du CHC

	Types de témoin	Marqueurs	OR (95%CI)	CHC (n=11403)	Témoin (n=13026)	I ² (95%CI)	P heterogeneity
HBV		HBeAg	19,9 [3,7-105,2]	175	170	NA	0.7
	Témoin sain		3,5 [0,6-19,6]	505	543	7,8 [43,1-92,1]	0,003
	Témoin sain		8,9 [6,1-13,1]	2180	2587	73,3 [57,4-83,3]	0
	Cirrhose	HBsAg	1,2 [0,7-1,8]	747	489	64,4 [19,7-84,2]	0,01
	Maladies non hépatique		9,9 [6,3-15,6]	1904	2473	78,8 [67,5-86,2]	0
	Hépatite chronique		1,5 [0,9-2,5]	431	389	66,3 [1,3-88,5]	0.031
	Maladies non hépatique	DNA	8,9 [6-13,4]	496	877	50,3 [0-85,6]	0,134
HCV	Témoin sain		7,8 [5,6-10,7]	1465	1639	0 [0-58,2]	0,445
	Cirrhose	Anti-HCV	1,9 [1-3,8]	537	322	52,3 [0-84,2]	0,099
	Maladies non hépatique	Anti-HCV	9,4 [6,3-14]	1843	2707	68,5 [46,2-81,6]	0
		ARN	16,5 [7,8-34,6]	384	350	85.5[41.3; 96.4]	0.0087
HBV/HCV	Témoin sain	HBsAg/Anti-HCV	7,8 [4,5-13,7]	588	332	0 [0-86,3]	0,468
	Maladies non hépatique	ADN VHB/ARN VHC	22,5[1,3-387,8]	148	148	NA	NA

NA : Non Applicable

III.1.2. Description des participants en fonction caractéristiques démographiques

Globalement, les participants à cette étude avaient une moyenne d'âge $\pm$ Ecart-type de $51,1 \pm 12,5$ ans et un *sex-ratio* de 1,9 au détriment des femmes. L'âge des participants était compris entre 26 et 71 ans. Les tranches d'âges 40-49 et 60-69 ans étaient les plus représentées avec 119 (29,3%) et 112 (27,6%) participants respectivement. Voir les tableaux II-a et II-b respectivement aux pages 53 et 54.

Lorsque nous considérons les participants en fonction des trois groupes étudiés. Parmi ceux atteints de VHB, le groupe Hépatite Chronique (HC) était majoritaire avec 37 participants. En fonction de l'âge des participants, le groupe CHC avait la moyenne d'âge la plus élevée avec respectivement $65,08 \pm 39$ ans. La tranche d'âge 60-69 ans était la plus représentée et les participants atteints de CHC étaient les plus représentés 11(47,8%). Pour ce qui était du genre, le genre féminin du groupe HC était le plus représenté 22 (61,1%). Voir tableau II-a (page 53).

Parmi ceux atteints de VHC, le groupe le groupe hépatite Chronique (HC) était majoritaire avec 19 participants. En fonction de l'âge des participants, le groupe CHC avait la moyenne d'âge la plus élevée avec respectivement $65,8 \pm 4,2$ ans. Les tranches d'âge 50-59 et 60-69 ans étaient les plus représentées avec 8(61,5%) et 8(57,1%) participants respectivement. Celles-ci correspondaient aux groupes des participants HC et CHC respectivement. En outre, les participants de sexe féminin du groupe HC 11(68,8%) étaient le plus représentés. Voir tableau II-b (page 54).

Tableau II-a : caractéristiques démographiques des participants VHB

n=69 participants VHB				
Caractéristiques		HC (n=37)	Cirrhose(n=19)	CHC(n=13)
Age				
Moyenne ± Ecart-Type		46,6±13,7	45,8±16,1	65,08±3,9
20-29		4 (50,0)	4 (50,0)	-
30-39		8 (61,5)	5 (38,5)	-
40-49	n(%)	7 (100,0)	-	-
50-59		9 (64,3)	5(35,7)	-
60-69		8(34,8)	4(17,4)	11(47,8)
70-79		1(25,0)	1(25,0)	2(50,0)
Sexe				
Féminin	n(%)	22 (61,1)	10 (27,8)	4(11,1)
Masculin		15 (45,5)	9(27,3)	9 (32,1)

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; ; n : nombre de participants ; - : 0

Tableau II-b : caractéristiques démographiques des participants VHC

n= 44 participants VHC				
Caractéristiques		HC (n=19)	Cirrhose (n=14)	CHC (n=11)
Age				
Moyenne ± Ecart-Type		49,7±7,3	56,5±8,2	65, 8±4,2
20-29		-	-	-
30-39		2(100,0)	-	-
40-49	n(%)	7(63,6)	4(36,4)	-
50-59		8(61,5)	5(38,5)	-
60-69		2(14,3)	4(28,6)	8(57,1)
70-79		-	1(25,0)	3(75,0)
Sexe				
Féminin	n(%)	11 (68,8)	3 (18,8)	2 (12,5)
Masculin		8 (39,3)	8(28,6)	10 (29,4)

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participants ; - :0

III.1.3. Description des participants en fonction caractéristiques sociales

Les caractéristiques sociales concernaient le statut matrimonial, les scarifications, les tatouages, la consommation d'alcool et le tabagisme avant la maladie. Voir les tableaux III-a et III-b respectivement aux pages 56 et 57.

Pour les participants atteints de VHB, Lorsque nous considérons le statut matrimonial, le groupe des célibataires des patients HC était majoritaire 16 (64,0%), était le plus scarifié 6 (46,2%), il en est de même pour les tatouages, 9 (64,3%). Tandis que le groupe CHC et Cirrhose du foie étaient les plus scarifiés respectivement à 4 (30,8%) et à 3 (23,1%). Quant aux tatouages, aucun participant du groupe CHC n'a été exposé à ce facteur de risque. Par contre, le groupe Cirrhose du foie était tatoué à 5 (35,7%). En ce qui concerne la consommation de l'alcool 10 (66,7%) étaient affectés chez les participants HC, tandis que aucun participant de ce groupe ne consommait le tabac avant la maladie. Pour la consommation de l'alcool avant la maladie, les participants atteints de Cirrhose du foie étaient exposés à 3 (20,0%), tandis que les participants atteints de CHC étaient exposés à 2 (13,3%). Pour la consommation du tabac avant la maladie, 2 (66,7%) participants atteints de CHC étaient affectés, tandis que 1 (33,3%) de participants atteints de Cirrhose du foie étaient affectés. Voir tableau III-a (page 56).

Pour les participants atteints de VHC, En fonction du statut matrimonial, les participants mariés étaient les plus représentés dans le groupe HC avec 12(40,0%). Lorsque nous considérons le statut matrimonial les mariés groupe des patients HC étaient majoritaires 12 (40,0%). Le groupe CHC était le plus scarifié 4 (44,4%), alors que les participants atteints de Cirrhose du foie et HC étaient scarifiés respectivement à 3 (33,3%) et à 2 (22,2%). En ce concerne les tatouages, le groupe le plus tatoué 5 (62,5%) était le groupe HC, ensuite venait le groupe des patients atteints de Cirrhose du foie 3 (37,5%). Aucun participant atteints de CHC n'était exposé à ce risque avant sa maladie. En ce qui concerne la consommation de l'alcool 7 (53,8%) étaient affectés chez les participants HC, et respectivement 3 (23,1%) étaient exposés à la consommation de l'alcool avant la maladie chez les participants ayant une Cirrhose du foie et un CHC. Pour la consommation du tabac avant la maladie, 2 (50,0%) participants atteints de CHC étaient affectés, tandis que 1 (25,0%) de participants atteints respectivement de Cirrhose du foie et HC étaient exposés au tabac avant leur maladie. Voir tableau III-b (page 57)

Tableau III-a : Caractéristiques sociales des participants VHB

		n= 69 participants VHB		
Caractéristiques		HC n=37	Cirrhose n=19	CHC n=13
Statut matrimonial				
Marié	n(%)	15(48,4)	8(25,8)	8(25,8)
Célibataire		16(64,0)	9(36,0)	-
Veuf		6(46,2)	2(15,4)	5(38,5)
Scarification				
Non	n(%)	33 (58,9)	17 (30,9)	16(28,6)
Oui		6 (46,2)	3(23,1)	4(30,8)
Tatouage				
Non	n(%)	28 (50,9)	14 (25,5)	13 (23,6)
Oui		9(64,3)	5 (35,7)	-
Consommation Alcool avant la maladie				
Non	n(%)	27(50,0)	16 (29,6)	11(20,4)
Oui		10 (66,7)	3 (20,0)	2 (13,3)
Tabagisme avant maladie				
Non	n(%)	37 (56,1)	18 (27,3)	11 (16,7)
Oui		-	1 (33,3)	2 (66,7)

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; ; n : nombre de participants ; - : 0

Tableau III-b : Caractéristiques sociales des participants VHC

n= 44 participants VHC				
		HC (n=19)	Cirrhose (n=14)	CHC (n=11)
Statut matrimonial				
Marié		12(40,0)	10 (33,3)	8 (26,7)
Célibataire	n(%)	5 (55,6)	4 (44,4)	-
Veuf		2 (40,0)	3 (60,0)	-
Scarification				
Non	n(%)	17 (48,6)	11 (31,4)	7 (20,0)
Oui		2(22,2)	3 (33,3)	4 (44,4)
Tatouage				
Non	n(%)	14 (38,9)	11 (30,6)	11(30,6)
Oui		5 (62,5)	3 (37,5)	-
Consommation Alcool avant la maladie				
Non	n(%)	16(51,6)	11(35,5)	4(12,9)
Oui		7(53,8)	3(23,1)	3(23,1)
Tabagisme avant maladie				
Non	n(%)	18(45,0)	13(32,5)	9 (22,5)
Oui		1(25,0)	1(25,0)	2 (50,0)

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participants ; - :0

III.1.4. Description des participants en fonction des antécédents médicaux

Le tableau IV-a et tableau IV-b (pages 58 et 59) présente les différents antécédents médicaux auxquels les participants à cette étude ont exposé. Globalement, aucun participant n'avait précédemment été exposé à un antécédent chirurgical, que ce soit chez les patients atteints de VHB ou de VHC. En outre aucun des participants à cette étude n'avait reçu de vaccin contre l'hépatite B.

Concernant les patients atteints du VHB, les participants ayant reçu une transfusion sanguine étaient plus représentés dans le groupe des patients atteints de HC (66,7%), suivi des patients atteints de CHC (25,0%) et enfin les patients atteints de Cirrhose du foie (8,3%). Voir tableau IV-b (page 58).

Tableau IV-a : Répartition des participants VHB à l'étude en fonction de quelques facteurs de risque, et la vaccination

		n= 69 participants VHB		
		HC n=37	Cirrhose n=19	CHC n=13
Antécédent chirurgical				
Non	n(%)	37 (53,6)	19 (27,5)	13 (18,8)
Oui		-	-	-
Vaccination contre HBV				
Non	n(%)	37 (53,6)	19 (27,5)	13 (18,8)
Oui		-	-	-
Transfusion sanguine				
Non	n(%)	29 (50,9)	18 (31,6)	10 (17,5)
Oui		8 (66,7)	1(8,3)	3 (25,0)

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participant ; - : 0

Tandis que, pour les participants atteints de VHC, 2 (40,0%) des participants atteints respectivement de HC et Cirrhose étaient exposés à la transfusion sanguine. Alors que seuls 1 (20,0%) de participants atteints de CHC étaient exposés à la transfusion sanguine. Voir tableau IV-b (page 59).

Tableau IV-b : Répartition des participants VHC à l'étude en fonction de quelques facteurs de risque, et la vaccination

		n= 44 participants VHC		
		HC n=19	Cirrhose n=14	CHC n=11
Antécédent chirurgical				
Non	n(%)	19 (43,2)	14(31,8)	11 (25,0)
Oui		-	-	-
Vaccination contre HBV				
Non	n(%)	19 (43,2)	14 (31,8)	11 (25,0)
Oui		-	-	-
Transfusion sanguine				
Non	n(%)	17(43,6)	12(30,8)	10(25,6)
Oui		2(40,0)	2(40,0)	1(20,0)

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participant ; - : 0

III.1.5. Description des participants en fonction des traitements

La répartition des participants à l'étude en fonction du type de traitement est récapitulée respectivement dans les tableaux V-a et V-b (page 60 et 61).

Les participants atteints de VHB étaient majoritairement soumis à l'association Tenofovir + Emtricitabine avec les taux les plus importants détectés chez les participants atteints de HC (62,5%), suivi des participants atteints de cirrhose du foie (25,0%) et enfin des patients atteints de CHC (12,5%). En ce qui concerne le traitement au Tenofovir exclusivement, les participants les plus soumis à ce traitement étaient les participants atteints de CHC avec 5 (38,5%). Alors que les participants atteints de HC et Cirrhose de foie étaient respectivement soumis à 4 (30,8%). Pour ce qui est du traitement à base de Lamivudine, les participants atteints de HC et Cirrhose étaient respectivement soumis respectivement à 3 (37,5%), tandis que les patients atteints de CHC étaient soumis à 2 (25,0%) à Lamivudine. Voir tableau V-a (page 60).

Tableau V-a : Répartition des participants à l'étude en fonction des traitements contre le VHB

		n= 69 participants VHB		
		HC n=37	Cirrhose n=19	CHC n=13
Traitement VHB				
Lamivudine	n(%)	3(37,5)	3(37,5)	2(25,0)
Tenofovir	n(%)	4(30,8)	4(30,8)	5(38,5)
Tenofovir+	n(%)	30(62,5)	12(25,0)	6 (12,5)
Emtricitabine				

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participant

Pour ce qui concerne le traitement contre le VHC, nous notons que les patients HC étaient majoritairement soumis à sofosbuvir + ribavirine avec 8 (47,1%), ensuite de 5 (29,4%) participants Cirrhose du foie, et enfin 4 (23,5%) participants atteints de CHC. Pour ce qui est de l'association sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha les patients HC étaient majoritaires avec 7 (50,0%), ensuite de 5 (35,7%) participants Cirrhose du foie, et enfin 2 (14,3%) participants atteints de CHC. Pour ce qui est de l'association sofosbuvir + ledispavir les patients CHC étaient majoritaires avec 5 (38,5%) et 4 (30,8%) participants pour respectivement les participants atteints de Cirrhose du foie et HC. Voir tableau V-b (page 61).

Tableau V-b : Répartition des participants à l'étude en fonction des traitements contre le VHC

		n= 44 participants VHC		
		HC n=19	Cirrhose n=14	CHC n=11
Traitement VHC				
Sofosbuvir + ribavirine	n(%)	8(47,1)	5(29,4)	4(23,5)
Sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha	n(%)	7(50,0)	5(35,7)	2(14,3)
Sofosbuvir + ledispavir	n(%)	4(30,8)	4(30,8)	5(38,5)
CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : Hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participant				

III.1.6. Profil virologique des participants à l'étude

a)- Prévalence des marqueurs virologiques rechercher chez les participants à l'étude

Globalement, nous avons obtenu une séroprévalence de 37/163 (22,7%) ; 19/38(50,0%) ; 13/26 (50,0%) de l'AgHBs respectivement pour les patients atteints d'Hépatite Chronique, Cirrhose et CHC. Pour l'Ac anti-VHC/AgVHC la séroprévalence était de 19/163 (11,7%) ; 14/38(36,8%) ; 11/26 (42,3%). Voir tableau VI ci-dessous.

Tableau VI : séroprévalence de marqueurs du VHB et VHC recherchés

Participants	n	Ag HBs	Anticorps Anti HCV/AgVHC
HC	163	37/163 (22,6%)	19/163 (11,6%)
Cirrhose	38	19/38(50,0%)	14/38(36,8%)
CHC	26	13/26 (50,0%)	11/26 (42,3%)

CHC : carcinome hépatocellulaire ; HC : hépatite Chronique ; n : nombre de participants

b)- Par immunochromatographie

Sur les 227 participants remplissant les critères d'inclusion, 97 participants étaient positifs au VHB, soient respectivement 65/163(39,9%) participants Hépatite Chronique, 19/38(50,0%), Cirrhose et 13/26 (50,0%) CHC avec $P < 0,0001$. Voir tableau VII-a (page 63). Tandis que pour la recherche de l'Ac-anti VHC parmi les 227 participants remplissant les critères d'inclusion, nous avons obtenu 69 participants positifs au VHC avec respectivement 37/163 (22,7%) participants Hépatite Chronique, 19/38 (50%) Cirrhose et 13/26 (50%) CHC positifs à l'Ac-Anti HCV et $p = 0,009$. Voir tableau VII-b (page 63).

Tableau VII-a : Profil de marqueurs du VHB recherchés par immuno chromatographie

Marqueur virologiques		HC*	Cirrhose	CHC	p-value
		n=163	n=38	n=26	
Ag HBs	Négatif n(%)	37 (22,7)	19 (50)	13 (50)	<0,0001
	Positif n(%)	65 (39,9)	19 (50)	13 (50)	

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : hépatite Chronique ; Ag HB : antigène de surface du virus de l’Hépatite B ; Ag VHC : antigène du Virus Hépatite C ; n : nombre de participants ; HC* : 61 échantillons ont été invalides par immunochromatographie ceux-ci ont été éliminés de la suite de l’analyse.

Tableau VII-b : Profil de marqueurs du VHC recherchés par immuno chromatographie

Marqueurs virologiques		HC*	Cirrhose	CHC	p-value
		n=163	n=38	n=26	
Anticorps Anti HCV	Négatif n (%)	65 (39,9)	19 (50)	13 (50)	0,009
	Positif n (%)	37 (22,7)	19 (50)	13 (50)	

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : hépatite Chronique ; Ag VHC : antigène du Virus Hépatite C ; n : nombre de participants ; HC* : 61 échantillons ont été invalides par immunochromatographie ceux-ci ont été éliminés de la suite de l’analyse.

c)- Par *Enzyme Linked Immunosorbent (ELISA)*

Marqueurs du VHB ou VHC ont été recherchés avec ELISA uniquement sur les 166 participants positifs au VHB ou VHC par immunochromatographie

Avec la méthode ELISA, la recherche de l’Ag HBs et l’Ag VHC s’est effectuée uniquement sur les échantillons positifs aux TDR pour le VHB et le VHC soient respectivement 97 échantillons VHB et 69 échantillons VHC.

Sur les 97 échantillons positifs au VHB par immunochromatographie, nous avons obtenu 28 échantillons avec un ratio ≤1. Ces échantillons ont été déclaré négatifs. Seuls 69 échantillons avec un ratio > 1 ont été définitivement déclarés positifs au VHB avec ELISA, soient 37/65 (56,9%), 19/19 (100,0%), 13/13 (100,0%) pour respectivement les échantillons des participants atteints d’Hépatite Chronique, de Cirrhose et de CHC (P<0,000 1). Voir tableau VIII ci-dessous.

Tandis que sur les 69 échantillons positifs au VHC avec le TDR, nous avons obtenu 25 échantillons avec un ratio ≤1. Ces échantillons ont été déclarés négatifs. Seuls 44 échantillons avaient un ratio > 1 ont été déclarés positifs au VHC avec ELISA, soient 19/37 (51,3%) ; 14/19 (73,7%) ; 11/13(84,6%) pour respectivement les échantillons des participants atteints d’Hépatite Chronique, de Cirrhose et de CHC (P<0,000 1). Voir tableau VIII ci-dessous.

Tableau VIII : Profil de marqueurs du VHB et VHC recherchés par ELISA

Marqueurs virologiques		HC	Cirrhose	CHC	p-value
Ag HBs	Négatif n (%)	28 (43,1)	-	-	<0,000 1
	Positif n (%)	37 (56,9)	19 (100,0)	13 (100,0)	
AgVHC	Négatif n (%)	18 (48,7)	5(26,3)	2(15,4)	<0,000 1
	Positif n (%)	19 (51,3)	14 (73,7)	11(84,6)	

CHC : Carcinome Hépatocellulaire ; HC : hépatite Chronique ; VHB : Virus Hépatite B ; VHC : Virus Hépatite C ; n : nombre de participants ; - :0

d)- Charge virale des participants atteints de VHC et VHB respectivement à 12 et 24 semaines de traitement

Pour les participants atteints de VHB, ainsi que pour les participants atteints de VHC, la charge virale de chaque groupe étudié était au-dessus du seuil de détectabilité. Mais la comparaison des moyennes des différentes charges virales entre les trois groupes étudiés était non significative quel que soit le virus de l'hépatite considéré (Tableau IX) ci-dessous.

Tableau IX : Charge virale VHB et VHC des participants.

		HC	Cirrhose	CHC	<i>p-value</i>
ADN VHB (Log)	Moyenne ± Écart type	6,3±1,6	5,03±1,9	6,3±1,9	0,2
ARN VHC (Log)		4,1±1,7	10,4±18,4	5,1±0,6	0,3

HC : hépatite Chronique ; Charge virale HBV ou VHC indétectable (< 1 log) ;

III.1.7. Profil du traitement contre le VHB en fonctions de quelques caractéristiques chez les participants sélectionnés au hasard

Nous avons sélectionné au hasard 30 participants VHB des 69 participants positifs à l'Ag HBs. Nous notons aucune variation significative entre l'âge et le sexe respectivement $p=0,6$ et $p=0,8$. Mais en considérant les différences classes d'âge, nous constatons que le traitement Tenofovir + Emtricitabine étaient celui le plus prescrit à toutes les tranches d'âge avec respectivement 3 (75%) ; 2 (40,0%) ; 1 (33,3%) ; 1 (25,0%) ; 5a (38,5%) de représentants pour 21-30 ; 31-40 ; 41-50 ; 51-60 ; 61-70 ; 71-80 comparés aux autres traitements comme, Lamivudine, et Tenofovir. Voir tableau X ci-dessous.

En ce qui concerne le sexe, le traitement Tenofovir + Emtricitabine étaient une fois de plus celui le plus prescrit entre les femmes et les hommes avec respectivement 2 (50,0%) et 10 (38,5%) de représentants pour respectivement les femmes et les hommes. Comparés aux autres traitements comme, Lamivudine, et Tenofovir. Voir tableau X ci-dessous.

Tableau X : Profil du traitement des participants VHB sélectionnés au hasard en fonctions de quelques caractéristiques

		Traitement VHB			<i>p-value</i>
		Lamivudine	Tenofovir	Tenofovir + Emtricitabine	
Âge par classe	21-30	1 _a (25,5)	0 _a (0,0)	3 _a (75,0)	0,6
	31-40	1 _a (20,0)	2 _a (40,0)	2 _a (40,0)	
	41-50	0 _a (0,0)	2 _a (66,7)	1 _a (33,3)	
	51-60	2 _a (50,0)	1 _a (25,0)	1 _a (25,0)	
	61-70	4 _a (30,8)	4 _a (30,8)	5 _a (38,5)	
	71-80	0 _a (0,0)	1 _a (0,0)	0 _a (0,0)	
Sexe	Femme	1 _a (25,0)	1 _a (25,0)	2 _a (50,0)	0,8
	Homme	7 _a (28,9)	9 _a (34,6)	10 _a (38,5)	

Chaque lettre en indice indique un sous-ensemble de traitement catégories dont les proportions de colonne ne diffèrent pas de manière significative les unes des autres au niveau 0,05

III.1.8. Profil du traitement des participants VHC en fonctions de quelques caractéristiques chez les participants sélectionnés au hasard

Nous avons également sélectionné au hasard 30 participants VHC des 44 participants positifs à l'Ag VHC. Nous notons aucune variation significative entre l'âge et le sexe respectivement ($p= 0,6$) ; ($p= 0,2$). Lorsque nous considérons les différences classes d'âge, nous constatons que le traitement sofosbuvir +ledispavir était le plus prescrits pour les tranches d'âge suivants 21-30 ; 41-50 ; 51-60 ; 61-70 ; avec respectivement 4 (33,3%) ; 1 (8,3%) ; 3 (25,0%) et 4 (33,3%) de représentants Tandis que et sofosbuvir + ribavirine était prescrit pour les tranches d'âge suivants 21-30 ; 31-40 ; 41-50 ; 51-60 ; 61-70 avec respectivement 3 (25,0%) ; 2 (16,7%) ; 2 (16,7%) ; 3 (25,0%) ; 2 (16,7%) de représentants. Comparés au traitement comme, sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha. Tableau XI ci-dessous.

En ce qui concerne le sexe on avait équilibre de prescription entre sofosbuvir + ribavirine et sofosbuvir +ledispavir. Le traitement sofosbuvir +ledispavir était prescrit entre les femmes et les hommes avec respectivement 3 (25,0%) et 9 (75,0%). Tandis que sofosbuvir + ribavirine était prescrit à 4 (33,3%) et 8 (66,7%) respectivement chez les femmes et les hommes. Comparés au traitement sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha. Tableau XI ci-dessous.

Tableau XI : Profil du traitement des participants VHC sélectionnés au hasard en fonctions de quelques caractéristiques

		Traitement VHC			<i>p-value</i>
		Sofosbuvir + ribavirine	Sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha	Sofosbuvir +ledispavir	
Age par classe	21-30	3 _a (25,0)	1 _a (16,7)	4 _a (33,3)	0,6
	31-40	2 _a (16,7)	0 _a (0,0)	0 _a (0,0)	
	41-50	2 _a (16,7)	2 _a (33,3)	1 _a (8,3)	
	51-60	3 _a (25,0)	1 _a (16,7)	3 _a (25,0)	
	61-70	2 _a (16,7)	2 _a (33,3)	4 _a (33,3)	
Sexe	Femme	4 _a (33,3)	0 _a (0,0)	3 _a (25,0)	0,2
	Homme	8 _a (66,7)	6 _a (100,0)	9 _a (75,0)	

Chaque lettre en indice indique un sous-ensemble de traitement catégories dont les proportions de colonne ne diffèrent pas de manière significative les unes des autres au niveau 0,05

III.1.9. Profil biochimique des participants

Le profil biochimique des participants a consisté à la recherche des transaminases et AFP sur les échantillons des participants positifs aux VHB ou VHC par immunochromatographie et ELISA.

Globalement le profil biochimique des participants s'est effectué sur 60 participants respectivement 20 participants par groupe étudié. Pour ce qui est de l'AFP, nous avons trouvé respectivement $63,6 \pm 21,8$ ng/ml ; $88,41 \pm 19,2$ ng/ml ; $226,5 \pm 66,4$ ng/ml ($p < 0,0001$) pour les groupes hépatite chronique, Cirrhose, et CHC. En ce qui concerne les transaminases, l'ALAT était de $27,1 \pm 9,8$ UI/L ; $58,1 \pm 7,5$ UI/L ; $73,6 \pm 15,4$ UI/L ($p < 0,0001$) pour respectivement les groupes hépatite chronique, Cirrhose, et CHC. Tandis que, l'ASAT était de $23,2 \pm 5,1$ UI/L ; $53,4 \pm 8,2$ UI/L ; $73,5 \pm 11,8$ UI/L ($p < 0,0001$) pour respectivement les groupes hépatite chronique, Cirrhose, et CHC. Voir tableau XII ci-dessous.

Tableau XII : Profil biochimique des participants positifs aux hépatites virales

	HC (n=20)	Cirrhose (n=20)	CHC (n=20)	<i>p-value</i>
	Moyenne $\pm$ ET	Moyenne $\pm$ ET	Moyenne $\pm$ ET	
ALAT (GPT) UI/L	27,1 $\pm$ 9,8	58,1 $\pm$ 7,5	73,6 $\pm$ 15,4	<0,000 1
ASAT (GOT) UI/L	23,2 $\pm$ 5,1	53,4 $\pm$ 8,2	73,5 $\pm$ 11,8	<0,000 1
AFP ng/ml	63,6 $\pm$ 21,8	88,41 $\pm$ 19,2	226,5 $\pm$ 66,4	<0,000 1

Les taux d'ALT normaux sont compris entre 17-59 UI/L. Les taux d'AST normaux sont compris entre 10-50 UI/L. Les taux d'AFP compris entre 0-20 ng/ml sont considérés normaux. HC : Hépatite Chronique ; n : nombre de participant ; ET : Ecart-Type ; UI/L : Unité Internationale/Litre ; ng/ml : nanogramme/millilitre.

Le profil biochimique des participants positifs au VHB s'est effectué sur 30 échantillons repartis tel que 10 échantillons des participants atteints d'hépatite chronique (HC), 10 échantillons de participants atteints de Cirrhose, 10 échantillons de participants atteints de CHC.

Il en ressort que, les participants atteints de CHC avaient une moyenne de AFP de plus élevée $218,3 \pm 60,9$ ng/ml, suivi des participants atteints de cirrhose $94,3 \pm 22,8$ ng/ml, et enfin les participants atteints de HC $55,5 \pm 20,6$ ng/ml. La comparaison des trois groupes montrait une différence significative ($P < 0,0001$). Les ALAT étaient plus élevées chez les participants atteints de CHC $76,9 \pm 10,1$ UI/L par rapport aux échantillons des participants atteints d'HC et Cirrhose avec respectivement comme moyenne d'ALAT $28,2 \pm 12,7$ UI/L et $57,6 \pm 9$ UI/L, avec $P < 0,0001$. Pareillement, les ASAT étaient plus élevées chez participants atteints de CHC $73,7 \pm 11,2$ par rapport aux échantillons des participants atteints d'HC et Cirrhose avec respectivement comme moyenne d'ASAT $23,3 \pm 4,0$ et $53,3 \pm 7,9$ UI/L, avec $P < 0,0001$. Voir tableau XIII ci-dessous.

Tableau XIII : Profil biochimique des participants VHB

	HC (n=10)	Cirrhose (n=10)	CHC (n=10)	<i>p-value</i>
	Moyenne $\pm$ ET	Moyenne $\pm$ ET	Moyenne $\pm$ ET	
ALAT (GPT) UI/L	28,2 $\pm$ 12,7	57,6 $\pm$ 9,6	76,9 $\pm$ 10,1	<0,000 1
ASAT (GOT) UI/L	23,3 $\pm$ 4,0	53,3 $\pm$ 7,9	73,7 $\pm$ 11,2	<0,000 1
AFP ng/ml	55,5 $\pm$ 20,6	94,3 $\pm$ 22,8	218,3 $\pm$ 60,9	<0,000 1

Les taux d'ALT normaux sont compris entre 17-59 UI/L. Les taux d'AST normaux sont compris entre 10-50 UI/L. Les taux d'AFP compris entre 0-20 ng/ml sont considérés normaux. HC : Hépatite Chronique ; n : nombre de participant ; ET : Ecart-Type ; UI/L : Unité Internationale/ Litre ; ng/ml : nanogramme/millilitre.

Chez les participants VHC, les participants atteints de CHC avaient une moyenne d'AFP de plus élevée $234,7 \pm 73,8$ ng/ml, suivi des participants atteints de cirrhose $82,5 \pm 13,5$ ng/ml, et enfin les participants atteints de HC $71,6 \pm 20,8$ ng/ml. La comparaison des trois groupes donnait une différence significative ($P < 0,0001$). Les ALAT étaient plus élevée chez participants atteints de CHC $75,4 \pm 7,3$ UI/L par rapport aux échantillons des participants atteints d'HC et Cirrhose qui avaient respectivement $29,0 \pm 9,8$ UI/L et $58,7 \pm 5,1$ UI/L. la comparaison des trois groupes donnait une différence significative ($P < 0,0001$). Concernant les ASAT les quantités étaient plus élevée chez participants atteints de CHC $72,2 \pm 13,8$ UI/L par rapport aux échantillons des participants atteints d'HC et Cirrhose dont les quantités étaient respectivement $23,1 \pm 6,1$ UI/L et $53,7 \pm 8,6$ UI/L ($P < 0,0001$). Voir tableau XIV ci-dessous.

Tableau XIV : Profil biochimique des participants VHC

	HC (n=10)	Cirrhose(n=10)	CHC (n=10)	P-value
	Moyenne $\pm$ ET	Moyenne $\pm$ ET	Moyenne $\pm$ ET	
ALAT (GPT) UI/L	$29,0 \pm 9,8$	$58,7 \pm 5,1$	$75,4 \pm 7,3$	$<0,0001$
ASAT (GOT) UI/L	$23,1 \pm 6,1$	$53,7 \pm 8,6$	$72,2 \pm 13,8$	$<0,0001$
AFP ng/ml	$71,6 \pm 20,8$	$82,5 \pm 13,5$	$234,7 \pm 73,8$	$<0,0001$

Les taux d'ALT normaux sont compris entre 17-59 UI/L. Les taux d'AST normaux sont compris entre 10-50 UI/L. Les taux d'AFP compris entre 0-20 ng/ml sont considérés normaux. HC : Hépatite Chronique ; n : nombre de participant ; ET : Ecart-Type ; UI/L : Unité Internationale/Litre ; ng/ml : nanogramme/millilitre.

III.1.10. Profil cytokinique des participants

Les cytokines suivantes : IL-2 ; IL-4 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IFN α 2 ; IFN γ ; VEGF ; G-CSF ; RANTES ont été quantifiées chez 60 participants tirés au hasard et appartenant respectivement aux trois groupes étudiés. Ces cytokines ont été réparties en cytokines pro-inflammatoires (IL-2 ; IL-12 ; IL-17A ; IL-6 ; IL-15), cytokines anti-inflammatoires (IL-4 ; IL-10), cytokines antivirales (IFN α 2 ; IFN γ), facteurs de croissance (VEGF ; G-CSF) et chimiokines (RANTES).

Globalement, toutes les cytokines analysées avaient des valeurs moyennes au-dessus des valeurs moyennes de références des donneurs volontaires sains. Voir la liste des valeurs de références des cytokines analysées à l'annexe 3 (page 129).

Pour ce qui est des cytokines pro- inflammatoires, elles étaient représentées par : IL-2 ; IL-6 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A. De celles-ci, seules IL-2 et IL-6 ont respectivement montré une différence significative entre les groupes de participants. Pour ce qui est de l'IL-2, les participants atteints d'Hépatite Chronique avaient pour moyenne ($20,0 \pm 6,9$ pg/ml), ceux ayant la Cirrhose du foie avaient ($16,6 \pm 5,9$ pg/ml) et les participants atteints de CHC avaient ($12,9 \pm 4$, pg/ml) ($p < 0,0001$). Pour ce qui est de l'IL-6, les participants atteints d'Hépatite Chronique avaient pour moyenne ($11,2 \pm 1,2$ pg/ml), pour ceux ayant la Cirrhose du foie la moyenne était de ($12,3 \pm 2,7$ pg/ml) et ceux atteints de CHC la moyenne était ($25,0 \pm 3,0$ pg/ml). Le test ANOVA donnait une différence significative ($p < 0,0001$). Voir tableau XV (page 72).

Pour ce qui est des cytokines anti- inflammatoires, elles étaient représentées par : IL-4 et IL-10. Aucune de ces cytokines n'a montré une différence significative lorsque nous comparons les quantités moyennes des trois groupes étudiés. Voir tableau XV (page 72).

Tableau XV : Profil des cytokines pro et anti-inflammatoires des participants

	*Valeurs de références des biomarqueurs	HC (n= 20)	Cirrhose (n= 20)	CHC n= (20)	<i>p-value</i>
Pro-inflammatoires					
IL-2	0,21	20,0±6,9	16,6±5,9	12,9±4,1	<0,0001
IL-12	0,29	94,1±84,9	93,02±130,2	109,4±100,4	0,8
IL-17A	1,36	24,6±4,1	30,8±10,7	42,8±74,9	0,4
IL-6	0,70	11,2±1,2	12,3±2,7	25,0±3,0	<0,0001
IL-15	3,38	27,5±9,1	29,9±8,9	38,4±54,1	0,534
Anti-inflammatoires					
IL-4	0,18	22,2±10,5	24,5±16,3	28,1±15,02	0,4
IL-10	0,90	102,7±80,3	112,1±73,5	118,1±53,5	0,7

HC : Hépatite Chronique ; n : nombre de participant ; *Les valeurs de références chez l'humain pour un échantillon de plasma ; cytokines en pg/ml

Le tableau XVI décrit le profil moyen des cytokines antivirales, chimiokine et facteurs de croissance des participants à l'étude.

Parmi ces biomarqueurs seul le facteur de croissance VEGF a montré une différence statistiquement significative entre les participants. Lorsque nous considérons les facteurs de croissance VEGF le profil des participants montre que cette cytokine augmente au fur et à mesure que nous partons des participants ayant une Hépatite Chronique (168,8±24,2 pg/ml) à ceux ayant un CHC (406,0±72,7 pg/ml) en passant par les participants atteints de Cirrhose du foie 187,3±34,4 pg/ml. La comparaison de ces quantités moyennes nous a permis de constater une différence significative ($p < 0,0001$) entre les différents groupes étudiés. Voir tableau XVI (page 73).

Tableau XVI : Profil des cytokines antivirales, facteurs de croissance et chimiokines des participants

	*Valeurs de références des biomarqueurs	HC (n= 20)	Cirrhose (n= 20)	CHC (n= 20)	<i>p-value</i>
Antivirale					
IFNα_2	0,08	15,8 $\pm$ 6,4	17,6 $\pm$ 8,01	24,6 $\pm$ 35,8	0,3
IFN-γ	1,4	13,3 $\pm$ 1,4	13,5 $\pm$ 0,9	12,9 $\pm$ 1,6	0,4
Growth Factor					
VEGF	48	168,8 $\pm$ 24,2	187,3 $\pm$ 34,4	406,0 $\pm$ 72,7	<0,0001
G-CSF	17	12,8 $\pm$ 2,5	12,9 $\pm$ 2,9	13,1 $\pm$ 1,8	0,9
Chimiokine					
RANTES	NA	88,3 $\pm$ 74,3	126,05 $\pm$ 111,3	120,9 $\pm$ 99,1	0,4

CHC : carcinome hépatocellulaire ; Hépatite Chronique ; n : nombre de participant ; *Les valeurs de références chez l'humain pour un échantillon de plasma ; cytokine en pg/ml ; NA : Non Applicable

III.1.11. Profil des biomarqueurs analysés en fonction des groupes étudiés

❖ Cas des participants atteints d'hépatite Chronique et ceux atteints de Cirrhose du foie

Globalement, tous les biomarqueurs analysés avaient des valeurs moyennes au-dessus des valeurs moyennes de références des donneurs volontaires sains. Voir la liste des valeurs de références des cytokines analysées à l'annexe 3 (129). En comparant, les participants atteints d'Hépatite Chronique au participant atteints de Cirrhose du foie, les biomarqueurs ayant montré une différence significative étaient : l'ARN du VHC ($p=0,07$), L'IL-2 ($P=0,07$), IL-6 ($p=0,01$) et RANTES ($p<0,0001$) pour respectivement les biomarqueurs virologiques, pro-inflammatoire et Chimiokines. Voir tableau XVII (page 75).

Nous pouvons noter que le VEGF et l'AFP qui montraient une différence significative avec le test ANOVA lorsque nous avons comparé les trois groupes ne présentaient plus de différences significatives avec le test t de Student lorsque nous avons comparé les participants atteints d'hépatite chronique et ceux atteints de Cirrhose. Nous notons également que l'ARN du VHC et le RANTES n'étaient pas significatifs avec ANOVA, mais significatif avec le test t de Student entre les participants Chronique et Cirrhose du foie. L'IL-2 et l'IL-6 étaient aussi bien significatif avec ANOVA qu'avec le test t de Student. Pour ce qui est du reste de biomarqueurs analysés à savoir l'ADN du VHB ; l'IFN α 2 ; l'IFN γ ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A, IL-4 ; IL-10, G-CSF ceux-ci n'ont montré aucune différence significative entre les groupes de participants que ce soit avec ANOVA que ce soit avec le test de Student. Voir tableau XVII (page 75).

Tableau XVII : Comparaison des biomarqueurs chez les participants atteints d'hépatite Chronique et ceux atteints de Cirrhose du foie

Biomarqueurs		*Valeurs de référence	Hépatite Chronique	Cirrhose	<i>p-value</i>
Virologiques	ADN VHB	NA	6,3±1,6	5,03±1,9	0,7
	ARN VHC	NA	4,1±1,7	10,4±18,4	0,07
Antivirales	IFNα2	0,02	15,8±6,4	17,6±8,01	0,7
	IFNγ	1,4	13,3±1,4	13,5±0,9	0,1
Pro-inflammatoires	IL-2	0,21	20,0±6,3	16,6±5,9	0,07
	IL-6	0,70	11,2±1,2	12,3±2,7	0,01
	IL-12	0,29	94,1±84,9	93,02±130,2	0,9
Anti-inflammatoires	IL-15	3,38	27,5±9,1	29,9±8,9	0,2
	IL-17A	1,36	24,0±3,8	30,8±10,7	0,6
	IL-4	0,18	22,2±10,5	24,5±16,3	0,4
	IL-10	0,90	102,7±80,3	112,1±73,5	0,8
Facteurs de Croissance	G-CSF	17	12,8±2,5	12,9±2,9	0,2
	VEGF	48	168,8±24,2	187,3±34,3	0,1
Chimiokines	RANTES	NA	88,3±74,3	126,05±111,3	<0,0001
Biochimiques	AFP	0-20	63,6±21,8	88,4±19,2	0,1

*Les valeurs de références chez l'humain pour un échantillon de plasma ; AFP en ng/ml ; cytokine en pg/ ml ; charge virale en Log ; NA : Non Applicable

❖ Cas des participants atteints d'hépatite Chronique et ceux atteints de CHC

Globalement, dans ce cas de figure, tous les biomarqueurs analysés avaient des valeurs moyennes au-dessus des valeurs moyennes de références des donneurs volontaires sains. (Voir la liste des valeurs de références des cytokines analysées à l'annexe 3). En comparant, les participants atteints d'Hépatite Chronique au participant atteints de CHC, les biomarqueurs ayant montré une différence significative étaient : L'IFN α 2 ($p=0,08$), L'IL-2 ($P=0,02$), IL-6 ($p=0,004$), IL-17A ($p=0,04$), VEGF ($p<0,0001$) et l'AFP ($p<0,0001$) pour respectivement les biomarqueurs antivirales, pro-inflammatoire facteur de croissance et biochimique. Voir tableau XVIII (page 77)

Nous constatons que l'IL-17A, a montré une différence significative avec le test t de Student lorsque nous comparons les participants atteints d'Hépatite Chronique et ceux atteints de CHC. Par contre avec ANOVA, cette interleukine n'a montré aucune différence significative entre les trois groupes étudiés. Nous pouvons également noter que, l'IL-2, l'IL-6, le VEGF et l'AFP ont montré une différence significative avec le test ANOVA (les trois groupes étudiés) et avec le test-t de Student lorsque nous avons comparé les participants atteints d'hépatite chronique et ceux atteints de CHC. Par contre l'ARN du VHC et le RANTES qui étaient significatifs avec le test t de Student, en comparant les participants atteints d'hépatite chronique et ceux atteints de Cirrhose du foie pour ces mêmes marqueurs étaient non significatifs avec le test t de Student entre les participants atteints d'Hépatite Chronique et ceux atteints de CHC. Pour ce qui est du reste de biomarqueurs analysés à savoir l'ADN du VHB ; ARN du VHC ; l'IFN α 2 ; l'IFN γ ; IL-12 ; IL-15 ; IL-4 ; IL-10, G-CSF et RANTES, ceux-ci n'ont montré aucune différence significative entre les groupes de participants que ce soit avec ANOVA que ce soit avec le test de Student. Voir tableau XVIII (page 77).

Tableau XVIII : Comparaison des biomarqueurs chez les participants atteints d'hépatite Chronique et ceux atteints de CHC

Biomarqueurs		*Valeurs de référence	Hépatite Chronique	CHC	<i>p-value</i>
Virologiques	ADN VHB	NA	6,3±1,6	6,3±1,9	0,6
	ARN VHC	NA	4,1±1,7	5,1±0,6	0,5
Antivirales	IFNα2	0,02	15,8±6,4	24,6±35,8	0,08
	IFNγ	1,4	13,3±1,4	12,9±1,6	0,5
Pro-inflammatoires	IL-2	0,21	20,0±6,9	12,9±4,1	0,04
	IL-6	0,70	11,2±1,2	25,02±3,09	0,004
	IL-12	0,29	94,1±84,9	109,4±100,4	0,1
	IL-15	3,38	27,5±9,1	38,4±54,1	0,3
	IL-17A	1,36	24,05±3,8	42,8±74,9	0,04
	IL-4	0,18	22,2±10,5	28,1±15,02	0,9
Anti-inflammatoires	IL-10	0,90	102,7±80,3	118,1±53,5	0,5
Facteurs de Croissance	G-CSF	17	12,8±2,5	13,1±1,8	0,4
	VEGF	48	168,8±24,2	406,0±72,7	<0,0001
Chimiokines	RANTES	NA	88,3±74,3	120,9±99,1	0,01
Biochimiques	AFP	0-20	63,6±21,8	226,5±66,4	<0,0001

*Les valeurs de références chez l'humain pour un échantillon de plasma ; AFP en ng/ml ; cytokine en pg/ ml ; charge virale en Log ; NA :Non Applicable

❖ Cas des participants atteints de Cirrhose et ceux atteints de CHC

Globalement, dans ce cas de figure, tous les biomarqueurs analysés avaient des valeurs moyennes au-dessus des valeurs moyennes de références des donneurs volontaires sains. Voir la liste des valeurs de références des cytokines analysées à l'annexe 3 (129). En comparant, les participants atteints de Cirrhose du Foie au participant atteints de CHC, les biomarqueurs ayant montré une différence significative étaient : L'ARN du VHC ($p=0,04$), IL-6 ($p=0,005$), VEGF ($p=0,001$) et l'AFP ($p<0,0001$) pour respectivement les biomarqueurs antivirales, pro-inflammatoire facteur de croissance et biochimique. Voir tableau XIX (page 79).

Nous constatons à nouveau, l'ARN du VHC montrait une différence significative entre les participants atteints de Cirrhose et les participants atteints de CHC avec le test t de Student, alors que ce biomarqueur avec ANOVA n'a pas montré une différence significative entre les trois groupes étudiés. L'IL-6, le VEGF et l'AFP ont montré une différence significative avec le test ANOVA (les trois groupes étudiés) et avec le test-t de Student lorsque nous avons comparé les participants atteints de Cirrhose du foie et ceux atteints de CHC. Pour ce qui est du reste de biomarqueurs analysés à savoir l'ADN du VHB ; l'IFN α 2 ; l'IFN γ ; IL-2 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IL-4 ; IL-10, G-CSF et RANTES, ceux-ci n'ont montré aucune différence significative entre les groupes de participants que ce soit avec ANOVA que ce soit avec le test de Student. Voir tableau XIX (page 79).

En définitive les tests ANOVA pour les trois groupes étudiés et le test t de Student pour comparer les groupes deux à deux ont révélé que les biomarqueurs suivants : l'ARN du VHC, l'IL-2, l'IL-6, l'IL-17A, l'IFN α 2, le RANTES, le VEGF et l'AFP ont présenté une différence significative avec au moins l'un des deux tests effectués pour établir le profil des participants à notre étude.

Tableau XIX : Comparaison des biomarqueurs chez les participants atteints de Cirrhose et ceux atteints de CHC

Biomarqueurs		*Valeurs de références	Cirrhose	CHC	<i>p-value</i>
Virologiques	ADN VHB	NA	5,03±1,9	6,3±1,9	0,9
	ARN VHC	NA	10,4±18,4	5,1±0,6	0,04
Antivirales	IFNα2	0,02	17,6±8,01	24,6±35,4	0,1
	IFNγ	1,4	13,5±0,9	12,9±1,6	0,5
Pro-inflammatoires	IL-2	0,21	16,6±5,9	12,9±4,1	0,5
	IL-6	0,70	12,3±2,7	25,02±3,09	0,05
	IL-12	0,29	93,02±130,2	109,4±100,4	0,4
	IL-15	3,38	29,9±8,9	38,4±54,1	0,7
	IL-17A	1,36	30,8±10,7	42,8±74,9	0,7
	IL-4	0,18	24,5±16,3	28,1±15,02	0,6
Anti-inflammatoires	IL-10	0,90	112,1±73,5	118,1±53,5	0,2
	G-CSF	17	12,9±2,9	13,1±1,8	0,2
Facteurs de Croissance	VEGF	48	187,3±34,3	406,0±72,7	0,001
Chimiokines	RANTES	NA	126,05±111,3	120,9±99,1	0,8
Biochimiques	AFP	0-20	88,4±19,2	226,5±66,4	<0,0001

*Les valeurs de références chez l'humain pour un échantillon de plasma ; AFP en ng/ml ; cytokine en pg/ ml ; charge virale en Log ; NA : Non Applicable

III.1.12. Profil cytokinique des participants en fonction des caractéristiques sociodémographiques et cliniques

L'ensemble des 12 cytokines a été comparé chez les trois groupes étudiés en fonction des caractéristiques sociodémographiques et cliniques. Seuls les résultats significatifs ont été consignés dans le tableau XX pour les caractéristiques sociodémographiques et le tableau XXI pour les caractéristiques cliniques (page 81).

De tous les caractéristiques sociodémographiques et cliniques étudiées, seules les caractéristiques sexe, statut matrimoniale, tatouage, consommation d'alcool et transfusion sanguine ont montré une différence significative entre les modalités comparées.

Lorsque nous considérons la caractéristique sexe, les cytokines IFN α 2, IL-12 et l'AFP ont montré une respectivement une différence significative de ($p=0,027$) ; ($p= 0,056$) et ($p= 0,093$) entre les femmes et les hommes. En considérant le statut matrimonial, l'IFN γ est la seule des analytes qui a présenté une différence significative ($p= 0,092$) entre les mariés, les célibataires, et les veuf (ve)s. Pour ce qui est des participants qui se sont préalablement exposés aux tatouages, 03 analytes se sont distingués par une différence significative à savoir IFN γ ($p=0,061$), IL17A ($p=0,028$) et L'AFP ($p=0,085$). En considérant la caractéristique consommation d'alcool, seule, la G-CSF a montré une différence significative ($p=0,043$) entre les consommateurs d'alcool et les non consommateurs. Enfin pour des patients exposés aux transfusions sanguines, les cytokines IL-17A et IL-2 ont montré respectivement une différence significative ($p=0,064$) et ($p=0,071$) entre les participants qui avaient reçu la transfusion et ceux n'ayant reçu aucune transfusion. Voir tableaux XX et XXI (page 81).

Tableau XX : Profil cytokinique en fonction des caractéristiques sociodémographiques

Variables	Sexe			Statut Matrimoniale			p
	Femme n=11	Homme n=49	p	Marié n=36	Célibataire n=16	Veuf (ves) n=8	
IFNα2	29,1 $\pm$ 44,5	14,9 $\pm$ 3,5	0,027	-	-	-	NA
IFNγ	ID	ID	NA	13,0 $\pm$ 1,3	13,9 $\pm$ 1,2	13,1 $\pm$ 1,4	0,092
IL-12	28,0 $\pm$ 34,0	17,5 $\pm$ 8,2	0,056	-	-	-	NA
AFP	162,1 $\pm$ 99,8	116,4 $\pm$ 75,1	0,093	-	-	-	NA

ID : Indéterminé ; NA : Non Applicable

Tableau XXI : Profil cytokinique en fonction des caractéristiques cliniques

Variables	Tatouage			Consommation Alcool			Transfusion Sanguine		
	Non n=51	Oui n= 9	p	Non n=41	Oui n=19	p	Non n=57	Oui n=3	p
G-CSF	ID	ID	NA	12,5 $\pm$ 2,5	13,9 $\pm$ 1,9	0,043	-	-	NA
IFNγ	13,1 $\pm$ 1,3	14,0 $\pm$ 0,8	0,061	-	-	NA	-	-	NA
IL-17A	24,1 $\pm$ 3,9	20,8 $\pm$ 4,2	0,028	-	-	NA	23,9 $\pm$ 4,0	19,3 $\pm$ 4,0	0,064
AFP	132,4 $\pm$ 84,0	81,8 $\pm$ 45,9	0,085	-	-	NA	ID	ID	NA
IL-2	-	-	NA	-	-	NA	16,2 $\pm$ 6,1	22,8 $\pm$ 4,1	0,071

- : 0 ; NA : Non Applicable

III.1.13. Profil cytokinique des participants en fonction des traitements

L'ensemble des 12 cytokines a été comparé chez les trois groupes étudiés en fonction des traitements administrés. Seul le traitement contre le VHC ayant montré les résultats significatifs a été consigné dans le tableau XXII (page 82).

Les traitements administrés aux participants atteints de VHC (Sofosbuvir + ribavirine ; Sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha ; Sofosbuvir +ledispavir) ont fait varier significativement IL-2 ($p=0,08$) et le VEGF ($p=0,01$). En effet, sofosbuvir est un inhibiteur génotypique de l'ARN polymérase ARN-dépendante NS5B du VHC. Ribavirine grâce à son action mutagène empêche la réplication du VHC. Ledispavir est un inhibiteur du VHC ciblant la protéine NS5A du VHC, qui est essentielle pour la réplication de l'ARN et l'assemblage des virions du VHC. Quant à l'interféron pégylé alpha, il exerce ses effets antiviraux en induisant une résistance cellulaire aux infections virales et en modulant les effecteurs du système immunitaire de façon à neutraliser les virus ou éliminer les cellules infectées par le virus. C'est probablement cette molécule qui a permis d'obtenir des valeurs significatives de l'IL-2 et VEGF. Voir tableau XXII (page 82).

Les traitements administrés aux participants atteints de VHB (Lamivudine ; Tenofovir ; Tenofovir + Emtricitabine) n'ont fait varier significativement aucune des 12 cytokines analysées.

Tableau XXII : Profil cytokinique des participants en fonction des traitements

	Traitements VHC			p-value
	Sofosbuvir + ribavirine n= 12	Sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha n=6	Sofosbuvir +ledispavir n=12	
IL-2	13,9±7,3	19,8±8,2	20,5 ± 6,9	0,08
VEGF	325,9±132,2	203,5±101,07	195,1± 69,3	0,01

III.1.14. Corrélations entre différents biomarqueurs cytokiniques, virologiques et biochimiques

Nous avons présenté ici uniquement les corrélations entre les biomarqueurs ayant montré une différence significative chez les différents groupes étudiés. Nous avons effectué les corrélations entre les différents biomarqueurs analysés chez les trois groupes de participants étudiés.

À partir des matrices de corrélations, nous avons observé une corrélation positive forte ($r = 0,5$), significative ($p = 0,04$) entre $\text{IFN}\gamma$ et le VEGF chez les participants atteints d'hépatite chronique. Chez les participants atteints de Cirrhose de foie, nous avons observé une corrélation négative forte ($r = -0,6$), significative ($p = 0,04$) entre l'ADN du VHB et le VEGF. Lorsque nous considérons les participants atteints de CHC, nous avons observé une corrélation négative forte ($r = -0,7$), significative ($p = 0,012$) entre l'ADN du VHB et l'IL-2. En considérant simultanément les trois groupes étudiés, nous avons observé une corrélation positive faible ($r = 0,3$), significative ($p = 0,02$) entre l'IL-6 et VEGF. Voir tableau XXIII ci-dessous.

Tableau XXIII : corrélation des différentes biomarqueurs étudiés

Groupes étudiés	Cytokines	IL-2 r (p-value)	VEGF r (p-value)
Hépatite chronique	$\text{IFN}\gamma$ (pg/ml)	-	0,5* (0,04)
Cirrhose	ADN VHB (log)	-	-0,6* (0,04)
CHC	ADN VHB (log)	-0,7* (0,012)	-
Les trois groupes	IL-6 (pg/ml)	-	0,3* (0,02)

*. La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral). Le coefficient de corrélation (r) varie entre -1 et +1 ; 0 reflétant une relation nulle entre les deux variables, une valeur négative (corrélation négative) signifiant que lorsqu'une des variables augmentent, l'autre diminue ; tandis qu'une valeur positive (corrélation positive) indique que les deux variables varient ensemble dans le même sens. - : pas de corrélation.

III.1.15. Performances diagnostiques des biomarqueurs

Les participants atteints d'hépatite chronique et Cirrhose étaient des témoins et les participants atteints de CHC les cas

Nous avons utilisé la courbe ROC (*Receiver Operator Characteristic Curve*) pour déterminer la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), Valeurs Prédictives Positives (VPP), Valeurs Prédictives Négatives (VPN) et valeurs seuils des biomarqueurs. Seuls les biomarqueurs suivants (IFN γ ; ADN du HBV ; IL6 ; VEGF) ont été analysés ici et comparés à l'AFP (considérée ici comme Gold standard). La droite diagonale est le model de classification aléatoire (indice de performance du model). Les courbes qui se trouvent au-dessus du model ont un bon indice de performance. Graphiquement, nous observons que l'ADN VHB, l'IL-6, l'AFP et le VEGF ont un bon indice de performance car se trouvent toutes au-dessus de l'indice de performance du model qui vaut 0,5. Voir la figure 23 ci-dessous.

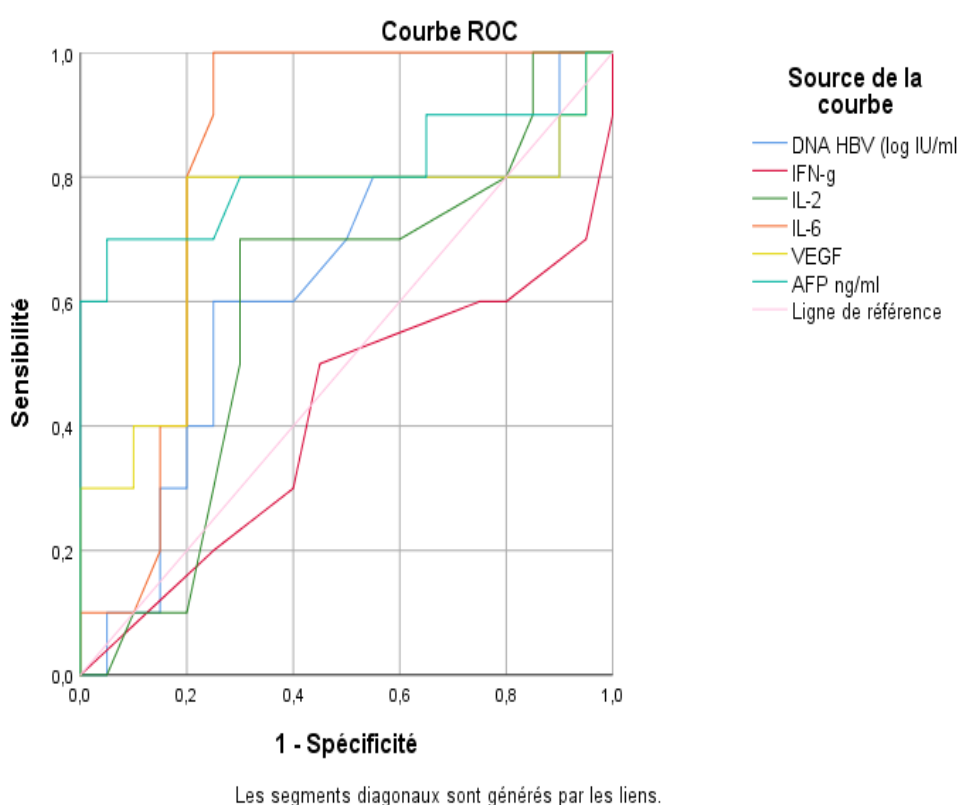


Figure 23 : courbes ROC de l'IFN γ ; ADN VHB ; IL2 ; IL6 ; VEGF et AFP (Hépatite chronique et Cirrhose sont des témoins)

Le tableau XXIV (page 86) présente la comparaison des différents indices de performances des différents biomarqueurs analysés par la courbe ROC. Globalement, l'AFP, l'IL-6 et le VEGF avaient de bons indices de performances. Le VEGF avait pour zone d'en dessous de la courbe (ZEC) ($ZEC=0,7$; $p=0,048$), et à un seuil de 200 pg/ml, les caractéristiques intrinsèques étaient une sensibilité ($Se=80\%$) et une spécificité ($Sp=70\%$), comme caractéristiques extrinsèques Valeur Prédictive Positive ($VPP=55,6\%$) et une Valeur Prédictive Négative ($VPN=84,8\%$). Les indices de performances de l'AFP et l'IL-6 étaient équivalentes avec respectivement ($ZEC=0,8$; $ZEC=0,8$; et $p=0,004$; $p=0,007$). Particulièrement, l'AFP a montré comme caractéristiques intrinsèques, la sensibilité et la spécificité ($Se=80\%$; $Sp=35\%$) et comme caractéristiques extrinsèques, la VPP et la VPN respectivement ($VPP=66,7\%$ et $VPN=88,9\%$) pour un seuil de 100 ng/ml. Tandis que l'IL-6 a montré comme caractéristiques intrinsèques, ($Se=60\%$ et $Sp=80\%$), et comme caractéristiques extrinsèques, la VPP et la VPN respectivement ($VPP=66,7\%$ et $VPN=88,9\%$) pour un seuil de 25 pg/ml. La comparaison des différents performances diagnostiques entre les différents biomarqueurs qui ont présenté un bon indice de performance par le test de khi deux, n'a montré aucune différence significative. Voir tableau XXIV (page 86).

Tableau XXIV : Indices de performance des différents biomarqueurs

Variable(s) de résultats tests	Seuils	Se%	Sp%	VPP%	VPN%	VP	VN	Zone sous la courbe			
								Zone	ES	IC à 95 %	<i>p-value</i>
ADN (log)	-	-	-	-	-	-	-	0,6	0,1	[0,3-0,8]	0,3
IFNγ pg/ml	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,1	[0,1-0,6]	0,4
IL-2 pg/ml	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,1	[0,3-0,8]	0,4
AFP ng/ml	100	80	35	66,7	88,9	16	32	0,8	0,07	[0,6-1,0]	0,007
IL-6 pg/ml	25	60	80	66,7	88,9	16	32	0,8	0,1	[0,6-0,9]	0,004
VEGF pg/ml	200	80	70	55,6	84,8	15	28	0,72	0,1	[0,4-0,9]	0,048
Test de khi 2	NA	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	NA			

ES : Erreur standard ; IC : Intervalle de confiance ; Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; NA :

Non Applicable. Le test de Khi 2 a été appliqué pour comparer les performances diagnostiques, -: 0

III.1.16. Validation du modèle de prévision des performances diagnostiques des biomarqueurs chez les individus atteints d'hépatopathies chroniques.

Pour la validation de notre modèle, nous avons exclu de l'analyse, tous les participants atteints de CHC, Puis nous avons considéré

- D'une part les groupes des participants atteints d'Hépatite Chronique et Cirrhose du foie, les participants atteints d'Hépatite Chronique étaient les témoins et pour participants atteints de Cirrhose du foie, nous les avons attribués le facteur Cas afin d'appliqué sur les participants atteints d'Hépatite Chronique le modèle de prévision.
- D'autre part, nous avons considéré uniquement les participants atteints d'Hépatite Chronique, chez ceux-ci, nous avons choisi aléatoirement 10 participants sur les 20 participants que comptait ce groupe. Nous avons attribué le facteur Cas, aux patients choisis aléatoirement puis nous avons déterminer les performances du modèle de prévision.
- L'AFP était considéré comme gold standard dans tous les cas de figure.

Les résultats sont présentés par la figure 24 page 88 et la figure 25 page 91 et les tableaux XXV page 90 et XXVI page 93

❖ **Cas de figure où les participants atteints de cirrhose du foie sont considérés comme des cas**

Nous avons considéré les participants atteints Cirrhose comme des cas et les participants atteints d'Hépatite Chronique étaient les témoins. Les seuils sont ceux déterminés précédemment.

Graphiquement, nous observons que l'IL-6, l'AFP et le VEGF ont respectivement un indice de performance au-dessus de l'indice de performance du model (Figure 24).

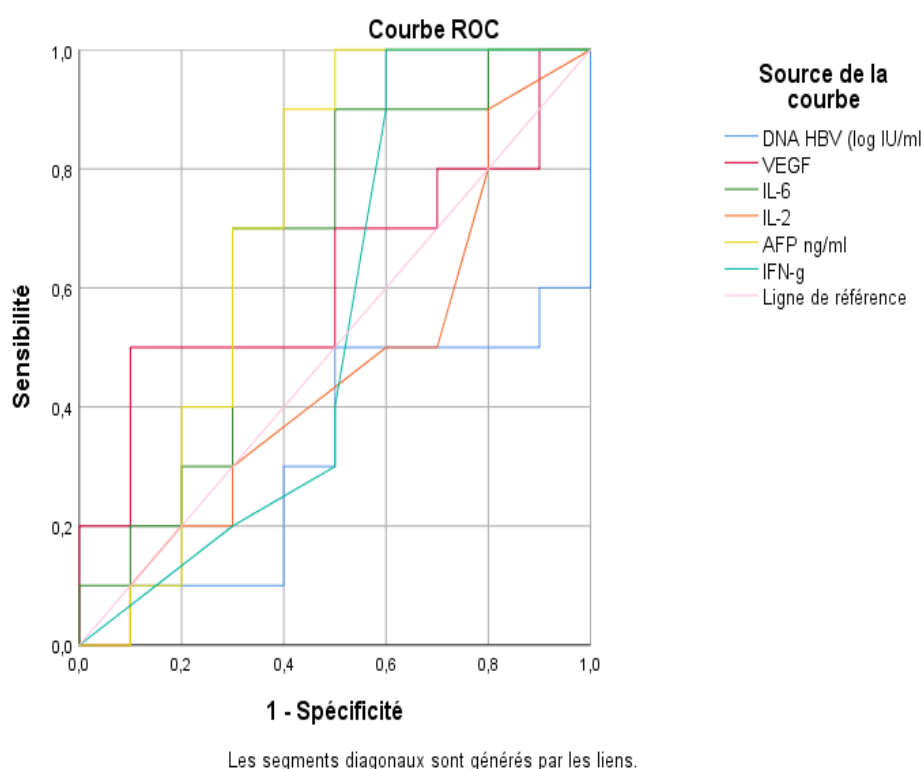


Figure 24 : courbes ROC de l'IFN γ ; ADN VHB ; IL2 ; IL6 ; VEGF et AFP (Cirrhose sont des cas)

Le tableau XXV (page 90) présente la comparaison des différents indices de performances des différents biomarqueurs analysés par la courbe ROC. Globalement, l'indice de performance de l'AFP, l'IL-6 et le VEGF n'ont pas varié significativement respectivement ($p=0,7$; $p=0,1$ et $p=0,7$). Les zones d'en dessous de la courbe (ZEC) étaient respectivement de ($ZEC=0,7$; $ZEC=0,6$ et $ZEC=0,6$) pour l'AFP, l'IL-6 et le VEGF. Celles-ci étaient toutes supérieures à 0,5. À un seuil de 200 pg/ml, le VEGF avait comme caractéristiques intrinsèques, une $Se=50\%$ et une $Sp=90\%$; et comme caractéristiques extrinsèques, une $VPP=57,1\%$ et une $VPN=66,7\%$. À un seuil de 25 pg/ml, l'IL-6 avait comme caractéristiques intrinsèques, une $Se=20\%$ et une $Sp=90\%$; et comme caractéristiques extrinsèques une $VPP=50,0\%$ et une $VPN=50,0\%$. À un seuil de 100 ng/ml, l'AFP avait comme caractéristiques intrinsèques, une $Se=10\%$ et une $Sp=80\%$; et comme caractéristiques extrinsèques, une $VPP=82,4\%$ et une $VPN=73,9\%$. Voir tableau XXV (page 90).

La comparaison des différents performances diagnostiques entre les différents biomarqueurs qui ont présenté un bon indice de performance par le test de khi deux, n'a montré aucune différence significative voir tableau XXV (page 90).

Tableau XXV : Indices de performance des différents biomarqueurs cas de figure ou les participants Cirrhose sont des cas

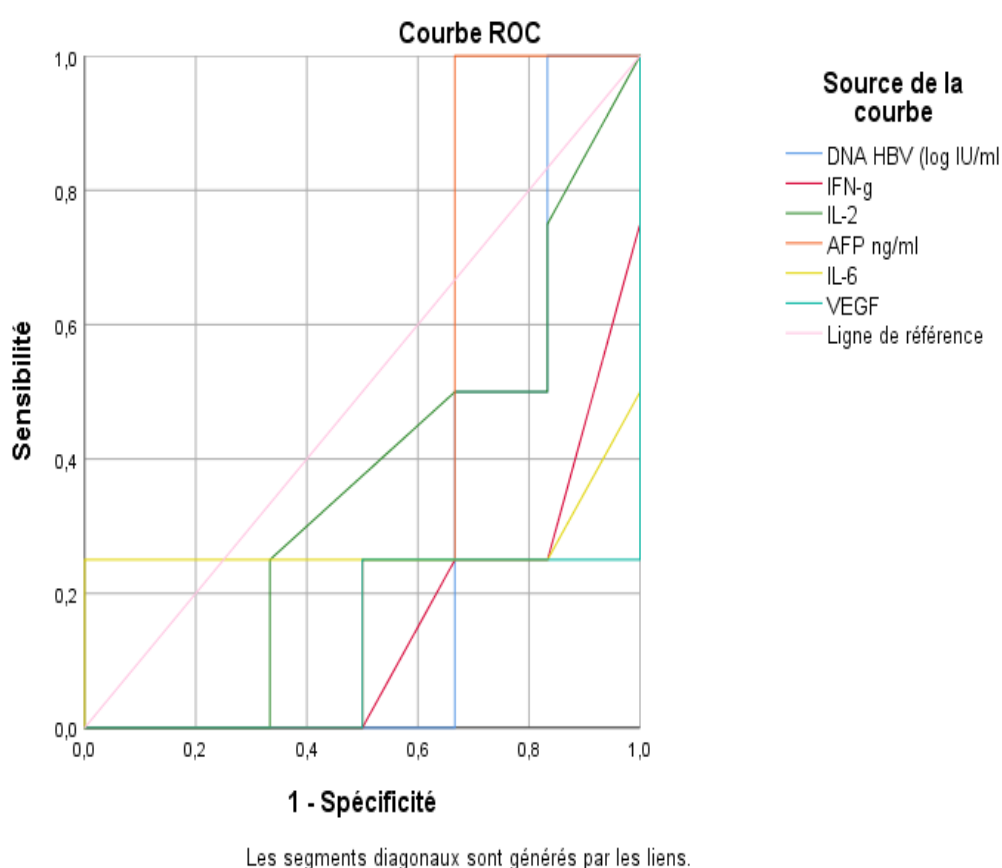
	Seuils	Se%	Sp%	VPP%	VPN%	VP	VN	Zone sous la courbe			
Variable(s) de résultats tests								Zone	ES	IC à 95 %	p-value
ADN VHB (log)	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,1	[0,07-0,5]	0,1
IFN γ pg/ml	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,1	[0,2-0,8]	0,3
IL-2 pg/ml	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,1	[0,1-0,7]	0,1
AFP ng/ml	100	10	80	82,4	73,9	14	17	0,7	0,1	[0,4-0,9]	0,7
IL-6 pg/ml	25	20	90	50,0	50,0	17	3	0,6	0,1	[0,4-0,9]	0,1
VEGF pg/ml	200	50	90	57,1	66,7	16	8	0,6	0,1	[0,3-0,8]	0,7
Khi 2	NA	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1			NA	

ES : Erreur standard ; IC : Intervalle de confiance ; Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; NA : Non Applicable. Le test de Khi 2 a été appliqué pour comparer les performances diagnostiques, - : 0

❖ **Cas de figure où les participants atteints d'hépatite chronique choisis aléatoirement ont été considérés comme des cas**

Nous avons considéré les participants atteints d'hépatite chronique choisis aléatoirement comme des cas. Les seuils sont ceux déterminés précédemment.

Graphiquement, nous observons que toutes les courbes avaient un indice de performance en-dessous de l'indice de performance du model. Voir figure 25 ci-dessous.



**Figure 25 : courbes ROC de l'IFN γ ; DNA HBV ; IL2 ; IL6 ; VEGF et AFP
(Hépatite chronique choisis aléatoire sont des cas)**

Le tableau XXVI (page 93) présente la comparaison des différents indices de performances des différents biomarqueurs analysés par la courbe ROC. Globalement, l'indice de performance de l'AFP, l'IL-6 et le VEGF n'ont pas varié significativement respectivement ($p=0,5$; $p=0,2$ et $p=0,5$). Les zones d'en dessous de la courbe (ZEC) étaient respectivement de (ZEC=0,3 ; ZEC=0,2 et ZEC=0,1) pour l'AFP, l'IL-6 et le VEGF. Celles-ci étaient toutes inférieure à 0,5. À un seuil de 200 pg/ml, le VEGF avait comme caractéristiques intrinsèques, une Se=00%, une Sp=67% ; et comme caractéristiques extrinsèques, une VPP=50,0% et une VPN=50,0%. À un seuil de 25 pg/ml, l'IL-6 avait comme caractéristiques intrinsèques, une Se=25%, une Sp=100% ; et comme caractéristiques extrinsèques, une VPP=52,9% et une VPN=66,7%. À un seuil de 100 ng/ml, l'AFP avait comme caractéristiques intrinsèques, une Se=00%, une Sp=66,7% ; et comme caractéristiques extrinsèques VPP=42,9% et une VPN=33,3%. Voir tableau XXVI (page 93).

La comparaison des différents performances diagnostiques entre les différents biomarqueurs qui ont présenté un bon indice de performance par le test de khi deux, n'a montré aucune différence significative voir tableau XXVI page 93.

Tableau XXVI : Indices de performance des différents biomarqueurs où les participants Hépatite chronique choisis aléatoirement sont des cas

Variable(s) de résultats tests	Seuils	Se%	Sp%	VPP%	VPN%	VP	VN	Zone sous la courbe			
								Zone	ES	IC à 95 %	p-valeur
ADN VHB (log)	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,1	[0,0-0,5]	0,2
IFNγ pg/ml	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	[0,0-0,3]	0,7
IL-2 pg/ml	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,1	[0,0-0,7]	0,4
AFP ng/ml	100	00	66,7	42,9	33,3	6	2	0,3	0,1	[0,0-0,7]	0,5
IL-6 pg/ml	25	25	100	52,9	66,7	9	2	0,2	0,2	[0,0-0,6]	0,2
VEGF pg/ml	200	00	67	50,0	50,0	8	2	0,1	0,1	[0,0-0,3]	0,5
Khi 2	NA	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	NA _{cte}			NA	

ES : Erreur standard ; IC : Intervalle de confiance ; Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; NA : Non Applicable. Le test de Khi 2 a été appliqué pour comparer les performances diagnostiques. Cte : constante ; - : 0.

III.2. Discussion

III.2.1. Association entre VHB, VHC et développement du CHC

Cette partie présente un aperçu quantitatif de la contribution relative du VHB, et du VHC dans le développement du CHC. Comme prévu, les marqueurs du VHB et du VHC ont contribué de manière significative au développement du CHC chez des témoins. Pour le VHB, l'AgHBs étaient associés à un risque accru de développer un CHC respectivement chez des témoins atteints d'une maladie non hépatique et chez les témoins apparemment sains. Pour le VHC, Les Ac-antiVHC et l'ARN du VHC étaient associés à un risque accru de développer un CHC chez les témoins. Tandis que la co-infection ADN du VHB et/l'ARN du VHC étaient associés à un risque accru de développer un CHC chez les témoins atteints d'une maladie non hépatique. Nos résultats ont aussi montré que les biomarqueurs, tels que l'AgHBe et l'ADN du VHB, qui évaluent l'infectiosité virale, présentaient un risque élevé de CHC.

En effet, une élévation de l'ADN sérique du VHB indépendamment de l'AgHBe du VHB montre l'activité de la maladie hépatique. Les patients avec une charge virale détectable devraient faire l'objet d'une surveillance stricte, pour espérer détecter très tôt le CHC. Il en est de même des patients porteurs à la fois les biomarqueurs de réplication et de la transmission actives du VHB respectivement l'AgHBe et l'AgHBs. Notre étude a montré que ces marqueurs présentaient un risque fortement élevé de CHC chez les témoins. Nos résultats sont en conformité avec les données de la littérature, mais aussi des études récentes faites dans d'autres contextes (**An *et al.*, 2020 ; Li & Lan, 2016 ; Thi Vo *et al.*, 2019**). Nous avons également rapporté que les patients anticorps anti-VHC/ARN du VHC présentaient un risque accru de CHC ceci pourrait être due à l'augmentation de l'abus de drogues par voie intraveineuse dans la société, ce qui devrait augmenter l'incidence du CHC lié au VHC au cours des prochaines décennies (**Li & Lan, 2016 ; Thi Vo *et al.*, 2019**).

Nos résultats sont cependant très robustes en raison du niveau de confiance pour les résultats car nous avons fait une analyse de sensibilité ne comprenant que des études comparables pour les principaux facteurs de confusion. En plus de cela, un large éventail de marqueurs du VHB, du VHC a été considéré dans notre étude. Ces résultats ont été confirmés en tenant compte de plusieurs facteurs de confusion pour le risque de développer un CHC tels que les pesticides, l'aflatoxine B1, l'alcool, le tabagisme, d'autres comorbidités, le contexte géographique, le mode d'alimentation, le sexe et l'âge. Des associations significatives ont été

observées dans tous les sous-groupes de l'AgHBs, de l'ADN du VHB, des marqueurs anti-VHC avec des témoins apparemment sains et ceux avec une maladie non hépatique. Le risque élevé de CHC associé aux marqueurs du VHB, du VHC et de la coinfection VHB/VHC observé au cours de cette étude est cohérent avec les données de la littérature menées aux niveaux mondial, régional et national (**An et al., 2020 ; Li & Lan, 2016 ; Thi Vo et al., 2019**).

En raison de l'absence de données de biologie moléculaire du VHB et du VHC, nous n'avons pas évalué le rôle joué par, la charge virale, les mutations, les génotypes et la thérapie antivirale sur le risque de développement du CHC (**An et al., 2020**). Nos résultats sont cependant très robustes en raison de l'absence de biais de publication. Le faciès des virus hépatiques circulant en Afrique étant spécifique à la fois à certains génotypes et des mutations potentielles, des études longitudinales prospectives sont nécessaires pour déterminer le rôle de ces paramètres en tant que biomarqueurs pour le diagnostic précoce du risque d'évolution vers le CHC (**Spearman & Sonderup, 2015**).

Bien que la vaccination soit efficace pour réduire l'incidence des maladies chroniques dans les pays à forte prévalence, l'effet sur l'incidence des maladies hépatiques ne se fera pas sentir avant plusieurs décennies dans le cas où les politiques de vaccination sont bien implémentées sur le terrain. Pour prévenir les complications potentiellement mortelles de la cirrhose, de l'insuffisance hépatique et du CHC, l'identification des personnes infectées par le VHB ou VHC est essentielle pour évaluer la nécessité d'un traitement et la fréquence appropriée du suivi. Cette identification est difficile car l'hépatite B ou C chronique est une maladie asymptomatique, qui ne se présente que lorsque des complications surviennent. En ce qui concerne l'hépatite C, les politiques publiques devraient mettre sur pied des moyens matériels et financiers pour promouvoir la recherche sur le développement d'un vaccin jusqu'à ce jour indisponible dans notre contexte, mais aussi, favoriser la recherche sur les nouvelles molécules à visée curative qui seront développées et conditionnées dans notre contexte.

III.2.2. Profil des marqueurs virologiques

Sur les 227 échantillons testés, 97 échantillons ont été positifs au VHB par immunochromatographie parmi eux, seuls 69 échantillons ont été positifs au VHB avec ELISA, soient 37/65 (56,9%), 19/19 (100,0%), 13/13 (100,0%) pour respectivement les échantillons des participants atteints d'hépatites chronique (HC), de Cirrhose et de CHC ($P < 0,0001$). Tandis que 69 échantillons ont été positifs au VHC par immunochromatographie parmi eux, seuls 44 échantillons ont été positifs au VHC avec ELISA, soient 19/37 (51,3%) ; 14/19 (73,7%) ; 11/13 (84,6%) pour respectivement les échantillons des participants atteints d'hépatite, de Cirrhose et de CHC ($P < 0,0001$). En effet, ces résultats peuvent se justifier par le fait que nous avons uniquement considéré comme positifs à l'ELISA, tous les échantillons dont le ratio était > 1 . Ce qui a conduit à la séroprévalence globale de l'AgHBs à 37/163 (22,7%) ; 19/38 (50,0%) ; 13/26 (50,0%) respectivement pour les participants atteints d'hépatite chronique, cirrhose et CHC. Pour l'Ac anti-VHC/AgVHC la séroprévalence était de 19/163 (11,7%) ; 14/38 (36,8%) ; 11/26 (42,3%) respectivement pour les participants atteints d'hépatite chronique, cirrhose et CHC. En fonction des trois groupes étudiés, le groupe hépatite chronique (HC) était majoritaire avec respectivement 37 participants atteints du VHB et 19 participants atteint du VHC. Mais le groupe CHC avait la moyenne d'âge la plus élevée avec respectivement $65,08 \pm 39$ ans pour ceux atteints de VHB et $65,8 \pm 4,2$ ans pour ceux atteints de VHC, un *sex-ratio* de 1,9 au détriment des femmes et une prédominance de CHC dans la tranche 60-69 ans. Nos résultats sont similaires à ceux rapportées dans des études antérieures menées sur des participants atteints de maladies du foie et CHC au Cameroun et dans certains pays Africains. En effet, les prévalences assez alarmantes du VHB et VHC, l'âge supérieur à 40 ans, le sexe masculin, les antécédents d'exposition tel que l'alcool, l'exposition chirurgicale, les transfusions, l'absence de prise du vaccin etc... ont été pour la plupart des facteurs de risques associés à une prévalence élevée du VHB ou au VHC chez les participants atteints de maladie hépatique au Cameroun, Gabon, Gambie, Nigéria et l'Afrique du Nord (**Amougou et al., 2016; Andoulo et al., 2013, 2014; Bahri et al., 2011; Echejoh et al., 2008; Mboto et al., 2005; Perret et al., 2002**). Ces prévalences sont certes élevées mais suggèrent aussi une implication significative des facteurs de risque non viraux dans le développement du CHC dans notre contexte. Ce qui est en droite ligne avec les cas de CHC dans de nombreux pays africains et asiatiques, associés à une exposition chronique à l'aflatoxine B1, la consommation de l'alcool, les maladies telle que le Diabète etc... (**Elhendawy et al., 2020 ; Amougou et al., 2016 ; Yuen et al., 2016 ; Acharya, 2014**).

En effet, le cancer du foie est plus fréquent chez l'homme que chez la femme. Les VHB et VHC sont aussi connus comme étant des facteurs de risque majeur de survenu du CHC car on estime respectivement à 50-80% et à 10-25% le risque de survenu de CHC chez les personnes VHB et VHC dans le monde (**Ferlay et al., 2019**). La carcinogenèse associée au VHB ou VHC est un processus multifactoriel impliquant des effets directs des protéines virales, des mécanismes indirects via l'inflammation chronique, l'évasion immunitaire, et la réplication virale dans les hépatocytes. Ce qui contribue à l'apparition précoce de certains cas de CHC qui surviennent relativement tôt dans l'évolution de la maladie, avant le développement d'une cirrhose à la suite un effet oncogène direct du VHB ou du VHC (**Coffie et al., 2017 ; Yuen et al., 2016 ; Acharya, 2014**). Mais le manque de tests de diagnostic viraux peu onéreux, adaptés aux pays à ressources limitées tel que le Cameroun et accessibles à tous, représente un obstacle à la mise en œuvre du diagnostic précoce du CHC et conséquemment l'accès au traitement. Les risques de développer une cirrhose et un CHC augmentent avec l'augmentation des taux d'ADN du VHB et ARN du VHC, en particulier lorsque ces taux sont supérieurs à 2 000 UI/ml. Tous les participants des trois groupes étudiés (hépatite Chronique, Cirrhose et CHC) avaient une charge virale supérieure à 2 000 UI/ml dans notre étude. La charge virale est un marqueur important de la progression des hépatopathies chroniques du foie, sa suppression constitue un critère d'évaluation utile pour le traitement des maladies du foie associées aux virus des hépatites. Le traitement cible de la réplication virale a donc pour conséquence la diminution de la nécrose inflammatoire du foie qui se manifeste par la régression de la progression des hépatopathies du foie et CHC. La diminution de la nécrose inflammatoire du foie peut donc être évaluée à l'aide des cytokines pro/anti-inflammatoires qui peuvent compléter les examens de charge virale qui sont beaucoup plus recommandés dans l'évaluation de la réplication virale (**Spearman et al., 2017**). Tous les participants analysés ici étaient soit à la 12^{ème} semaine de traitement (VHC), soit à la 24^{ème} semaine de traitement (VHB), tous nos participants avaient une charge virale détectable. En effet, toutes les recommandations s'accordent sur la nécessité de traiter au-dessus d'un seuil de 2000 UI/mL, il existe une certaine divergence dans les recommandations de traitement entre 2 000 et 20 000 UI/mL (**AASLD-IDSA, 2015 ; NICE Guidance, 2017 ; World Health Organization, 2015**). L'Association américaine pour l'étude des maladies du foie recommande d'initier un traitement antiviral chez les adultes non enceintes atteintes d'un VHB chronique mais sans cirrhose sur la base d'une charge virale supérieure à 2 000 UI/ml ou supérieur à 20 000 UI/ml chez les patientes présentant soit une augmentation d'ALAT, soit une maladie histologique (**AASLD-IDSA, 2015**).

L'Association européenne pour l'étude du foie et les dernières directives de l'OMS s'accordent à initier le traitement à une charge virale supérieure à 2000 UI/ml chez les patients sans cirrhose (**EASL, 2017 ; World Health Organization, 2017**). En ce qui concerne la charge virale du VHC la nouvelle génération de tests quantitatifs et qualitatifs montre que 95 % des personnes atteintes d'une infection chronique ont une charge virale > 10 000 UI/mL (**Cohn et al., 2015 ; Greenman et al., 2015**). Nous avons évalué la réponse au traitement antiviral à action directe (AAD) du VHC dans notre étude. Cependant, comme le test de guérison recommandé est l'obtention d'une réponse virologique soutenue après 12 semaines (ou 24 semaines), des études précédentes suggèrent que les patients qui échouent aux AAD (Antiviraux à Action Directe) ont des charges virales élevées 12 ou 24 semaines à la fin du traitement (**Cohn et al., 2015 ; Greenman et al., 2015 ; Lange et al., 2017 ; World Health Organization, 2015, 2017**). Ce résultat a été confirmé avec les charges virales détectables des participants à notre étude.

III.2.3. Profil des marqueurs biochimiques

Globalement, les participants ayant un CHC présentaient des taux de ALAT, ASAT et AFP ($73,6 \pm 15,4$ UI/L ; $73,5 \pm 11,8$ UI/L et $226,5 \pm 66,4$ ng/ml) plus élevés dans les trois groupes étudiés. Il en est de même, lorsque nous avons considéré les groupes étudiés en fonction du VHB et VHC. En effet, lorsque nous avons considéré VHB, le groupe des participants CHC avaient les ALAT, ASAT et AFP les plus élevés avec respectivement $76,9 \pm 10,1$ UI/L ; $73,7 \pm 11,2$ UI/L ; $218,3 \pm 60,9$ ng/ml par rapport aux participants atteints d'hépatite chronique et Cirrhose ($P < 0,0001$). Il en était de même lorsque nous avons considéré les groupes en fonction du VHC. Il en ressort donc que, le groupe des participants CHC avaient les ALAT, ASAT et AFP les plus élevées avec respectivement $75,4 \pm 7,3$ UI/L ; $72,2 \pm 13,8$ UI/L $234,7 \pm 73,8$ ng/ml par rapport aux participants atteints d'hépatite chronique et cirrhose ($P < 0,0001$).

Il est primordial de noter que les taux moyens de transaminases obtenus dans notre étude étaient tous anormaux, car les valeurs moyennes se situeraient respectivement pour l'ALAT entre 17-59 UI/L ; pour l'ASAT entre 10-50 UI/L. Nos résultats peuvent s'expliquer par le fait que les transaminases soient présentes respectivement dans le cytoplasme et les mitochondries des hépatocytes et les cellules musculaires. Du fait de l'activité cytopathogènes des virus oncogènes de l'hépatite sur les hépatocytes, les transaminases sont libérées dans la circulation sanguine ce qui entraîne une augmentation des taux sériques d'ALAT et d'ASAT dans le sang périphérique. Il est aussi possible que la stimulation inflammatoire due à la progression

tumorale stimule évidemment les hépatocytes à produire des quantités abondantes de transaminases par rapport à ce que l'on trouvera chez les patients en phase précoce des maladies du foie. Ceci pourrait expliquer les taux élevés de transaminases chez les participants à l'étude. **(Li et al., 2021 ; Yang et al., 2018).**

Outre son rôle dans le diagnostic du CHC, des taux sériques d'AFP plus élevés ont également été observés chez les participants atteints de CHC. L'AFP est actuellement le biomarqueur sérique le plus utilisé pour le dépistage et le diagnostic précoce du CHC, ainsi que pour l'évaluation de l'efficacité et du pronostic du traitement du CHC. Cependant, toutes les tumeurs du CHC ne concourent pas à une augmentation de l'AFP. Ce qui rend ce marqueur non spécifique à l'installation CHC. Il est donc important d'explorer la recherche de nouveaux biomarqueurs capables de pallier aux manquements des transaminases et de l'AFP afin de compléter ainsi les examens de radiographie pour espérer atteindre les taux de dépistage de CHC voisins de ceux qu'on obtiendrait en utilisant la biopsie **(Li et al., 2021 ; Wang et al., 2021 ; Coffie et al., 2017 ; Yang et al., 2018).**

III.2.4. Profil des marqueurs cytokiniques

Nous avons examiné le profil des 12 analytes suivantes (IL-2 ; IL-4 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IFN α 2 ; IFN γ ; VEGF ; G-CSF ; RANTES) chez 60 participants chez les patients atteints de maladie chronique du foie et ceux atteints de CHC. Globalement, nous avons observé des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires (IL-2 et IL-6) dont les taux variaient significativement ($p < 0,0001$ et $p = 0,050$) entre les participants atteints d'Hépatite Chronique, Cirrhose du foie et CHC respectivement. Nous avons également observé des variations significatives ($p < 0,0001$) du VEGF (facteur de croissance angiogénique) entre les différents groupes étudiés.

L'inflammation est étroitement associée au développement et à la progression du cancer, par conséquent, le ciblage de l'inflammation représente une stratégie attrayante à la fois pour la prévention du cancer et pour la prévention et le traitement du cancer. L'IL-6 est l'une des principales cytokines qui se trouve à des concentrations élevées dans de nombreux types de cancer. Un certain nombre d'études ont tenté d'associer Polymorphismes du gène IL-6 avec la susceptibilité du CHC **(Adnan et al., 2020 ; Madkour et al., 2018 ; H. Ogawa et al., 2017).** Nous n'avons pas étudié le polymorphisme de l'IL-6 dans notre étude, mais cette cytokine a montré des quantités significatives ($p = 0,050$) entre les participants atteints d'hépatite

chronique, cirrhose et CHC. Ainsi, le polymorphisme de l'IL-6 a été signalé comme étant lié au développement du CHC chez les porteurs du VHB ou VHC (**Adnan et al., 2020 ; Madkour et al., 2018**). En effet, l'interleukine 6 est impliquée dans le recrutement des neutrophiles et favorise la migration et la prolifération des lymphocytes T dans le tissu affecté (**Mathew et al., 2014**). Ils sont sécrétés par les lymphocytes T, les macrophages pour stabiliser la réponse immunitaire (**Lippitz, 2013**). Les taux sériques élevés d'IL-6 ont été rapportés chez les patients atteints de CHC associé aux l'hépatites virales (VHC et VHB) (**Chao et al., 2013**).

Les variations importantes de l'IL-2 s'expliquent par le fait que l'IL-2 est un puissant immunorégulateur de la stimulation, la prolifération et l'activation des lymphocytes T, des cellules tueuses naturelles et des lymphocytes B (**Gao et al., 2017**). L'effet de l'inflammation et des cellules inflammatoires sur le processus de développement et de progression tumorale est de plus en plus reconnu. Il est désormais évident que les cas de cancer résultent d'infections et d'inflammations chroniques. L'IL-2 joue donc un rôle central dans l'interaction entre la résistance innée et l'immunité adaptative en induisant la production d'IFN γ et en générant des réponses des cellules T auxiliaires 1 (Th1) et des LT cytotoxiques. Dans cette étude, nous avons constaté que les taux sériques d'IL-2 étaient plus faibles chez les patients atteints d'un CHC par rapport aux patients atteints de cirrhose et l'hépatite chronique. Nos résultats sont comparables à ceux de Peng *et al* ; qui dans leur étude, ont obtenu les quantités d'IL-2 suivants pour les patients atteints de CHC (238.2 ± 136.7 ng/L) comparé aux témoins (288.6 ± 177.1 ng/L) (**Peng et al., 2014**). Nos résultats suggèrent que les taux décroissants de l'IL-2 pourraient jouer un rôle dans l'étiologie du CHC par réduction des réponses cytotoxique Th1 (**Bahgat et al., 2015**).

Les cytokines IFN γ et IL-17A sont bien décrites en association avec l'hépatite chronique, la cirrhose et le CHC via une combinaison avec d'autres cytokines pro-inflammatoires. Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différence significative des taux de l'IL-17A et IFN γ entre les trois groupes étudiés, mais les taux des patients atteints de CHC étaient supérieurs à ceux atteints de Cirrhose de foie et hépatite chronique dans son étude, **Ribeiro et al**, trouvaient des quantités d'IL-17A plus élevées chez les patients atteints de maladie du foie chronique par rapport aux cas aigus (**Ribeiro et al., 2020**). Ces résultats pourraient signifier de que les taux d'IL-17A augmenteraient avec la gravité ou le stade de la maladie. Ceci est autant plus corroboré par les études précédemment réalisées par Du *et al* en 2013 qui a montré que l'expression de l'IL-17A dans les tissus hépatiques des patients était positivement corrélée au degré d'inflammation et au stade de la fibrose (**Du et al., 2013**) ainsi

que Elkhawaga *et al* 2019 qui de même a montré que les niveaux les plus élevés d'IL-17A dans le sérum et le foie étaient observés chez les patients Cirrhose du foie par rapport aux patients atteints de d'hépatite chronique (Elkhawaga *et al.*, 2019). Ces résultats suggèrent que l'IL-17A pourrait participer à la pathogenèse et/ou à la progression du carcinome hépatocellulaire (Ribeiro *et al.*, 2020).

À ce jour, il n'y a pas de consensus sur les taux référentiels de cytokines pour la progression de la maladie hépatique et la carcinogenèse du CHC (Estevez *et al.*, 2017). Certaines études comparant des patients VHB ou VHC ayant une hépatite chronique, Cirrhose du foie et CHC ont montré des taux plasmatiques significatifs d'IFN γ , de TNF- α , de sFas-ligand, de G-CSF, d'IL-10, d'IL-8 et d'IL-12 (Falasca *et al.*, 2006 ; Lu *et al.*, 2016 ; Tilg *et al.*, 1992 ; Toyoda *et al.*, 2000 ; Trinchieri *et al.*, 2003 ; Zhu *et al.*, 2015). Par contre, dans notre étude, l'IL-12, l'IL-10, l'IFN- γ , n'ont pas montré une différence significative entre les groupes étudiés. Nos résultats peuvent être expliqués par le fait que tous les participants dans notre étude étaient en phase évaluative de leur traitement antiviral. Tandis que dans les études susmentionnées, les auteurs n'ont pas mentionné l'étape des traitements des participants, en plus de cela, ils ont comparé les patients sous traitements antiviraux et les patients naïfs aux traitements antiviraux (Estevez *et al.*, 2017). Ainsi, un traitement pourrait ou pas avoir un impact significatif sur la production des niveaux de cytokines.

Nos résultats ont montré que les patients atteints de CHC ($406,0 \pm 72,7$ pg/ml) présentaient des taux sériques de VEGF significativement plus élevés que les patients non atteints de Cirrhose du foie ($187,3 \pm 34,4$ pg/ml) et Hépatite chronique ($168,8 \pm 24,2$ pg/ml). Nos résultats vont en droite ligne avec ceux retrouvés par Alzamzamy *et al*, qui ont trouvé que les taux de VEGF étaient significativement plus élevés dans le groupe CHC par rapport au groupe cirrhose (1409 pg/ml vs $233,3$ pg/ml) et par rapport au groupe témoin (1409 pg/ml vs 204 pg/ml) (Alzamzamy *et al.*, 2021). Tandis que les résultats des travaux de Youssef *et al* suggéraient que les patients atteints de CHC avaient pour moyenne de VEGF, $2180,8 \pm 1,621,4$ pg/ml et les patients atteints de Cirrhose avaient pour moyenne de VEGF, $1605,3 \pm 4,082,4$ pg/ml et les patients apparemment sains avaient pour moyenne de VEGF $561,0 \pm 251,7$ pg/ml (Youssef *et al.*, 2018). Ces résultats suggèrent que l'hypoxie stimule l'angiogenèse et la carcinogenèse hépatique via une régulation à la hausse de l'expression du gène VEGF. Un grand nombre de preuves suggèrent que le VEGF pourrait être utilisé comme marqueur tumoral du CHC.

Premièrement, le CHC est une tumeur vasculaire qui dépend de l'angiogenèse pour la croissance et la survie de la tumeur. Deuxièmement, des niveaux élevés de VEGF étaient associés à de mauvaises caractéristiques cliniques de la tumeur et à un mauvais pronostic **(Alzamzamy et al., 2021)**. Dans cette étude, le niveau moyen de VEGF sérique était significativement augmenté dans le groupe de CHC par rapport au groupe des patients atteints de Cirrhose et Hépatite Chronique. Ce résultat avait précédemment été mentionnés dans les études El- Sherif *et al*, ce qui suggère que des taux sériques de VEGF plus élevés prédiraient un mauvais pronostic du CHC. Par conséquent, la surveillance des taux sériques de VEGF pourrait non seulement conduire à un diagnostic précoce du CHC chez les patients atteints d'hépatite chronique mais aussi ceux atteints de cirrhose du foie, mais également fournir aux cliniciens une indication précoce du pronostic de la maladie **(El-Sherif et al., 2012)**.

Les traitements utilisés contre le VHB, sont les analogues de nucléosidiques ou nucléotidiques utilisés pour prévenir la réplication virale dans les cellules infectées **(Hadziyannis & Hadziyannis, 2020)**. Ils sont assez semblables aux nucléosides et aux nucléotides pour être intégrés dans les brins d'ADN viraux en cours de réplication, mais ils agissent comme agents terminaux de chaîne et arrêtent l'action de l'ADN polymérase virale **(Feng, 2018)**. Ils ne sont toutefois pas spécifiques à l'ADN viral et affectent également l'ADN mitochondrial. Ce qui ouvre les portes aux effets secondaires **(Levrero et al., 2018)**. Mais, à l'arrêt du traitement, la réactivation de l'hépatite est quasi constante et les chances de séroconversion HBe sont très faibles. Si l'on prolonge le traitement dans l'espoir d'obtenir cette séroconversion, on augmente le risque de provoquer l'apparition de souches virales résistantes associées à une forte rechute **(Ogawa et al., 2020)**. La fréquence d'apparition d'un VHB résistant avec ce produit est de 24 % après un an de traitement, elle grimpe à 38 % après 2 ans, 50 % au bout de 3 ans, 67 % au bout de 4 ans **(Levrero et al., 2018)**.

L'établissement d'un profil cytokinique des participants en fonction des traitements contre l'hépatite B n'a montré aucune différence significative entre les différentes cytokines analysées dans notre étude. Par contre dans les études menées dans d'autres contextes, les auteurs évaluaient les taux des marqueurs virologiques tels que l'Ag HBs, l'Ag HBe, l'Ag HBcr et l'ADN du VHB en fonction des traitements (Analogues nucléosidiques) administrés aux participants **(Fasano et al., 2012 ; Gish et al., 2010 ; Hirode et al., 2022 ; B. Wang et al., 2018)**. Ce qui suggère une réelle prise de conscience sur les effets directs ou indirects que peuvent avoir les analogues nucléosidiques sur le système immunitaire.

L'expression du génome du VHC, produit quatre protéines structurales (core, E1, E2 et p7) et six protéines non structurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B) (**Dultz et al., 2020 ; McCauley & Rudd, 2016 ; Meewan et al., 2019 ; Rehmann, 2016**). Les protéines non structurales, responsables de la production et de la réplication virales, sont les principales cibles des Antiviraux à action Direct (AAD) (**Dultz et al., 2020 ; Shunmugam et al., 2017**). L'utilisation de combinaisons de deux ou trois différentes classes d'antiviraux à action directe est devenue la méthode standard pour le traitement de l'infection par le VHC (**Lim, 2017**). Les études réalisées chez les personnes atteintes de VHC évaluent à la 12^{ème} semaine de traitement, la réponse virologique (**Bourlière et al., 2017**). Les traitements (Sofosbuvir + ribavirine, Sofosbuvir + ribavirine + interféron pégylé alpha, Sofosbuvir + ledispavir) administrés chez les participants à notre étude n'ont pas permis aux participants d'obtenir une réponse virologique soutenue à la douzième semaine de traitement. Ces échecs thérapeutiques ont également été mentionnés dans d'autres études réalisées dans d'autres contextes (**Bourlière et al., 2017 ; Özen et al., 2019**). L'établissement d'un profil cytokinique des participants en fonction des traitements contre l'hépatite C a montré une différence significative entre les cytokines IL-2 ($p=0,08$) et le VEGF ($p=0,01$). Nous pensons que ceci est probablement dû à l'action de l'interféron pégylé alpha, car malgré que celle-ci soit une molécule synthétique, elle a une action antivirale et mime l'action des interférons produits par le système immunitaire. C'est probablement la raison pour laquelle, nous avons trouvé une corrélation positive entre le VEGF et l'IFN γ chez les participants atteints d'hépatite chronique. Il est à noter que ces molécules AAD contre le VHC ont un risque particulièrement élevé de développement de résistances aux médicaments (**Lim, 2017 ; Matthew et al., 2020 ; Özen et al., 2019**).

III.2.5. Performances diagnostiques des biomarqueurs

Dans notre étude, nous avons observé aucune corrélation entre le VEGF et AFP ce résultat est contraire à ceux retrouvés dans les travaux de *Atta et al* ; *Guan et al* qui ont constaté que les taux sériques de VEGF étaient corrélés à l'AFP sérique (**Atta et al., 2016 ; Guan et al., 2015**). Nous n'avons pas recherché la corrélation entre le VEGF et les tests de la fonction hépatique. Mais des études récentes avaient précédemment réfuté la thèse d'une corrélation significative du VEGF et les tests hépatiques entre les groupes CHC, cirrhose du foie, et Hépatite Chronique. Ce qui leur a permis de conclure que l'expression du VEGF ne pouvait pas être considérée comme un indicateur de la fonction hépatique (**Atta et al., 2016 ; Sadik et al., 2019**). Les résultats de notre étude peuvent être expliqués par le rôle essentiel du VEGF dans la pathogenèse et la propagation du CHC. Car il est connu que tous les CHC ne montrent pas

d'élévation de l'AFP (**Xu et al., 2021**). C'est probablement la raison pour laquelle nous n'avons pas obtenu de corrélation entre le VEGF et L'AFP. Par conséquent, nos résultats ont montré que le l'AFP, IL-6 et VEGF sérique obtenu avaient une grande précision (sensibilité et spécificité plus élevées). À un seuil de 200 pg/ml, le VEGF avait une sensibilité (Se=80%) et une spécificité (Sp=70%). Tandis que, l'AFP avait une sensibilité (Se=80%) et une spécificité (Sp=35%) quant à l'Il-6, elle a montré une spécificité (Sp=60%), et une sensibilité de (Se =80%) pour des seuils respectifs de 80,0 ng/ml et 25 pg/ml pour le diagnostic du CHC. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Alzamzamy *et al* qui ont à un seuil de 250 pg/ml le VEGF fourni une sensibilité de 80 % et une spécificité de 81,7 % pour distinguer les patients atteints de CHC des patients non-CHC (**Alzamzamy et al., 2021**). Nos résultats étaient aussi comparables à ceux de Mukozu *et al* qui ont rapporté une sensibilité de 86,4 % et une spécificité de 96,2 % du VEGF avec une valeur seuil de 108 pg/ml (**Mukozu et al., 2013**). Tandis que les résultats de l'étude de Atta *et al* indiquaient que le VEGF chez des patients atteints de CHC avait une sensibilité et une spécificité de 90 % à une valeur seuil de 271,85 pg/ml avec une ZEC de 0,972 (**Atta et al., 2016**). Yvamoto *et al* ont constaté que les taux de VEGF avaient une sensibilité et une spécificité de 65 % et 85 %, respectivement, tandis que l'AFP avait une sensibilité et une spécificité de 28 % et 99 % pour le diagnostic du CHC, respectivement (**Yvamoto et al., 2015**). Dans l'étude de Sadik *et al*, pour différencier les patients atteints de CHC des patients témoins à un seuil $\geq 64,2$ pg/ml, la Se et la Sp du VEGF sérique étaient de 100 % (**Sadik et al., 2019**). Mais contrairement à l'étude de **Sadik et al** en ce qui concerne l'AFP nous avons trouvé une forte Se de 80% et une faible Sp de 35% alors que **Sadik et al** trouvaient une faible sensibilité (23,8 %) et une spécificité élevée (100 %) pour AFP pour le diagnostic du CHC entre les patients atteints de CHC et les témoins (**Sadik et al., 2019**). Cette dernière étude rejoint celle d'Yvamoto *et al.*, qui montrent qu'avec l'AFP ils avaient une Se de 28 % et une Sp de 99 % à une valeur seuil de 200 ng/ml pour détecter les patients atteints de CHC à partir de témoins (**Yvamoto et al., 2015**). Plusieurs études mettent en évidence les rôles critiques de la génétique de l'hôte, des facteurs microbiens, de l'âge, le sexe et le climat dans la variation de la production de cytokines et suggèrent que ces facteurs soient pris en compte lors de l'évaluation de la fonction immunitaire. Ceux-ci doivent cependant être pris en compte dans le développement de nouvelles stratégies de surveillances, diagnostiques et de thérapies des maladies telles que les maladies infectieuses et cancers viro-induits.

III.2.6. Forces et limites

Les résultats obtenus dans notre étude peuvent servir à actualiser les données épidémiologiques pour outiller les décideurs politiques dans les prises de décision dans la prévention et le contrôle des infections du VHB et VHC au Cameroun. Nous avons exclu tous patients avec les comorbidités et co-infections telles que le diabète, le VIH pour ne citer que celles-là. Etant des maladies immunosuppressives, nous ne pouvions pas avec une étude transversale être certains que les participants ont été préalablement infectés par les VHB ou le VHC avant de développer le diabète ou contracter le VIH et vice versa. Dans le cas où les affections immunosuppressives suscitées avaient été contractées en premier, il serait évident qu'elles auraient joué un rôle accélérateur d'hépatopathies chroniques et ou du CHC. Dans cette étude, nous avons utilisé le plasma, nous aurions pu obtenir des résultats plus révélateurs si nous avions utilisé fragments de biopsie or l'obtention des fragments de biopsie du foie est caractérisée par la mise en œuvre des actes chirurgicaux qui sont de moins en moins pratiqués dans le cadre des maladies du foie. Nous n'avons pas pu rechercher chez les participants à l'étude la présence concomitante d'une part de l'Ag HBs et les autres marqueurs sériques du VHB tels que AgHBe, Ag HBc, l'Ac HBs et l'Ac HBc, d'autre part de l'anticorps antiVHC/Ag VHC et les protéines virales (core, E1, E2 et p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B) du fait des coûts onéreux des réactifs. Dans notre étude, nous n'avons pas étudié l'association entre le polymorphisme des biomarqueurs étudiés et le développement du CHC afin d'explorer les interactions génétiques.

CONCLUSION, SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

Conclusion

En fonction de nos objectifs fixés, l'objectif spécifique 1 nous a permis de confirmer que les individus atteints d'hépatite chronique et cirrhose infectés au VHB et/ou VHC ont un risque très élevé de développer le CHC dans notre contexte.

L'objectif spécifique 2 nous a permis de mettre en évidence des prévalences élevées de l'Ag HBs et l'Anti HCV/AgVHC chez les trois groupes étudiés (hépatite chronique, cirrhose et CHC). Les transaminases et l'AFP étaient plus élevés chez les participants atteints de CHC. Des 12 cytokines quantifiées, seules l'IL-2, l'IL-6 et le VEGF étaient celles qui ont montré des taux élevés de manière significative entre les groupes étudiés.

L'objectif spécifique 3 nous a permis de déterminer les performances diagnostiques de certains biomarqueurs et identifier les seuils optimaux de ces biomarqueurs. Ainsi, dans notre étude, le VEGF, l'AFP et l'Il-6 ont montré des caractéristiques intrinsèques et extrinsèques assez satisfaisantes.

En définitive seuls les biomarqueurs immunologiques (pro-inflammatoire et facteur de croissance) respectivement l'IL-6 et le VEGF ont présenté de meilleures performances diagnostiques. Ceux-ci se sont avérés être des excellents biomarqueurs capables de contribuer au diagnostic du CHC chez les patients atteints d'hépatopathies chroniques. Par conséquent devraient être associées à l'AFP et à l'imagerie médicale pour espérer augmenter le nombre de cas de CHC capables d'être diagnostiqués précocement chez les patients atteints d'hépatopathies chroniques car les cytokines facilitent les interactions et les communications entre les cellules en contrôlant divers processus, y compris l'expression des protéines, la régulation des gènes et la prolifération cellulaire.

Suggestions

L'incidence croissante du CHC dans la plupart des pays suggèrent une prise de conscience insuffisante sur les maladies du foie. Pour rendre la surveillance du CHC rentable, des outils nouveaux doivent être développés pour diagnostiquer précocement et stratifier les patients à haut, moyen et faible risque de CHC. Pour y faire face, l'Afrique subsaharienne devra prioriser activement la mise en œuvre de plusieurs stratégies. Une variété d'activités sont nécessaires pour relever ce défi :

- L'instauration de la gratuité de la vaccination contre le VHB à tout âge ;
- La fourniture gratuite du traitement contre le VHC ;
- La prévention rigoureuse de la consommation excessive d'alcool et de l'obésité ;
- l'identification des groupes à haut risque d'infection au VHB, surtout ceux proches des personnes infectées ;
- Encourager les études des facteurs de risque de la résistance antivirale chez les patients atteints d'hépatopathies et ceux atteints de CHC ;
- L'inscription des patients à haut risque de développer un CHC dans les programmes nationaux de surveillance ;
- Mettre sur pied des politiques de santé publique solides pour prévenir, détecter et traiter les maladies hépatiques chroniques ;
- La mise sur pied des techniques de surveillance appropriées pour la détection au stade précoce le CHC ;
- Encourager et promouvoir la recherche des biomarqueurs en termes de rapport coût-efficacité pour la surveillance de routine du CHC.

Perspectives

À ce jour, il existe plusieurs biomarqueurs candidats identifiés pour le diagnostic précoce et prédiction du pronostic du CHC. Cependant, la plupart d'entre eux ne peuvent pas être utilisés dans un cadre clinique à l'heure actuelle. Par conséquent, des cohortes prospectives importantes avec des témoins appropriés sont requises pour une validation universelle des biomarqueurs candidats identifiés qui peuvent ensuite être utilisés en applications cliniques.

Avec les progrès de la génomique et de la protéomique, davantage de nouveaux biomarqueurs seront disponibles pour le diagnostic précoce et la surveillance du CHC. Cependant, le CHC est connu comme une maladie complexe causée par une variété de facteurs de risque. Ainsi, il est difficile d'utiliser un seul biomarqueur pour les patients atteints de CHC. Alors de ce fait, le développement et l'optimisation de la combinaison de biomarqueurs sera plus précieuse pour le diagnostic précoce, le pronostic et la prédiction du CHC chez les patients à haut risque.

Dans l'avenir l'identification de nouveaux biomarqueurs non invasifs pour le diagnostic précoce du CHC à plus grande échelle sera l'un des domaines le plus prometteur de la recherche. Il serait opportun d'anticiper dans des études ultérieures, des investigations supplémentaires évaluant l'efficacité des combinaisons AFP, IL-6 et VEGF au cours de la surveillance du CHC chez les patients atteints d'hépatopathies chroniques.

Il serait aussi urgent d'établir un modèle de prévision de l'efficacité de la combinaison des biomarqueurs AFP, IL-6 et VEGF face au traitement contre les hépatites virales et le CHC au cours des études longitudinale.



LISTE DES PUBLICATIONS ISSUES DE LA THÈSE

Liste des publications issues de la these

Mbaga, D. S., Kenmoe, S., Kengne-Ndé, C., Ebogo-Belobo, J. T., Mahamat, G., Foe-Essomba, J. R., Amougou-Atsama, M., Tchatchouang, S., Nyebe, I., Feudjio, A. F., Kame-Ngasse, G. I., Magoudjou-Pekam, J. N., Fokou, L. K. M., Meta-Djoms, D., Maïdadi-Foudi, M., Touangnou-Chamda, S. A., Doha-Tchoffo, A. G., Selly-Ngaloumo, A. A., Nayang-Mundo, R. A., ... Njiki Bikoï, J., Riwom Essama, S. H. (2022). Hepatitis B, C and D virus infections and risk of hepatocellular carcinoma in Africa: A meta-analysis including sensitivity analyses for studies comparable for confounders. *PLOS ONE*, 17(1), e0262903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903>

Mbaga, D. S., Kenmoe, S., Njiki Bikoï, J., Takuissu, G. R., Amougou-Atsama, M., Atenguena Okobalemba, E., Ebogo-Belobo, J. T., Bowo-Ngandji, A., Oyono, M. G., Magoudjou-Pekam, J. N., Kame-Ngasse, G. I., Nka, A. D., Feudjio, A. F., Zemnou-Tepap, C., Velhima, E. A., Ondigui, J. L. N., Nayang-Mundo, R. A., Touangnou-Chamda, S. A., Takeu, Y. K., ... Riwom Essama, S. H. (2022). Global prevalence of occult hepatitis C virus: A systematic review and meta-analysis. *World Journal of Methodology*, 12(3), 179-190. <https://doi.org/10.5662/wjm.v12.i3.179>

Mbaga, D. S., Njiki Bikoï, J., Atenguena Okobalemba, E., Essindi, J. O., Mbongue Mikangue, C. A., Touangnou-Chamda, S. A., Membangbi, A. E., Ngoutane, A., Elang, A. F., Sake, C. S., Ikomey Mondinde, G., Kenmoe, S., & Riwom Essama, S. H. (2022). Seroprevalence of HBsAg in Patients with Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma at the Earliest Endpoint of treatment: A Cross-Sectional Study. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 7(8).

Mbaga, D. S., Njiki Bikoï, J., Atenguena Okobalemba, E., Essindi, J. O., Mbongue, C. A., Membangbi, A. E., Ngoutane, A., Elang, A. F., Touangnou-Chamda, S. A., Sake, C. S., Ikomey Mondinde, G., Kenmoe, S., & Riwom Essama, S. H. (2022). Seroprevalence of hepatitis C virus antigen in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at 12th week of treatment: A cross-sectional study. *Pan African Medical Journal*, 43. <https://doi.org/10.11604/pamj.2022.43.72.35450>

Mbaga, D. S., Njiki Bikoï, J., Atenguena Okobalemba, E., Essindi, J. O., Mbongue Mikangue, C. A., Kengne Nde, C., Ikomey Mondinde, G., Kenmoe, S., & Essama Riwom, S. H. (2023). Assessment of Serum Cytokine Levels in Patients with Hepatocellular Carcinoma and Those with Chronic Liver Disease: Cross-Sectional Study. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.12691/ajidm-11-1-4>

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AASLD-IDSA. (2015). AASLD/IDSA HCV guidance panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology*, 62, p932-p954.
- Abbas, A. K., Trotta, E., R. Simeonov, D., Marson, A., & Bluestone, J. A. (2018). Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. *Science Immunology*, 3(25), p14-p82.
- Abduljalil, J. (2020). Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2: Available approaches and limitations. *New Microbes and New Infections*, 36, p100-p713.
- Acharya, S. K. (2014). Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in India. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 4, p27-p33. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.05.013>
- Adinolfi, L. E., Nevola, R., Rinaldi, L., Romano, C., & Giordano, M. (2017). Chronic Hepatitis C Virus Infection and Depression. *Clinics in Liver Disease*, 21(3), p517-p534.
- Adnan, F., Khan, N. U., Iqbal, A., Ali, I., Petruzzello, A., Sabatino, R., Guzzo, A., Loquercio, G., Botti, G., Khan, S., Naeem, M., & Khan, M. I. (2020). Interleukin-6 polymorphisms in HCC patients chronically infected with HCV. *Infectious Agents and Cancer*, 15, p21-p33. <https://doi.org/10.1186/s13027-020-00285-9>
- Aldinucci, D., Borghese, C., & Casagrande, N. (2020). The CCL5/CCR5 Axis in Cancer Progression. *Cancers*, 12(7), p17-p65. <https://doi.org/10.3390/cancers12071765>
- Alzamzamy, A., Elsayed, H., Elraouf, M. A., Eltoukhy, H., Megahed, T., & Aboubakr, A. (2021). Serum vascular endothelial growth factor as a tumor marker for hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-related cirrhotic patients. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 13(6), p600-p611. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v13.i6.600>
- Amougou, M. A., Noah, D. N., Moundipa, P. F., Pineau, P., & Njouom, R. (2016). A prominent role of Hepatitis D Virus in liver cancers documented in Central Africa. *BMC Infectious Diseases*, 16(1), p647-p659. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1992-2>
- An, P.-P., Feng, L.-N., Zhang, X.-X., & Jin, Q.-L. (2020). Association of interleukin-6 gene polymorphisms with the risk of hepatocellular carcinoma: An up-to-date meta-analysis. *Medicine*, 99(50), p623-p659. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000023659>
- Andoulo, F. A., Kowo, M., Talla, P., Medjo, E. H., Djapa, R., Njoya, O., & Ndam, E. N. (2013). Epidemiology of Hepatitis B-Associated Hepatocellular Carcinoma in Cameroon. *Health Sciences and Diseases*, 14, p4-p11.
- Andoulo, F. A., Noah, D. N., Djapa, R., Kowo, M., Talla, P., Medjo, E. H., Djomkam, I. K., Ngo, B., Njoya, O., & Ndjitoyap, E. C. (2014). Epidemiology of hepatitis C : Related

- hepatocellular carcinoma in Cameroon. *Pan African Medical Journal*, 19. p21-p29
<https://doi.org/10.11604/pamj.2014.19.379.4143>
- Atta, M. M., Atta, H., Rashed, L., Said, E., Ali, S., Kaseb, A., & Gad, M. (2016). Clinical significance of vascular endothelial growth factor in hepatitis C related hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*, 19. p19-p32
<https://doi.org/10.2147/JHC.S86708>
- Badawi, M. M., Atif, M. S., & Mustafa, Y. Y. (2018). Systematic review and meta-analysis of HIV, HBV and HCV infection prevalence in Sudan. *Virology Journal*, 15, p148-p165.
<https://doi.org/10.1186/s12985-018-1060-1>
- Bahadi, A., Maoujoud, O., Zejjari, Y., Alayoud, A., Hassani, K., Elkabbaj, D., & Benyahia, M. (2013). Diagnosis and evaluation of hepatitis C virus among haemodialysis patients. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 19(02), p192-p199.
- Bahgat, N. A., Kamal, M. M., Abdelaziz, A. O., Mohye, M. A., Shousha, H. I., ahmed, M. M., Elbaz, T. M., & Nabil, M. M. (2015). Interferon- γ and Interleukin-10 Gene Polymorphisms are not Predictors of Chronic Hepatitis C (Genotype-4) Disease Progression. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(12), p5025-p5030.
<https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.12.5025>
- Bahri, O., Ezzikouri, S., Alaya-Bouafif, N. B., Iguer, F., Feydi, A. E. E., Mestiri, H., Benazzouz, M., Khalfallah, T., Afifi, R., Elkihal, L., Berkane, S., Marchio, A., Debzi, N., Dejean, A., Pineau, P., Triki, H., & Benjelloun, S. (2011). First multicenter study for risk factors for hepatocellular carcinoma development in North Africa. *World Journal of Hepatology*, 3(1), p24-p30. <https://doi.org/10.4254/wjh.v3.i1.24>
- Balduzzi, S., Rücker, G., & Schwarzer, G. (2019). How to perform a meta-analysis with R: A practical tutorial. *Evidence Based Mental Health*, 22(4), p153-p160.
- Bigna, J. J., Amougou, M. A., Asangbeh, S. L., Kenne, A. M., & Nansseu, J. R. (2017). Seroprevalence of hepatitis C virus infection in Cameroon: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 7(8), p725-p748. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-015748>
- Bigna, J. J., Amougou, M. A., Asangbeh, S. L., Kenne, A. M., Noumegni, S. R. N., Ngo-Malabo, E. T., & Noubiap, J. J. (2017). Seroprevalence of hepatitis B virus infection in Cameroon: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 7(6), p285-p298.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-015298>
- Bio-Rad. (2009). Trousse pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B par technique immuno-enzymatique dans le sérum ou le plasma humain.
<https://commerce.bio-rad.com/>

- Bio-Rad. (2014). Trousse de dépistage combine des anticorps Anti-VHC et de l'antigène viral du virus de l'hépatite C dans le sérum ou le plasma humain par technique immunoenzymatique. <https://commerce.bio-rad.com/>
- Bourlière, M., Gordon, S. C., Flamm, S. L., Cooper, C. L., Ramji, A., Tong, M., Ravendhran, N., Vierling, J. M., Tran, T. T., Pianko, S., Bansal, M. B., de Ledinghen, V., Hyland, R. H., Stamm, L. M., Dvory-Sobol, H., Svarovskaia, E., Zhang, J., Huang, K. C., Subramanian, G. M., ... POLARIS-1 and POLARIS-4 Investigators. (2017). Sofosbuvir, Velpatasvir, and Voxilaprevir for Previously Treated HCV Infection. *The New England Journal of Medicine*, 376(22), p2134-p2146.
- Bray, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., Znaor, A., Zanetti, R., & Ferlay, J. (2021). *Cancer Incidence in Five Continents Volume XI*. <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Scientific-Publications/Cancer-Incidence-In-Five-Continents%C2%A0Volume-XI-2021>
- Broussard, I. M., & Kahwaji, C. I. (2021). Universal Precautions. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470223/>
- Bruix, J., Sherman, M., Llovet, J. M., Beaugrand, M., Lencioni, R., Burroughs, A. K., Christensen, E., Pagliaro, L., Colombo, M., & Rodés, J. (2001). Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. *Journal of Hepatology*, 35(3), p421-p430. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00130-1](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00130-1)
- Bukh, J. (2016). The history of hepatitis C virus (HCV): Basic research reveals unique features in phylogeny, evolution and the viral life cycle with new perspectives for epidemic control. *Journal of Hepatology*, 65(1), p2-p21.
- Camussi, G., Albano, E., Tetta, C., & Bussolino, F. (1991). The molecular action of tumor necrosis factor-alpha. *European Journal of Biochemistry*, 202(1), p3-p14.
- Carloni, G., Crema, A., Valli, M. B., Ponzetto, A., & Clementi, M. (2012). HCV infection by cell-to-cell transmission: Choice or necessity? *Current Molecular Medicine*, 12(1), p83-p95. <https://doi.org/10.2174/156652412798376152>
- CDC. (2019a). Hepatitis B - Chapter 4—2020 Yellow Book Travelers' Health CDC. <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/hepatitis-b>
- CDC. (2019b). Hepatitis C - Chapter 4—2020 Yellow Book Travelers' Health CDC. <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/hepatitis-c>
- Chao, Y., Wu, C.-Y., Kuo, C.-Y., Wang, J. P., Luo, J.-C., Kao, C.-H., Lee, R.-C., Lee, W.-P., & Li, C.-P. (2013). Cytokines are associated with postembolization fever and survival

- in hepatocellular carcinoma patients receiving transcatheter arterial chemoembolization. *Hepatology International*, 7(3), p883-p892.
- Charan, J., & Biswas, T. (2013). How to Calculate Sample Size for Different Study Designs in Medical Research? *Indian Journal of Psychological Medicine*, 35(2), p121-p126. <https://doi.org/10.4103/0253-7176.116232>
- Chen, C.-J., You, S.-L., Hsu, W.-L., Yang, H.-I., Lee, M.-H., Chen, H.-C., Chen, Y.-Y., Liu, J., Hu, H.-H., Lin, Y.-J., Chu, Y.-J., Huang, Y.-T., Chiang, C.-J., & Chien, Y.-C. (2021). Epidemiology of Virus Infection and Human Cancer. *Recent Results in Cancer Research. Fortschritte Der Krebsforschung. Progres Dans Les Recherches Sur Le Cancer*, 217, p13-p45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
- Chen, Y., & Tian, Z. (2019). HBV-Induced Immune Imbalance in the Development of HCC. *Frontiers in Immunology*, 10, p20-p48. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02048>
- Coffie, P. A., Egger, M., Vinikoor, M. J., Zannou, M., Diero, L., Patassi, A., Kuniholm, M. H., Seydi, M., Bado, G., Ocama, P., Andersson, M. I., Messou, E., Minga, A., Easterbrook, P., Anastos, K., Dabis, F., & Wandeler, G. (2017). Trends in hepatitis B virus testing practices and management in HIV clinics across sub-Saharan Africa. *BMC Infectious Diseases*, 17(S1), p70-p86. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2768-z>
- Coffin, C. S., Zhou, K., & Terrault, N. A. (2019). New and Old Biomarkers for Diagnosis and Management of Chronic HBV Infection. *Gastroenterology*, 156(2), p355-p368. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.11.037>
- Cohn, J., Roberts, T., Amorosa, V., Lemoine, M., & Hill, A. (2015). Simplified diagnostic monitoring for hepatitis C, in the new era of direct-acting antiviral treatment. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 10(5), p369.
- Cosman, D., Kumaki, S., Ahdieh, M., Eisenman, J., Grabstein, K. H., Paxton, R., DuBose, R., Friend, D., Park, L. S., & Anderson, D. (1995). Interleukin 15 and its receptor. *Ciba Foundation Symposium*, 195, <https://doi.org/10.1002/9780470514849.ch15>.
- Couri, T., & Pillai, A. (2019). Goals and targets for personalized therapy for HCC. *Hepatology International*, 13(2), p125-p137. <https://doi.org/10.1007/s12072-018-9919-1>
- DerSimonian, R., & Laird, N. (2015). Meta-Analysis in Clinical Trials Revisited. *Contemporary clinical trials*, 45(0 0), p139-p145.
- Donnelly, R. P., Dickensheets, H., & Finbloom, D. S. (1999). The interleukin-10 signal transduction pathway and regulation of gene expression in mononuclear phagocytes. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 19(6), p563-p573. <https://doi.org/10.1089/107999099313695>

- Du, W.-J., Zhen, J.-H., Zeng, Z.-Q., Zheng, Z.-M., Xu, Y., Qin, L.-Y., & Chen, S.-J. (2013). Expression of Interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagnostic Pathology*, 8(1), p40. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-8-40>
- Dubin, C., Del Duca, E., & Guttman-Yassky, E. (2021). The IL-4, IL-13 and IL-31 pathways in atopic dermatitis. *Expert Review of Clinical Immunology*, 17(8), p835-p852. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2021.1940962>
- Dultz, G., Shimakami, T., Schneider, M., Murai, K., Yamane, D., Marion, A., Zeitler, T. M., Stross, C., Grimm, C., Richter, R. M., Bäumer, K., Yi, M., Biondi, R. M., Zeuzem, S., Tampé, R., Antes, I., Lange, C. M., & Welsch, C. (2020). Extended interaction networks with HCV protease NS3-4A substrates explain the lack of adaptive capability against protease inhibitors. *The Journal of Biological Chemistry*, 295(40), p13862-p13874. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013898>
- Dustin, L. B., Cashman, S. B., & Laidlaw, S. M. (2014). Immune control and failure in HCV infection—Tipping the balance. *Journal of Leukocyte Biology*, 96(4), p535-p548. <https://doi.org/10.1189/jlb.4RI0214-126R>
- EASL. (2017). EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*, 67(2), p370-p398.
- Echejoh, G., Tanko, N. M., Manasseh, A., Ogala-Echejoh, S., Ugoya, S., & Mandong, B. (2008). Hepatocellular carcinoma in Jos, Nigeria. *Nigerian journal of medicine: journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria*, 17, p210-p213. <https://doi.org/10.4314/njm.v17i2.37386>
- Elhendawy, M., Abo-Ali, L., Abd-Elsalam, S., Hagra, M. M., Kabbash, I., Mansour, L., Atia, S., Esmat, G., Abo-ElAzam, A.-R., El-Kalla, F., & Kobtan, A. (2020). HCV and HEV: Two players in an Egyptian village, a study of prevalence, incidence, and co-infection. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(27), p33659-p33667.
- Elkhawaga, A. A., Hosni, A., Zaky, D. Z., Kamel, A. A., Mohamed, N. A., Abozaid, M. A., & El-Masry, M. A. (2019). Association of Treg and TH17 Cytokines with HCV Pathogenesis and Liver Pathology. *The Egyptian Journal of Immunology*, 26(2), p55-p63.
- El-Sherif, W. T., Makhoul, N. A., El-Gendi, S. S., & Herdan, O. M. (2012). *Evaluation of Transforming Growth Factor Alpha and Vascular Endothelial Growth Factor in Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma*. 13.
- Estevez, J., Chen, V. L., Podlaha, O., Li, B., Le, A., Vutien, P., Chang, E. T., Rosenberg-Hasson, Y., Jiang, Z., Pflanz, S., Ge, D., Gaggar, A., & Nguyen, M. H. (2017). Differential Serum Cytokine Profiles in Patients with Chronic Hepatitis B, C, and Hepatocellular Carcinoma. *Scientific Reports*, 7(1), p11867.

- Ethuin, F., Chollet-Martin, S., & Jacob, L. (2004). [A new role for neutrophils during sepsis: Target and source of interleukin-12]. *Annales Francaises D'anesthesie Et De Reanimation*, 23(2), p132-p137. <https://doi.org/10.1016/j.annfar.2003.11.014>
- Eyerich, K., Dimartino, V., & Cavani, A. (2017). IL-17 and IL-22 in immunity: Driving protection and pathology. *European Journal of Immunology*, 47(4), p607-p614. <https://doi.org/10.1002/eji.201646723>
- Eyong, E. M., Yankam, B. M., Seraphine, E., Ngwa, C. H., Nkfusai, N. C., Anye, C. S., Nfor, G. K., & Cumber, S. N. (2019). The prevalence of HBsAg, knowledge and practice of hepatitis B prevention among pregnant women in the Limbe and Muyuka Health Districts of the South West region of Cameroon: A three-year retrospective study. *The Pan African Medical Journal*, 32, p122.
- Falasca, K., Ucciferri, C., Dalessandro, M., Zingariello, P., Mancino, P., Petrarca, C., Pizzigallo, E., Conti, P., & Vecchiet, J. (2006). Cytokine patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 36(2), p144-p150.
- Fasano, M., Lampertico, P., Marzano, A., Di Marco, V., Niro, G. A., Brancaccio, G., Marengo, A., Scotto, G., Brunetto, M. R., Gaeta, G. B., Rizzetto, M., Angarano, G., & Santantonio, T. (2012). HBV DNA suppression and HBsAg clearance in HBsAg negative chronic hepatitis B patients on lamivudine therapy for over 5years. *Journal of Hepatology*, 56(6), p1254-p1258. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.01.022>
- Feng, J. Y. (2018). Addressing the selectivity and toxicity of antiviral nucleosides. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, <https://doi.org/10.1177/2040206618758524>
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144(8), p1941-p1953. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
- Fiore, P. F., Di Matteo, S., Tumino, N., Mariotti, F. R., Pietra, G., Ottonello, S., Negrini, S., Bottazzi, B., Moretta, L., Mortier, E., & Azzarone, B. (2020). Interleukin-15 and cancer: Some solved and many unsolved questions. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 8(2), e001428. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001428>
- Gao, Q.-J., Xie, J.-X., Wang, L.-M., Zhou, Q., & Zhang, S.-Y. (2017). Interaction effects among IFN- γ +874, IL-2-330, IL-10-1082, IL-10-592 and IL-4-589 polymorphisms on the clinical progression of subjects infected with hepatitis B virus and/or hepatitis C virus: A retrospective nested case-control study. *BMJ Open*, 7(8), e013279.
- Garrido, A., & Djouder, N. (2021). Cirrhosis: A Questioned Risk Factor for Hepatocellular Carcinoma. *Trends in Cancer*, 7(1), p29-p36.

- Gentile, G., & Antonelli, G. (2019). HBV Reactivation in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Narrative Review. *Viruses*, 11(11), p1049. <https://doi.org/10.3390/v11111049>
- Gerlich, W. H. (2013). Medical Virology of Hepatitis B: How it began and where we are now. *Virology Journal*, 10, 239. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-239>
- Gish, R. G., Chang, T.-T., Lai, C.-L., De Man, R., Gadano, A., Poordad, F., Yang, J., Brett-Smith, H., & Tamez, R. (2010). Loss of HBsAg antigen during treatment with entecavir or lamivudine in nucleoside-naïve HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B*: Loss of HBsAg antigen with entecavir. *Journal of Viral Hepatitis*, 17(1), p16-p22. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2009.01146.x>
- GLOBOCAN. (2020). Estimated number of prevalent cases (3-year) as a proportion in 2020, liver, both sexes, all ages, Africa. 2020. Accessed February 23, 2020.
- Gozlan, J. (2016). Les nouveaux traitements de l'hépatite C. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(487), p65-p73. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30373-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30373-2)
- Greenman, J., Roberts, T., Cohn, J., & Messac, L. (2015). Dried blood spot in the genotyping, quantification and storage of HCV RNA: A systematic literature review. *Journal of Viral Hepatitis*, 22(4), p353-p361. <https://doi.org/10.1111/jvh.12345>
- Guan, Q., Gu, J., Zhang, H., Ren, W., Ji, W., & Fan, Y. (2015). Correlation between vascular endothelial growth factor levels and prognosis of hepatocellular carcinoma patients receiving radiofrequency ablation. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(1), p119-p123. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.981776>
- Hadziyannis, E., & Hadziyannis, S. (2020). Current practice and contrasting views on discontinuation of nucleos(t)ide analog therapy in chronic hepatitis B. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 14(4), p243-p251.
- Hamilton, J. A. (2020). GM-CSF in inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*, 217(1), e20190945. <https://doi.org/10.1084/jem.20190945>
- Heiat, M., Ranjbar, R., & Alavian, S. (2014). Classical and Modern Approaches Used for Viral Hepatitis Diagnosis. *Hepatitis monthly*, 14, e17632.
- Herrscher, C., Roingeard, P., & Blanchard, E. (2020). Hepatitis B Virus Entry into Cells. *Cells*, 9(6), 1486. <https://doi.org/10.3390/cells9061486>
- Hirano, T. (2021). IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International Immunology*, 33(3), p127-p148. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>
- Hirode, G., Choi, H. S. J., Chen, C.-H., Su, T.-H., Seto, W.-K., Van Hees, S., Papatheodoridi, M., Lens, S., Wong, G., Brakenhoff, S. M., Chien, R.-N., Feld, J., Sonneveld, M. J.,

- Chan, H. L. Y., Forns, X., Papatheodoridis, G. V., Vanwolleghem, T., Yuen, M.-F., Hsu, Y.-C., ... Janssen, H. L. A. (2022). Off-Therapy Response After Nucleos(t)ide Analogue Withdrawal in Patients with Chronic Hepatitis B: An International, Multicenter, Multiethnic Cohort (RETRACT-B Study). *Gastroenterology*, 162(3), p757-p771. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.11.002>
- Kangbai, J. B. (2017). Virologic Response and Survival Analysis of 281 HbsAg Treatment Naive Patients on Lamivudine Monotherapy in Sierra Leone. *International Journal of Virology and AIDS*, 4(1). <https://doi.org/10.23937/2469-567X/1510029>
- Kanwal, F., & Singal, A. G. (2019). Surveillance for Hepatocellular Carcinoma: Current Best Practice and Future Direction. *Gastroenterology*, 157(1), p54-p64.
- Kawaguchi, M., Adachi, M., Oda, N., Kokubu, F., & Huang, S.-K. (2004). IL-17 cytokine family. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(6), p1265-p1273; quiz 1274. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.10.019>
- Kleiner, G., Marcuzzi, A., Zanin, V., Monasta, L., & Zauli, G. (2013). Cytokine Levels in the Serum of Healthy Subjects. *Mediators of Inflammation*, 2013, p434010. <https://doi.org/10.1155/2013/434010>
- Kolitz, J. E., Welte, K., Sykora, K. W., & Mertelsmann, R. (1985). Interleukin 2: A review. *Arzneimittel-Forschung*, 35(10), p1607-p1615.
- Kowo, M. P., Andoulo, F. A., Ngek, L. T., Sizimboue, D. T., Ndam, A. N., Ondo, B. E., Bagnaka, S. E., Djanteng, R., Ndam, E.-C. N., & Njoya, O. (2019). Prevalence of Hepatitis C Virus and Associated Risk Factors among Inmates at New Bell Prison, Douala, Cameroon. *Open Journal of Epidemiology*, 9(2), p10-p19
- Lange, B., Roberts, T., Cohn, J., Greenman, J., Camp, J., Ishizaki, A., Messac, L., Tuaillon, E., van de Perre, P., Pichler, C., Denking, C. M., & Easterbrook, P. (2017). Diagnostic accuracy of detection and quantification of HBV-DNA and HCV-RNA using dried blood spot (DBS) samples – a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), p693. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2776-z>
- Lazear, H. M., Schoggins, J. W., & Diamond, M. S. (2019). Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity*, 50(4), p907-p923.
- Le Guillou-Guillemette, H., & Afaire-Marchais, V. (2019). Virus de l'hépatite C, aspects virologiques. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(582), p23-p26.
- Lee, H. W., Lee, H. J., Hwang, J. S., Sohn, J. H., Jang, J. Y., Han, K. J., Park, J. Y., Kim, D. Y., Ahn, S. H., Paik, Y. H., Lee, C. K., Lee, K. S., Chon, C. Y., & Han, K.-H. (2010). Lamivudine maintenance beyond one year after HBeAg seroconversion is a major factor for sustained virologic response in HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology*, 51(2), p415-p421. <https://doi.org/10.1002/hep.23323>

- Levrero, M., Subic, M., Villeret, F., & Zoulim, F. (2018). Perspectives and limitations for nucleo(t)side analogs in future HBV therapies. *Current Opinion in Virology*, 30, 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.04.006>
- Li, J., Tao, H., Zhang, E., & Huang, Z. (2021). Diagnostic value of gamma-glutamyl transpeptidase to alkaline phosphatase ratio combined with gamma-glutamyl transpeptidase to aspartate aminotransferase ratio and alanine aminotransferase to aspartate aminotransferase ratio in alpha-fetoprotein-negative hepatocellular carcinoma. *Cancer Medicine*, 10(14), p4844-p4854. <https://doi.org/10.1002/cam4.4057>
- Li, L., & Lan, X. (2016). Association between hepatitis B virus/hepatitis C virus infection and primary hepatocellular carcinoma risk: A meta-analysis based on Chinese population. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(Supplement), p284-p287. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.200763>
- Li, Q., Wang, J., Lu, M., Qiu, Y., & Lu, H. (2020). Acute-on-Chronic Liver Failure from Chronic-Hepatitis-B, Who Is the Behind Scenes. *Frontiers in Microbiology*, 11, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.583423>
- Lim, S. G. (2017). HCV management in resource-constrained countries. *Hepatology International*, 11(3), p245-p254. <https://doi.org/10.1007/s12072-017-9787-0>
- Lippitz, B. E. (2013). Cytokine patterns in patients with cancer: A systematic review. *The Lancet. Oncology*, 14(6), p218-p228. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70582-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70582-X)
- Lombardelli, L., Logiodice, F., Kullolli, O., & Piccinni, M.-P. (2021). Evaluation of Secreted Cytokines by Multiplex Bead-Based Assay (X MAP Technology, Luminex). *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2285, p121-p130. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1311-5_10
- Lu, M.-Y., Huang, C.-I., Dai, C.-Y., Wang, S.-C., Hsieh, M.-Y., Hsieh, M.-H., Liang, P.-C., Lin, Y.-H., Hou, N.-J., Yeh, M.-L., Huang, C.-F., Lin, Z.-Y., Chen, S.-C., Huang, J.-F., Chuang, W.-L., & Yu, M.-L. (2016). Elevated on-treatment levels of serum IFN-gamma is associated with treatment failure of peginterferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Scientific Reports*, 6, 22995. <https://doi.org/10.1038/srep22995>
- Madkour, B., Gad, A., Hamdy, M. S., Zahran, N., & Aboul-Ezz, M. (2018). Interleukin-6-572 promoter gene polymorphism and its association with chronic hepatitis C-induced hepatocellular carcinoma: An Egyptian study. *Comparative Clinical Pathology*, 27(1), p161-p165. <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2571-7>
- Maheshwari, A., Ray, S., & Thuluvath, P. J. (2008). Acute hepatitis C. *Lancet (London, England)*, 372(9635), p321-p332. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61116-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61116-2)

- Malnick, S., Maor, Y., Melzer, E., & Tal, S. (2014). Chronic hepatitis C in the aged: Much ado about nothing or nothing to do? *Drugs & Aging*, 31(5), p339-p347. <https://doi.org/10.1007/s40266-014-0170-8>
- Mathew, S., Ali, A., Abdel-Hafiz, H., Fatima, K., Suhail, M., Archunan, G., Begum, N., Jahangir, S., Ilyas, M., Chaudhary, A. G. A., Al Qahtani, M., Mohamad Bazarah, S., & Qadri, I. (2014). Biomarkers for virus-induced hepatocellular carcinoma (HCC). *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 26, p327-p339.
- Matthew, A. N., Zephyr, J., Nageswara Rao, D., Henes, M., Kamran, W., Kosovrasti, K., Hedger, A. K., Lockbaum, G. J., Timm, J., Ali, A., Kurt Yilmaz, N., & Schiffer, C. A. (2020). Avoiding Drug Resistance by Substrate Envelope-Guided Design: Toward Potent and Robust HCV NS3/4A Protease Inhibitors. *MBio*, 11(2), p172-p182. <https://doi.org/10.1128/mBio.00172-20>
- Mboto, C. I., Davies-Russell, A., Fielder, M., & Jewell, A. P. (2005). Hepatocellular Carcinoma in The Gambia and the role of Hepatitis B and Hepatitis C. *International Seminars in Surgical Oncology: ISSO*, 2, 20. <https://doi.org/10.1186/1477-7800-2-20>
- McCauley, J. A., & Rudd, M. T. (2016). Hepatitis C virus NS3/4a protease inhibitors. *Current Opinion in Pharmacology*, 30, p84-p92. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.07.015>
- McGlynn, K. A., Petrick, J. L., & El-Serag, H. B. (2021). Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 73(Suppl 1), p4-p13.
- McNair, A. N., & Kerr, I. M. (1992). Viral inhibition of the interferon system. *Pharmacology & Therapeutics*, 56(1), p79-p95. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(92\)90038-2](https://doi.org/10.1016/0163-7258(92)90038-2)
- Meewan, I., Zhang, X., Roy, S., Ballatore, C., O'Donoghue, A. J., Schooley, R. T., & Abagyan, R. (2019). Discovery of New Inhibitors of Hepatitis C Virus NS3/4A Protease and Its D168A Mutant. *ACS Omega*, 4(16), p16999-p17008.
- Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., Moldovan, I. M., Roman, A. L., & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF)—Key factor in normal and pathological angiogenesis. *Romanian Journal of Morphology and Embryology Revue Roumaine de Morphologie et Embryologie*, 59(2), p455-p467.
- Mondal, M., Guo, J., He, P., & Zhou, D. (2020). Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 16(10), p2389-p2402.
- Moretto, F., Catherine, F., Esteve, C., Blot, M., & Piroth, L. (2020). Isolated Anti-HBc: Significance and Management. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 202. <https://doi.org/10.3390/jcm9010202>

- Mukozi, T., Nagai, H., Matsui, D., Kanekawa, T., & Sumino, Y. (2013). Serum VEGF as a tumor marker in patients with HCV-related liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Anticancer Research*, 33(3), p1013-p1021.
- Nault, J.-C., Sutter, O., Nahon, P., Ganne-Carrié, N., & Séror, O. (2018). Percutaneous treatment of hepatocellular carcinoma: State of the art and innovations. *Journal of Hepatology*, 68(4), p783-p797. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.004>
- Ndifontiyong, A. N., Ali, I. M., Sokoudjou, J. B., Ndimumeh, J. M., & Tume, C. B. (2021). The Effect of HBV/HCV in Response to HAART in HIV Patients after 12 Months in Kumba Health District in the South West Region of Cameroon. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 6(3), 150. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6030150>
- Nguyen, M. H., Wong, G., Gane, E., Kao, J.-H., & Dusheiko, G. (2020). Hepatitis B Virus: Advances in Prevention, Diagnosis, and Therapy. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00046-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00046-19>
- NICE Guidance. (2017). Hepatitis B (chronic): Diagnosis and management. *Hepatitis*, 23(11) p14-27.
- Noah, D. N., Andoulo, F. A., Bonny, A. B., Doungé, B. D., Eloumou, S. A. F., & Zogo, P. O. (2016). Prévalence du carcinome Hépatocellulaire chez les porteurs d'hépatopathie chronique à Yaoundé—Cameroun. *Revue de Médecine et de Pharmacie*, 6(1), p507-p513.
- Noma, T. (1992). [Function, molecular structure and gene expression of IL-4]. *Nihon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine*, 50(8), p1787-p1794.
- Ogawa, E., Wei, M. T., & Nguyen, M. H. (2020). Hepatitis B Virus Reactivation Potentiated by Biologics. *Infectious Disease Clinics of North America*, 34(2), p341-p358. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.02.009>
- Ogawa, H., Koyanagi-Aoi, M., Otani, K., Zen, Y., Maniwa, Y., & Aoi, T. (2017). Interleukin-6 blockade attenuates lung cancer tissue construction integrated by cancer stem cells. *Scientific Reports*, 7(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12017-y>
- Olbrich, H., Proudfoot, A. E., & Oppermann, M. (1999). Chemokine-induced phosphorylation of CC chemokine receptor 5 (CCR5). *Journal of Leukocyte Biology*, 65(3), p281-p285. <https://doi.org/10.1002/jlb.65.3.281>
- OMS regional Afrique. (2018). Rapport de situation sur la mise en œuvre du cadre d'action de la stratégie mondiale du secteur de la santé pour la prévention, les soins et le traitement de l'hépatite virale 2016-2021 dans la Région Africaine : Document d'information. (No. AFR/RC68/INF. DOC/6). *Organisation mondiale de la Santé. Bureau régional de l'Afrique*. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/276214/AFR-RC68-INF-DOC-6-fre.pdf>

- Özen, A., Prachanronarong, K., Matthew, A. N., Soumana, D. I., & Schiffer, C. A. (2019). Resistance outside the substrate envelope: Hepatitis C NS3/4A protease inhibitors. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 54(1), p11-p26. <https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1568962>
- Peng, Q., Li, H., Lao, X., Deng, Y., Chen, Z., Qin, X., & Li, S. (2014). Association of IL-2 polymorphisms and IL-2 serum levels with susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese Zhuang population. *Infection, Genetics and Evolution*, 27, p375-p381. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.08.021>
- Perret, J.-L., Moussavou-Kombila, J.-B., Delaporte, E., Pemba, L.-F., Boguikouma, J.-B., Matton, T., & Larouze, B. (2002). [HBs Ag and antibodies to hepatitis C virus in complicated chronic liver disease in Gabon. A case control study]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique*, 26(2), p131-p135.
- Petruzzello, A. (2018). Epidemiology of Hepatitis B Virus (HBV) and Hepatitis C Virus (HCV) Related Hepatocellular Carcinoma. *The Open Virology Journal*, 12, p26-p32. <https://doi.org/10.2174/1874357901812010026>
- Plate, K. H., & Warnke, P. C. (1997). Vascular endothelial growth factor. *Journal of Neuro-Oncology*, 35(3), p365-p372. <https://doi.org/10.1023/a:1005845307160>
- Pol, S., & Corouge, M. (2014). Treatment of hepatitis C: Perspectives. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 44(10), p449-p454. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.07.015>
- Posuwan, N., Wanlapakorn, N., Sintusek, P., Wasitthanasem, R., Poovorawan, K., Vongpunsawad, S., & Poovorawan, Y. (2020). Towards the elimination of viral hepatitis in Thailand by the year 2030. *Journal of Virus Eradication*, 6(3), 100003. <https://doi.org/10.1016/j.jve.2020.100003>
- Rapoport, A. P., Abboud, C. N., & DiPersio, J. F. (1992). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): Receptor biology, signal transduction, and neutrophil activation. *Blood Reviews*, 6(1), p43-p57. [https://doi.org/10.1016/0268-960x\(92\)90007-d](https://doi.org/10.1016/0268-960x(92)90007-d)
- Rehermann, B. (2016). HCV in 2015: Advances in hepatitis C research and treatment. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 13(2), p70-p72.
- Ribeiro, C. R. de A., Martinelli, K. G., de Mello, V. da M., Baptista, B. da S., Dias, N. S. T., Paiva, I. A., Lewis-Ximenez, L. L., Pinto, L. M. de O., & de Paula, V. S. (2020). Cytokine, Genotype, and Viral Load Profil in the Acute and Chronic Hepatitis B. *Viral Immunology*, 33(10), p620-p627. <https://doi.org/10.1089/vim.2020.0176>
- Rodrigue-Gervais, I. G., & Lamarre, D. (2010). Comment le virus de l'hépatite C détourne la réponse immunitaire adaptative orchestrée par les cellules dendritiques. *Médecine/sciences*, 26(10), Article 10. <https://doi.org/10.1051/medsci/20102610869>

- Sadik, N. A., Ahmed, N. R., Mohamed, M. F., & Ashoush, O. A. (2019). Serum Vascular Endothelial Growth Factor in Patients with Hepatocellular Carcinoma and its Validity as a Tumor Biomarker. *The Open Biomarkers Journal*, 9(1), p84-p94. <https://doi.org/10.2174/1875318301909010084>
- Salomon, B. L., Leclerc, M., Tosello, J., Ronin, E., Piaggio, E., & Cohen, J. L. (2018). Tumor Necrosis Factor α and Regulatory T Cells in Oncoimmunology. *Frontiers in Immunology*, 9, 444. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00444>
- Sauvé, L., & Godmaire, H. (2004). Environmental Health Education: A Participatory Holistic Approach. *EcoHealth*, 1(2), SU35-SU46. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0080-z>
- Schaefer, S. (2007). Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 13(1), p14-p21. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i1.14>
- Schwarzer, G. (2007). meta: An R package for meta-analysis. *Rnews* 2007-3. page40
- Shunmugam, L., Ramharack, P., & Soliman, M. E. S. (2017). Road Map for the Structure-Based Design of Selective Covalent HCV NS3/4A Protease Inhibitors. *The Protein Journal*, 36(5), p397-p406. <https://doi.org/10.1007/s10930-017-9736-8>
- Simmonds, P. (1995). Variability of hepatitis C virus. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 21(2), p570-p583. <https://doi.org/10.1002/hep.1840210243>
- Simmonds, P., Bukh, J., Combet, C., Deléage, G., Enomoto, N., Feinstone, S., Halfon, P., Inchauspé, G., Kuiken, C., Maertens, G., Mizokami, M., Murphy, D. G., Okamoto, H., Pawlotsky, J.-M., Penin, F., Sablon, E., Shin-I, T., Stuyver, L. J., Thiel, H.-J., ... Widell, A. (2005). Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 42(4), p962-p973. <https://doi.org/10.1002/hep.20819>
- Soriano, V., Barreiro, P., Cachay, E., Kottlil, S., Fernandez-Montero, J. V., & de Mendoza, C. (2020). Advances in hepatitis B therapeutics. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 7, 2049936120965027. <https://doi.org/10.1177/2049936120965027>
- Spearman, C. W., Afihene, M., Ally, R., Apica, B., Awuku, Y., Cunha, L., Dusheiko, G., Gogela, N., Kassianides, C., Kew, M., Lam, P., Lesi, O., Lohouès-Kouacou, M.-J., Mbaye, P. S., Musabeyezu, E., Musau, B., Ojo, O., Rwegasha, J., Scholz, B., ... Sonderup, M. W. (2017). Hepatitis B in sub-Saharan Africa: Strategies to achieve the 2030 elimination targets. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2(12), p900-p909. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30295-9](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30295-9)
- Spearman, C. W., & Sonderup, M. W. (2015). Health disparities in liver disease in sub-Saharan Africa. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 35(9), p2063-p2071. <https://doi.org/10.1111/liv.12884>

- SPRINREACT. (2015a). *Détermination quantitative d'alanine amino transférase GPT (ALT)*. <http://www.spinreact.com>
- SPRINREACT. (2015b). Quantitative determination of aspartate aminotransferase GOT (AST). <http://www.spinreact.com>
- Stuart, J. D., Salinas, E., & Grakoui, A. (2021). Immune system control of hepatitis C virus infection. *Current Opinion in Virology*, 46, p36-p44.
- Sukowati, C. H., El-Khobar, K. E., Ie, S. I., Anfuso, B., Muljono, D. H., & Tiribelli, C. (2016). Significance of hepatitis virus infection in the oncogenic initiation of hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 22(4), p1497-p1512.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), p209-p249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tang, L. S. Y., Covert, E., Wilson, E., & Kottlil, S. (2018). Chronic Hepatitis B Infection: A Review. *JAMA*, 319(17), p1802-p1813. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.3795>
- Thi Vo, T., Poovorawan, K., Charoen, P., Soonthornworasiri, N., Nontprasert, A., Kittittrakul, C., Phumratanapapin, W., & Tangkijvanich, P. (2019). Association between Hepatitis B Surface Antigen Levels and the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis B Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 20(8), p2239-p2246.
- Tilg, H., Wilmer, A., Vogel, W., Herold, M., Nölchen, B., Judmaier, G., & Huber, C. (1992). Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 103(1), p264-p274. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)91122-k](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)91122-k)
- Tong, S., & Revill, P. (2016). Overview of viral replication and genetic variability. *Journal of hepatology*, 64(1 Suppl), p4-p16. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.01.027>
- Toyoda, M., Kakizaki, S., Horiguchi, N., Sato, K., Takayama, H., Takagi, H., Nagamine, T., & Mori, M. (2000). Role of serum soluble Fas/soluble Fas ligand and TNF-alpha on response to interferon-alpha therapy in chronic hepatitis C. *Liver*, 20(4), p305-p311. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0676.2000.020004305.x>
- Trinchieri, G., Pflanz, S., & Kastelein, R. A. (2003). The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity*, 19(5), p641-p644. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(03\)00296-6](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(03)00296-6)
- Tsague, M. K., Fotio, A. L., Bomgning, C. L. K., Nguefack-Tsague, G., Fopa, F., & Ngudefack, T. B. (2019). Prevalence of viral and non-viral hepatitis in Menoua Division, West

- Region, Cameroon: A retrospective hospital-based study. *The Pan African Medical Journal*, 32(212), Article 212. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.32.212.16495>
- Tsai, W.-L., Sun, W.-C., & Cheng, J.-S. (2015). Chronic Hepatitis B with Spontaneous Severe Acute Exacerbation. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), p28126-p28145. <https://doi.org/10.3390/ijms161226087>
- Tsukuda, S., & Watashi, K. (2020). Hepatitis B virus biology and life cycle. *Antiviral Research*, 182, 104925. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104925>
- Vancurova, I., & Zhu, Y. (Éds.). (2020). Immune Mediators in Cancer: Methods and Protocols (Vol. 2108). *Springer US*. <http://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-0247-8>
- Vogel, A., Martinelli, E., ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org, & ESMO Guidelines Committee. (2021). Updated treatment recommendations for hepatocellular carcinoma (HCC) from the ESMO Clinical Practice Guidelines. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 32(6), 801-805.
- Walic, M. (2010). Rôle des lipoprotéines associées au virus de l'hépatite C et des microtubules dans l'entrée du virus dans la cellule et l'établissement de l'infection. 276.
- Wang, B., Carey, I., Bruce, M., Montague, S., Dusheiko, G., & Agarwal, K. (2018). HBsAg and HBcrAg as predictors of HBeAg seroconversion in HBeAg-positive patients treated with nucleos(t)ide analogues. *Journal of Viral Hepatitis*, 25(8), p886-p893.
- Wang, J., Zhang, P., Liao, J., Zhu, Y., Liu, X., & Tang, H. (2021). Association of α -fetoprotein levels with liver stiffness measurement in outpatients with chronic hepatitis B. *Bioscience Reports*, 41(1), BSR20203048. <https://doi.org/10.1042/BSR20203048>
- Wei, H., Li, B., Sun, A., & Guo, F. (2019). Interleukin-10 Family Cytokines Immunobiology and Structure. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1172, p79-p96.
- WHO. (2021). *Hépatite B*. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
- Wonfo BioTech. (2017a). AFP Rapid Quantitative Test. *finecare-fia-meter-for-laboratory-use* AFP-Rapid-Quantitative-<http://www.finecare.com>
- Wonfo BioTech. (2017b). Finecare fia meter for laboratory use. *finecare-fia-meter-for-laboratory-use*. <http://www.finecare.com>
- World Health Organization. (2015). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. *World Health Organization*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305553/>

- World Health Organization. (2017). WHO guidelines on hepatitis B and C testing. *World Health Organization*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/254621>
- Xu, Y., Guo, Q., & Wei, L. (2021). The Emerging Influences of Alpha-Fetoprotein in the Tumorigenesis and Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Cancers*, 13(20), 5096. <https://doi.org/10.3390/cancers13205096>
- Yan, J., Smyth, M. J., & Teng, M. W. L. (2018). Interleukin (IL)-12 and IL-23 and Their Conflicting Roles in Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(7), a028530. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028530>
- Yang, J.-G., He, X.-F., Huang, B., Zhang, H.-A., & He, Y.-K. (2018). Rule of changes in serum GGT levels and GGT/ALT and AST/ALT ratios in primary hepatic carcinoma patients with different AFP levels. *Cancer Biomarkers*, 21(4), p743-p746.
- Youssef, A. A., Issa, H. A., Omar, M. Z., Behiry, E. G., Elfallah, A. A., Hasaneen, A., Darwish, M., & Ibrahim, D. B. (2018). Serum human endothelial cell-specific molecule-1 (endocan) and vascular endothelial growth factor in cirrhotic HCV patients with hepatocellular carcinoma as predictors of mortality. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, Volume 11, p431-p438. <https://doi.org/10.2147/CEG.S171339>
- Yuen, M.-F., Ahn, S. H., Chen, P.-J., Maddrey, W. C., Zoulim, F., & Lai, C.-L. (2016). Chronic Hepatitis B Virus Infection. *J Clin Gastroenterol*, 50(4), 9.
- Yvamoto, E. Y., Ferreira, R. F., Nogueira, V., Pinhel, M. A. S., Tenani, G. D., Andrade, J. G. S. C., Baitello, M. E. L., Gregório, M. L., Fucuta, P. S., Silva, R. F., Souza, D. R. S., & Silva, R. C. M. A. (2015). Influence of vascular endothelial growth factor and alpha-fetoprotein on hepatocellular carcinoma. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), p17453-p17462. <https://doi.org/10.4238/2015.December.21.16>
- Zhu, B., Lin, N., Zhang, M., Zhu, Y., Cheng, H., Chen, S., Ling, Y., Pan, W., & Xu, R. (2015). Activated hepatic stellate cells promote angiogenesis via interleukin-8 in hepatocellular carcinoma. *Journal of Translational Medicine*, 13, 365. <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0730-7>

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : outil d'évaluation du risque de biais dans les études de cohortes et des Cas Control

Newcastle – Ottawa Scale for case cohort studies	One star (1) / No star (0)
Selection	
1) Is the HCC case definition adequate?	1
2) Representativeness of the Cases ?	1
3) Selection of Controls ?	1
4) Definition of Controls ?	1
Comparability	
1) Patients with and without HCC paired for age?	1
2) Patients with and without HCC paired for any additional factor?	1
Exposure	
1) Laboratory confirmation of hepatitis virus infection	1
2) Hepatitis virus infection status ascertain by secure record or structured interview blind to case/control status?	1
3) Same method of ascertainment hepatitis infection for cases and controls?	1
4) Non-Response rate similar for cases and controls?	1
Total score	10
Interpretation of the two risks of bias tools	
7-10 : Low risk of bias 4-6 : Moderate risk of bias 0-3: High risk of bias	

Annexe 2 : Cytokines analysées

Cytokines pro-inflammatoires	
IL-2	Pro-tumorales
IL-6	
IL-12	
IL-15	
IL-17	
Cytokines anti-inflammatoires	
IL-4	Anti-tumorales
IL-10	
Interferons	
IFN- α	Antivirale
INF- γ	Réponse immunitaire contre de nombreux agents pathogènes
Facteurs de croissance	
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factors
GCSF	Granulocytes Colonies Stimulating Factor
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted

Annexe 3 : Valeurs de référence des cytokines chez les donneurs sains

Analyte	LLoQ (pg/mL) ¹	Median Endogenous (pg/mL) ²	Species ³	Sample Type ⁴	Sample volume (µL)	MTO or STOCK	Cat. No.
Akt1 (Ser473)	0.98	NA	H, M, R	L	varies ⁸	MTO	03-0100-01
Akt1 (total)	7.80	NA	H, M, R	L	varies ⁸	MTO	03-0099-01
Amyloid beta 1-40 ^{6,7}	5.86	Normal CSF: 1366; P: 152	H, M, R	C, P	5, 25	STOCK	03-0145-00
Amyloid beta 1-42 ^{6,7}	0.98	Normal CSF: 192; P: 15	H, M, R	C, P	5, 25	STOCK	03-0146-00
BDNF ^{6,7}	0.04	P: 783; S: 410; CSF: 0.13	H	C, P, S	100, 1, 1	STOCK	03-0171-00
cTnI ^{6,7}	0.69	P: 3.04; S: 3.02	H, Cy, R, C, GP	P, S	100	STOCK	03-0154-00
G-CSF	0.08	17	H	P	10	MTO	03-0047-00
GLP-1 (active)	0.40	3.46	H, M, R, C	P	100	MTO	03-0024-03
GLP-1 (total)	0.39	17.8	H, M, R, C	P	20	MTO	03-0025-06
Glucagon ^{6,7}	0.78	44	H, M, R	P	10	STOCK	03-0153-00
GM-CSF	0.02	0.2	H	P	100	MTO	03-0067-00
IFN-α ^{25,7}	0.031	P: 0.08; S: 0.08	H	P, S	100	STOCK	03-0186-00
IFN-β1 NEW	0.15	P: 0.35; S: 0.64	H	P, S	50	STOCK	03-0191-00
IFN-γ ^{6,7}	0.03	P: 1.4; S: 1.4	H	P, S	25	STOCK	03-0181-00
IL-1α ^{6,7}	0.12	P: 0.09; S: 0.10	H	P, S	100	STOCK	03-0167-00
IL-1β ^{6,7}	0.20	P: 0.11; S: 0.12	H	P, S	100	STOCK	03-0160-00
IL-2	0.05	0.21	H	P, S	100	MTO	03-0051-00
IL-21	0.20	0.53	H	S	50	MTO	03-0014-07
IL-22 ^{6,7}	0.10	P: 1.51; S: 1.52	H	P, S	25	STOCK	03-0162-00
IL-23 ^{6,7}	0.10	P: 0.65; S: 0.46	H	P, S	100	STOCK	03-0157-00
IL-4 ^{6,7}	0.04	P: 0.18; S: 0.18	H	P, S	100	STOCK	03-0161-00
IL-5 ^{6,7}	0.04	P: 0.37; S: 0.30	H	P, S	100	STOCK	03-0168-00
IL-6 ^{6,7}	0.08	P: 0.70; S: 0.69	H	P, S	75	STOCK	03-0155-00
IL-7	0.39	4.91	H	P, S	50	MTO	03-0094-00
IL-8 / CXCL8	0.24	3.6	H	P, S	50	MTO	03-0055-00
IL-10 ^{6,7}	0.10	P: 0.90; S: 0.89	H	P, S	100	STOCK	03-0176-00
IL-12p70 ^{6,7}	0.05	P: 0.29; S: 0.28	H	P, S	100	STOCK	03-0182-00
IL-13 ^{6,7}	0.04	P: 0.37; S: 0.33	H	P, S	100	STOCK	03-0156-00
IL-15	0.10	3.38	H	P, S	100	MTO	03-0058-00
IL-17A/F Heterodimer ^{6,7}	1.17	P: 1.36; S: 3.20	H	P, S	50	STOCK	03-0177-00
IL-17A ^{6,7}	0.07	P: 0.31; S: 0.30	H	P, S	50	STOCK	03-0159-00
IL-17F ^{6,7}	0.20	P: 1.10; S: 1.18	H	P, S	50	STOCK	03-0164-00
IL-18 ^{6,7} NEW	0.09	P: 138; S: 145	H	P, S	10	STOCK	03-0190-00
KIM-1 ⁵	3.91	P: 65; S: 75; U: 147	H	P, S, U	25, 25, 5	MTO	03-0118-00
MCP-1 ^{6,7}	0.15	P: 682; S: 1021	H	P, S	1.56	STOCK	03-0187-00
Tau(Thr181) ^{6,7} NEW	0.94	P: 3.4; S: 2.0; C: 21	H	P, S, C	50, 100, 25	STOCK	03-0184-00
TNFα	0.40	38.6	M	S	25	MTO	03-0108-00
TNFα ^{6,7}	0.20	P: 0.85; S: 0.78	H	P, S	100	STOCK	03-0163-00
TSLP ^{6,7}	1.56	P: 5.04; S: 3.86	H	P, S	100	MTO	03-0172-00
VEGF-A ^{6,7}	0.20	P: 48; S: 50	H	P, S	25	STOCK	03-0180-00
α-Synuclein(Ser129) ^{6,7} NEW	0.1	P: 2.74; S: 1.81; C: 0.64	H	P, S, C	20, 20, 50	STOCK	03-0188-00
SARS-CoV-2 RBD IgG NEW	NA ⁹	NA ⁹	H	P, S	2	STOCK	03-0193-00

¹ LLoQ: Lowest point on standard curve with CV < 20% and accuracy within 20% of expected values.

² Median Endogenous: Minimum of 10 samples from individual donors assessed for ability to quantify baseline biomarker values.

³ Optimized for first species type listed. Other listed species have been tested, but not optimized for peak performance.

Key: H=Human; M=Mouse; R=Rat; GP=Guinea Pig; Cy=Cynomolgus Monkey; C=Canine

⁴ Optimized for use in sample type(s) listed. Key: P=Plasma; S=Serum; L=Lysate; U=Urine; C=Cerebrospinal Fluid (CSF)

⁵ Plate-based assay.

⁶ Assay characteristic data is representative for both Erenna® and SMCxPRO™.

⁷ Streamlined format kit.

⁸ Sample volume varies based on dilution factor selected by user

⁹ Qualitative assay

Annexe 4 : Matériel utilisé

Matériel pour prélèvement	Matériel pour aliquotage et conservation	Matériel pour Immunochromatographie	Matériel pour quantification AFP	Matériel pour quantification transaminases
-Coton, -gants de soin, -sparadrap, -alcool à 70°C, -aiguilles vacutainer, -tube EDTA, -glacière et poubelles	-Pipettes Pasteur, -embouts à pipettes, -cryotubes, -centrifugeuse, -Eau de Javel, -Savon liquide -congélateur	-échantillon de plasma, -paires de gants d'examen, -micropipette, -pipette pasteur, -flacon de solution tampon, -alcool à 70° C, -chronomètre, -exemplaire du mode d'emploi, -TDR	-échantillon de plasma, -cartouche AFP, -tampon, -pipettes de transfert, -paires de gants d'examen, -alcool à 70°C, - micropipette, -Centrifuger, -Minuterie, -Manuel d'utilisation, -Automate <i>Finecare</i> ™ <i>FIA Meter</i>	-réactif ASAT et <i>alAT</i> - échantillon de plasma, -micropipette et embouts - automate - tube à essai -incubateur -paires de gants d'examen, -alcool à 70°C - exemplaire du mode d'emploi,

Matériel pour ELISA VHB

Microplaque : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps monoclonaux anti-HBs (souris)

Solution de lavage concentrée (20X) : Tampon tris, NaCl, pH = 7,4 Conservateur : ProClinTM 300 (0,04 %)

Contrôle négatif : Tampon Tris HCl, contenant de la SAB. Conservateur : ProClinTM 300 (0,1 %)

Contrôle positif (Humain) : Tampon Tris HCl, contenant de la SAB, additionné d'un mélange d'Ag HBs purifiés des sous-types ad et ay, (humains) Conservateur : ProClinTM 300 (0,1 %)

Diluant conjugué : Tampon Tris HCl pH 7.4 additionné de BSA, de Tween® 20, d'immunoglobulines de boeuf et de souris et d'un indicateur coloré témoin de dépôt Conservateurs : Ciprofloxacine (10 µg/ml), ProClinTM 300 (0,1 %)

Conjugué : Anticorps monoclonaux anti-HBs de souris et anticorps polyclonaux anti-HBs de chèvre couplé à la peroxydase. Lyophilisé.

Tampon substrat de la peroxydase : Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H₂O₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)

Chromogène (coloré en rose) : solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)

Solution d'arrêt : Solution d'acide sulfurique 1 N

Eau distillée.

Hypochloride de sodium (Eau de javel) et bicarbonate de soude.

Pipettes semi-automatiques réglables pouvant distribuer 50 µl, 100 µl, 1000 µl et 10 ml.

Eprouvettes graduées de 100 ml et 1000 ml.

Conteneur de déchets contaminés.

Bain-marie pouvant être thermostaté à 37°C ± 1°C.

Système de lavage manuel pour microplaque.

Appareil de lecture pour microplaques équipés de filtres 450, 490 et 620-700 nm.

Papier absorbant.

Matériel pour ELISA VHC

Microplaque : 12 barrettes sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capside du VHC, des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide de la région capsidique du VHC

Solution de lavage concentrée : Tampon Tris NaCl pH 7,4 Conservateur : ProClin™ 300 (0,04%)

Contrôle négatif : Tampon Tris HCl, contenant de la S.A.B. (albumine de sérum bovin) ; Conservateur : ProClin™ 300 (0,1%)

Contrôle positif : Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti VIH-1 et anti VIH-2 dilué dans un tampon Tris HCl contenant de la S.A.B. et inactivé photochimiquement Conservateur : ProClin™ 300 (0,1%)

Contrôle positif : Antigène positif synthétique de contrôle contenant un peptide de capsidique lyophilisé

Diluant du contrôle positif : Eau distillée contenant un conservateur : ProClin™ 300 (0,5 %)

Conjugué 1 : Anticorps monoclonal murin dirigé contre la capsidique du VHC marqué à la biotine. Coloré en violet. Conservateur : Azide de sodium (<0,1%), Cosmocil® CQ (0,025%)

Conjugué 2 : Anticorps murins anti-IgG humaines marqués à la peroxydase et streptavidine marquée à la peroxydase Coloré en vert. Conservateur : ProClin™ 300 (0,5 %)

Substrat : Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H₂O₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)

Chromogène (solution TMB) : Solution contenant du 3,3', 5,5'- tétraméthylbenzidine (TMB)

Solution d'arrêt : Solution d'acide sulfurique (H₂SO₄ 1N)

Eau distillée ou complètement déminéralisée.

Eau de javel et bicarbonate de soude.

Papier absorbant.

Films adhésifs.

Gants à usage unique.

Tubes à usage unique.

Pipettes semi-automatiques réglables 50 µl, 80 µl, 100 µl, 200 µl et 1 ml.

Eprouvettes graduées de 10 ml, 200 ml et 1 000 ml. Agitateur type vortex.

Système de lavage manuel pour microplaque.

Bain-marie, pouvant être thermostaté à 37°C ± 1°C.

Conteneur de déchets contaminés.

Appareil de lecture pour microplaques (équipés de filtres 490, 620, 450/620-700 nm).

Matériel pour quantification cytokines avec Luminex

Luminex Kit

Standard for Luminex assay.

Luminex diluent for standard (standard diluent for serum and plasma or cell culture medium for cell culture supernatant).

Luminex sample diluent (for serum and plasma).

Luminex assay buffer.

Luminex wash buffer.

Coupled magnetic beads (10X).

Detection antibodies (10X).

Detection antibody diluent.

Streptavidin-PE (100X).

Flat-bottom plate (96-well).

Sealing tape.

Equipment

Wash station (for use with magnetic bead-based assays).

Microtiter plate shaker.

Dual-laser flow-based plate reader including software for data acquisition and analysis.

Sonicator

Vortex mixer

Microcentrifuge

Luminex lab inter plate control reagent

Matériel pour gestion et analyse des données

-Cahier ; Crayons ; Clé USB ; Stylos ; Téléphone ; Ordinateur

Annexe 5 : Notice d'information

Titre de l'étude : *Dynamique entre biomarqueurs immunologiques et virologiques de l'infection VHB/VHC au carcinome hépatocellulaire*

Investigateur Principal : MBAGA Donatien Serge, Doctorant PhD, Université de Yaoundé I

Co-investigateurs :

Pr. RIWOM ESSAMA Sara Honorine, Maître de Conférences, Université de Yaoundé I

Dr NJIKI BIKOÏ Jacky, Chargé de Cours Université de Yaoundé I

Dr ATENGUENA OKOBALEMBA Etienne, Oncologue Médicale Hôpital Général de Yaoundé

Dr IKOMEY MONDINDE George, Chercheur Centre d'Etude et Contrôle des Maladies Transmissibles de la FMSB

Invitation à participer à une recherche scientifique d'ordre académique :

Monsieur/Madame, nous vous invitons à bien vouloir participer à l'étude portant sur la :

Dynamique entre biomarqueurs immunologiques et virologiques de l'infection VHB/VHC au carcinome hépatocellulaire

Objectifs de la recherche :

Objectif général

Etudier la dynamique de quelques des biomarqueurs et ressortir leur performance diagnostique de l'hépatopathie chronique au carcinome hépatocellulaire.

Objectifs spécifiques

- 1- Étudier le niveau d'association qui existe entre le VHB, le VHC et le développement du CHC en Afrique ;
- 2- Décrire le profil de quelques marqueurs virologiques, biochimiques et cytokiniques des participants à l'étude, associé aux paramètres socio-démographiques et cliniques ;
- 3- Étudier les corrélations des biomarqueurs analysés et leur performance diagnostique à travers une courbe ROC.

Participation volontaire et droit de refus

Votre participation à cette étude est purement volontaire, vous êtes libre de refuser de participer et aucun moyen de pression ne sera utilisé pour vous faire changer d'avis.

Période et population d'étude :

Notre étude s'étend sur 17 mois allant de Décembre 2020 à Avril 2022. Elle a pour population de l'étude, les patients adultes (âgés de plus de 21 ans) atteints d'hépatite virale chronique B et ou C, de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire sous hépatites virales B et ou C venus pour un suivi au service de hépato gastro-entérologie. Chaque patient candidat potentiel sera appelé dans le box de consultation, puis l'étude lui sera

expliquée, la notice d'information expliquée et remis pour lecture. Dans le cas où le patient candidat au recrutement accepte de participer à l'étude, une fiche de consentement sera d'abord signée entre le patient et le chercheur. Puis un personnel médical mobilisé dans le cadre de ces travaux prélèvera le patient consentant.

Procédure :

Une fois que vous avez consenti à participer à cette enquête, vous devez répondre à notre questionnaire. Les informations que nous recueillons sont entre autres votre âge, votre sexe, le type d'hépatite, le traitement soumis, la date de diagnostic de votre maladie, votre charge virale, vos informations cliniques (scarifications, alcool, fumeur, ascite, transfusion, antécédent chirurgicaux etc...).

Dans le cas où vous êtes âgé de 21 ans ou plus, vous devez remplir l'une des conditions suivantes.

Participants atteints de VHB	Participants atteints de VHC	Participants atteints de Cirrhose	Participants atteints de CHC
Positif aux Ag HBs sur deux prélèvements distants d'au moins 6 mois pour le VHB	Positif à l'ARN viral, sur deux prélèvements distants d'au moins 6 mois pour le VHC	Avoir une cirrhose et positif pour les VHB et ou VHC	Avoir un CHC et positif au VHB et ou VHC

Dans le cas contraire vous serez exclu de l'étude

Au cours de cette étude, nous prélevons des échantillons de sang (environ 5 ml de sang) ceci dans le but d'évaluer l'interaction entre les biomarqueurs immunologiques sécrétés par vos cellules immunitaires et les biomarqueurs virologiques produits par le ou les virus de l'hépatite B/C présents dans votre organisme. Les données collectées nous permettront de formuler les recommandations sur le développement de nouvelles stratégies de surveillance de l'évolution de votre maladie.

Devenir des échantillons et durée de conservation des échantillons :

Chaque tube de sang prélevé sera étiqueté par le code qui figure sur la fiche de collecte des données et conduit au Centre d'Etude et Contrôle des Maladies Transmissibles de la FMSB. Une fois au laboratoire, le sang sera centrifugé puis le plasma recueilli et séparé en trois aliquots. Le premier aliquot servira à la recherche par immunochromatographie les AgHBs (VHB) et les Anticorps VHC, Puis à la recherche par ELISA, l'AgHBs (VHB) et AgVHC/Ac-antiVHC (VHC). Le deuxième aliquot servira à quantification des biomarqueurs biochimiques (l'AFP et les transaminases) respectivement par immunochromatographie de fluorescence et par spectrophotométrie. Le troisième aliquot servira à la quantification par Luminex les biomarqueurs immunologiques suivants (**IL-2 ; IL-4 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12 ; IL-15 ; IL-17A ; IFN α 2 ; IFN γ ; VEGF ; G-CSF ; RANTES**). Les restes seront détruits à la fin de la recherche en respectant toutes les règles de biosécurité applicables pendant l'élimination des échantillons biologiques. Toutes les informations et données recueillies sur le terrain seront tenues confidentielles et les résultats anonymés lors des publications. Cependant, si vous avez des questions, n'hésitez pas à nous les poser.

Considérations éthiques

Risques potentiels

Pendant le prélèvement, le patient encourt le risque : Hématome ; Malaise ; Piqûre du nerf médian ; Douleur. Tout au long de cette étude, les chercheurs et personnel médical s'exposent à la contamination par le VHB, VHC ; VHD et ou VIH.

Bénéfices

Pour le patient

En acceptant participer à cette étude, aucun bénéfice matériel ou financier ne vous sera accordé, mais vous contribuez largement à l'édification et l'évolution de la science dans notre pays.

Pour le chercheur

Ce travail de recherche est purement d'ordre académique et n'a reçu aucun financement d'un organisme national ou international. Le chercheur mène cette étude dans le cadre de ces travaux de Doctorat/PhD. Le bénéfice qu'il tire de cette étude est sa formation en tant que chercheur, la soutenance de sa thèse de Doctorat/PhD et la publication des résultats de cette étude.

Mesures prises pour la confidentialité des données et la vie privée des participants

Chaque participant devra donner son consentement signé. Chaque tube de sang sera étiqueté par le code qui figure sur la fiche de collecte des données. Toutes les informations et données recueillies sur le terrain seront tenues confidentielles et les résultats anonymés lors des publications.

Dans le souci du respect de l'éthique de la recherche médicale, nous allons entreprendre une démarche administrative dans l'objectif d'obtenir :

Une autorisation de collecte des données délivrée par l'HGY et CHUY ;

Une autorisation de la clarence d'éthique du Comité National d'Ethique pour la Recherche et la Santé Humaine (CNERSH).

Coût de l'étude :

Aucune contribution financière ne vous sera exigée. Aucune indemnité ou compensation financière ne vous sera versée en cas d'hématomes, malaise, piqûre du nerf médian. Mais vous bénéficierez d'un accompagnement moral d'un personnel de santé mobilisé pour la circonstance le cas échéant.

Merci,

Annexes 6 : consentement éclairé

CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ

Je soussigné, Mr/Mme/Mlle ... [Signature]

Avoir été invité à participer au travail de recherche intitulé : *Dynamique entre biomarqueurs immunologiques et virologiques de l'infection VHB/VHC au carcinome hépatocellulaire*

Dont l'investigateur Principal s'appelle **Mbaga Donatien Serge**, Tel + 237 697478581

Je reconnais avoir bien compris le but de l'étude, la procédure et les précautions prises par le personnel médical pour me tenir hors de danger. J'ai bien compris la notice d'information qui m'a été remise concernant cette étude. J'ai reçu toutes les réponses aux questions que j'ai posées. Les risques et bénéfices m'ont été présentés et expliqués. J'ai bien compris que je suis libre d'accepter ou de refuser d'y participer, de retirer mon consentement sans encourir aucun préjudice.

« Mon consentement ne décharge pas les investigateurs de la recherche de leurs responsabilités, je conserve tous mes droits garantis par la loi »

J'accepte librement de participer à cette étude dans les conditions précisées dans la notice d'information, c'est -à-dire

De répondre aux questions d'enquête

De communiquer les informations médicales

De donner 5ml de mon sang

Nom et signature du chercheur

Mbaga Donatien Serge

Tel : +237 697478581

Signature du patient

[Signature]

INFORMED CONSENT

I, the undersigned, Mr / ~~Mrs~~ / ~~Miss~~   

Have been invited to participate in the research work entitled: **Dynamics Between immunological and virological biomarkers in patients with chronic HBV / HCV infection and those with hepatocellular carcinoma**

Whose Principal Investigator is called Mbaga Donatien Serge, Tel + 237 697478581

I acknowledge that I have fully understood the purpose of the study, the procedure and the precautions taken by the medical staff to keep me out of danger. I have understood the information leaflet given to me concerning this study. I received all the answers to the questions I asked. The risks and benefits were presented to me and explained to me. I have understood that I am free to accept or refuse to participate, to withdraw my consent without incurring any prejudice.

"My consent does not relieve the research investigators of their responsibilities; I retain all my rights guaranteed by law"

I freely agree to participate in this study under the conditions specified in the information notice, that is to say

Answer survey questions 

Communicate medical information 

To donate 5ml of my blood 

Name and signature of researcher

Mbaga Donatien Serge

Tel : +237 697478581



Name and signature of patient



Annexe 7 : Fiche de collecte des données

FICHE DE COLLECTE DES DONNEES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES, CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

Thème : Dynamique des biomarqueurs immunologiques, virologiques et biochimiques de l'hépatite chronique au carcinome hépatocellulaire

Nom du patient : M + [redacted]

CODE : 0017 célibataire

Types d'infections virales :	VHB :	VHC :	Outils de diagnostic	Traitement
Hépatite				
Cirrhose		X	Scanner Biochimie	So JosbuVir Ribavirine
Carcinome Hépatocellulaire				
Date de dépistage :				

VARIABLES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES

Age	38 ans
Sexe	Masculin

VARIABLES CLINIQUES

Scarifications ou tatouage	:	Oui	Non	X
Alcool	:	Oui	Non	X
Fumeur	:	Oui	Non	X
Transfusion	:	Oui	Non	X
Antécédant chirurgicaux	:	Oui	Non	X
Vaccination VHB	:	Oui	Non	X

VARIABLES BIOLOGIQUES

Biomarqueurs hépatiques (fonction hépatique) :

Marqueurs hépatiques	UI/l	
	Valeur	Valeur normale
ASAT (GOT)	45	10 - 50 UI/l
ALAT (GPT)	61	17 - 59 UI/l
AFP	75 ng/ml	0 - 20 ng/ml

Biomarqueurs virologiques

Marqueurs virologiques		UI/ml U/ml	copie/ml U/ml
VHB	ADN		/
	Ag HBs		/
VHC	ARN		9,1
	AgVHC/Ac anti-VHC		+
Génotypes		4a	

Annexe 8 : Autorisation Hôpital Général de Yaoundé

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix - Travail - Patrie

MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE

HOPITAL GENERAL DE YAOUNDE

DIRECTION GENERALE

BP 5408 YAOUNDE - CAMEROUN
Tél : (237) 22 21 31 81 FAX : (237) 22 21 20 15.

N/Réf. : **213-21** /HGY/DG/DPM/MA-TR.



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace - Work - Fatherland

MINISTRY OF PUBLIC HEALTH

YAOUNDE GENERAL HOSPITAL

GENERAL MANAGEMENT DEPARTMENT

Yaoundé, le **11 NOV. 2021**

Le Directeur Général

A/TO

Monsieur MBAGA Donatien Serge
Doctorant/PhD, Microbiologie Médicale
Mle : 10Q0345 Tél : (237) 697 478 851
UNIVERSITE DE YAOUNDE I

Objet/subject :

V/demande d'autorisations de recherches.

Monsieur,

Faisant suite à votre courrier du 18 octobre 2021 relatif à l'objet porté en marge,

Nous marquons un avis favorable pour vos travaux de recherches au Service de GASTRO-ENTEROLOGIE de l'Hôpital Général de Yaoundé pour votre étude intitulée « Dynamique entre biomarqueurs immunologiques et virologiques de l'infection VHB/VHC au carcinome hépatocellulaire à l'Hôpital Général de Yaoundé ».

Cette étude sera encadrée par le Docteur TALLA Paul, médecin Gastro-Entérologue.

Pendant la durée des recherches, vous devez vous conformer au règlement intérieur de la formation hospitalière. Toutefois, les publications se rapportant à ce travail devraient inclure les médecins de l'Hôpital Général de Yaoundé.

Recevez, Monsieur, nos salutations distinguées./-

Ampliations :

- DPM
- Chef service Gastro-Entérologie
- Archives/chrono.



Le Directeur Général,

Prof. EYENGA Victor

Annexe 9 : Autorisation du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé

REPUBLIQUE DU CAMEROUN Paix – Travail – Patrie ----- MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE -----  YAOUNDE	REPUBLIC OF CAMEROON Peace – Work – Fatherland ----- MINISTRY OF PUBLIC HEALTH ----- CENTRE HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE DE YAOUNDE YAOUNDE UNIVERSITY TEACHING HOSPITAL Tél. : 22 31 25 66 Fax 22 31 25 67 Site web : www.chu-yaounde.org DIRECTION GENERALE CELLULE D'APPUI PEDAGOGIQUE, DE LA RECHERCHE ET DE LA COOPERATION BUREAU DE LA CAPRC
---	--

N° 2235/AR/CHUY/DG/DGA/CAPRC

AUTORISATION DE RECHERCHE

Dans le cadre de la rédaction de sa thèse, en vue de l'obtention de son doctorat PhD Microbiologie, Monsieur MBAGA Donatien Serge est autorisé à mener des travaux de recherche au CHUY sur le thème : « DYNAMIQUE DES BIOMARQUEURS IMMUNOLOGIQUES ET VIROLOGIQUES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'HEPATOPATHIES CHRONIQUES ET CARCINOME HEPATOCELLULAIRES AU CHUY »

Ces travaux se dérouleront en Médecine sous la supervision du chef de service.

Toutefois, il devra obligatoirement déposer un exemplaire de son mémoire au CHUY (bureau de la CAPRC).

En foi de quoi la présente autorisation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit./-

COPIE :

- CAPRC
- BSF
- SUPERVISEUR
- CHRONO

Pour le Directeur Général
du CHU-YAOUNDE
et par Délégation Yaoundé, le **07 DEC 2020**



LE DIRECTEUR GENERAL

F. Nkomo Eryne - MD.
Psychiatre / Pédopsychiatre
Expert en Santé Mentale Adulte

Annexe 10 : Autorisation du Centre d'Etude et Contrôle des Maladies Transmissibles

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie
UNIVERSITE DE YAOUNDE I
CENTRE POUR L'ETUDE ET CONTRÔLE
DES MALADIES TRANSMISSIBLES
FACULTE DE MEDECINE ET SCIENCES
BIOMEDICALES



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace- Work- Fatherland
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I
CENTRE FOR THE STUDY AND CONTROL
OF COMMUNICABLE DISEASES
FACULTY OF MEDICINE AND BIOMEDICAL
SCIENCES

Yaoundé, le 10 /12/2020

Le Responsable

A

Monsieur MBAGA Donatien Serge Etudiant
en Doctorat PhD Microbiologie Médicale
Tel : 697 47 85 81
Université de Yaoundé I

Objet : Autorisation de stockage et analyse d'échantillons sanguins

Monsieur,

Faisant suite à votre demande relative à l'objet repris en marge,

Nous marquons notre accord pour le stockage et analyse d'échantillons sanguins au Centre pour l'Etude et Contrôle des Maladies Transmissibles (FMBS/UYI), afin d'y obtenir les données probantes pour votre thèse de doctorat PhD portant sur le thème : "Dynamique entre biomarqueurs immunologiques et virologiques chez les patients atteints hépatopathies chroniques et carcinome hépatocellulaire au Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé" sous la supervision du Docteur IKOMEY MONDINDE George

Pendant la durée de vos travaux, vous devez vous conformer au règlement intérieur de l'établissement. Toutefois, les publications se rapportant à ce travail devraient inclure les chercheurs du Centre pour l'Etude et Contrôle des Maladies Transmissibles.

Recevez, Monsieur, nos salutations distinguées.



Annexe 11 : Clairance Ethique

Centre de Recherche et Formation Doctorale, Science de la Vie, Santé et Environnement (CRFD-SVSE)
Centre for Research and Graduate Studies in Life, Health & Environment Sciences
University of Yaoundé I (UYI)



Joint Institutional Review Board for Animal & Human Bioethics (JIRB)
Email: jirbsecretariat@gmail.com

7 September 2022

Mbaga Donatien Serge
University of Yaoundé 1, Faculty of Science
Department of Microbiology

Ethical Clearance Reference N°: BTC-JIRB2022-044 (please use this reference number for all correspondences)

Protocol Title: « Dynamique entre biomarqueurs immunologiques et virologiques de l'infection VHB/VHC au carcinome hépatocellulaire à l'Hôpital Général de Yaoundé »

Investigator(s) Name(s): Mbaga Donatien Serge, Ph.D. Student; Prof. Riwoom Essama Sara Honorine & Dr. Njiki Bikoï Jacky, Supervisors.

The proposed research protocol and related documents have been reviewed and deliberated by the JIRB of the Centre for Research and Graduate Studies in Life, Health & Environment Sciences (CRFD-SVSE) at the Biotechnology Centre, University of Yaoundé 1, on the 24th of June 2022.

The JIRB is satisfied with the current version of the research protocol and supporting documents, and agreed that there is no objection on ethical grounds to the proposed study. The JIRB is therefore pleased to grant approval on the consideration that the research team will strictly abide by the conditions of the approval below:

- Investigators must strictly follow the plan of the approved protocol. Any changes to the approved protocol will require prior JIRB approval.
- Must be promptly reported to the JIRB: (1) Any deviations from or changes to the protocol that are made to eliminate immediate hazards to the fauna or study participant; (2) All risks that may be rare or remote and especially those that may entail serious consequences or compromise potential benefits or that would affect the conduct of the research.
- Must prepare and submit a standard progress report of the research to the JIRB at completion or one year from the date of issuance of the approval letter and thereafter, on an annual basis.
- Must notify the JIRB when the research is completed. Failure to submit an annual progress report on the study may affect the conditions of approval.

The current ethical clearance is for one-year renewable, on the condition that a progress report is submitted to the JIRB.

While the JIRB has given its approval for this study on a satisfactory ethical basis, it is still necessary for the investigators to obtain ethical approval from the Centre Regional Ethics Committee..

Sincerely,


Professor Wilfred F. Mbacham
Coordinator of the CRFD-SVSE
Chair of JIRB
Dr. Wilfred Mbacham, ScD
Public Health Biotechnologist




Ass. Prof. Marceline Djuidje Ngounou
Coordinator for Animal Research Bioethics, Faculty of Science, UYI
Marceline Djuidje Ngounou, Ph.D.
Associate Professor, University of Yaoundé I
Fulbright Scholar Alumna, Yale University, USA

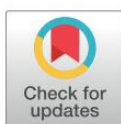
Annexe 12 : Publications issues de la thèse

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Hepatitis B, C and D virus infections and risk of hepatocellular carcinoma in Africa: A meta-analysis including sensitivity analyses for studies comparable for confounders

Donatien Serge Mbaga^{1*}, Sebastien Kenmoe^{2*}, Cyprien Kengne-Ndé³, Jean Thierry Ebogo-Belobo⁴, Gadji Mahamat¹, Joseph Rodrigue Foe-Essomba⁵, Marie Amougou-Atsama⁶, Serges Tchatchouang⁷, Inès Nyebe¹, Alfloditte Flore Feudjio⁸, Ginette Irma Kame-Ngasse⁴, Jeannette Nina Magoudjou-Pekam⁸, Lorraine K. M. Fokou⁸, Dowbiss Meta-Djoms⁹, Martin Maïdadi-Foudi⁶, Sabine Aimee Touangnou-Chamda¹, Audrey Gaelle Daha-Tchoffo⁹, Abdel Aziz Selly-Ngaloumo⁸, Rachel Audrey Nayang-Mundo¹⁰, Jacqueline Félicité Yéngué¹¹, Jean Bosco Taya-Fokou¹, Raoul Kenfack-Momo⁸, Efietngab Atembeh Noura⁴, Cynthia Paola Demeni Emoh¹, Hervé Raoul Tazokong¹, Arnol Bowo-Ngandji¹, Carole Stéphanie Sake¹, Etienne Atenguena Okobalemba¹², Jacky Njiki Biko¹, Richard Njoum², Sara Honorine Riwom Essama¹



OPEN ACCESS

Citation: Mbaga DS, Kenmoe S, Kengne-Ndé C, Ebogo-Belobo JT, Mahamat G, Foe-Essomba JR, et al. (2022) Hepatitis B, C and D virus infections and risk of hepatocellular carcinoma in Africa: A meta-analysis including sensitivity analyses for studies comparable for confounders. PLoS ONE 17(1): e0262903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903>

Editor: Do Young Kim, Yonsei University College of Medicine, REPUBLIC OF KOREA

Received: March 20, 2021

Accepted: January 9, 2022

Published: January 21, 2022

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903>

Copyright: © 2022 Mbaga et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

1 Department of Microbiology, The University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon, **2** Virology Department, Centre Pasteur of Cameroon, Yaoundé, Cameroon, **3** Evaluation and Research Unit, National AIDS Control Committee, Yaoundé, Cameroon, **4** Medical Research Centre, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, Yaoundé, Cameroon, **5** Department of Mycobacteriology, Centre Pasteur of Cameroon, Yaoundé, Cameroon, **6** Centre de Recherche sur les Maladies Émergentes et Re-Émergentes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, Yaoundé, Cameroon, **7** Bacteriology Department, Centre Pasteur of Cameroon, Yaoundé, Cameroon, **8** Department of Biochemistry, The University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon, **9** Department of Medical Biochemistry, The University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon, **10** Department of Microbiology, Protestant University of Central Africa, Yaoundé, Cameroon, **11** Department of Animals Biology and Physiology, The University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon, **12** Faculty of Medicine and Biomedical Science, The University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon

* mbaga2015.mds@gmail.com (DSM); sebastien.kenmoe@ubuea.cm (SK)

Abstract

Introduction

Africa denotes unique facies for hepatocellular carcinoma (HCC) characterized by a conjunction of low sensitization, restricted access to diagnosis and treatment and associated with the highest incidence and mortality in the world. We investigated whether hepatitis B (HBV), C (HCV) and D (VHD) viruses were etiological agents of HCC in Africa.

Methods

Relevant articles were searched in PubMed, Web of Science, African Index Medicus, and African Journal Online databases, as well as manual searches in relevant reviews and included articles. Analytical studies from Africa evaluating the association between HCC development and HBV, HCV, and HDV were included. Relevant studies were selected, data extracted, and the risk of bias assessed independently by at least 2 investigators. The association was estimated using odds ratios (OR) and their 95% confidence interval (95% CI)

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its [Supporting Information](#) files.

Funding: This project is part of the EDCTP2 programme supported by the European Union under grant agreement TMA2019PF-2705. "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.

determined by a random-effects model. Sources of heterogeneity were determined by subgroup analyses.

Results

A total of 36 case-control studies were included. With controls having non-hepatic disease, the overall results suggested a significantly increased risk of HCC in patients with HBV (HBeAg (OR = 19.9; 95% CI = [3.7–105.2]), HBsAg (OR = 9.9; 95% CI = [6.2–15.6]) and DNA (OR = 8.9; 95% CI = [5.9–13.4]); HCV (Anti-HCV (OR = 9.4; 95% CI = [6.3–14.0]) and RNA (OR = 16.5; 95% CI = [7.8–34.6]); HDV (Anti-VHD, (OR = 25.8; 95% CI = [5.9–112.2]); and HBV/HCV coinfections (HBV DNA/HCV RNA (OR = 22.5; 95% CI = [1.3–387.8])). With apparently healthy controls, the overall results suggested a significantly increased risk of HCC in patients with HBV (HBsAg, (OR = 8.9; 95% CI = [6.0–13.0]); HCV (Anti-HCV, (OR = 7.7; 95% CI = [5.6–10.6]); and HBV/HCV coinfections (HBsAg/Anti-HCV (OR = 7.8; 95% CI = [4.4–13.6])). Substantial heterogeneity and the absence of publication bias were recorded for these results.

Conclusions

In Africa, HBV/HCV coinfections and HBV, HCV, and HDV infections are associated with an increased risk of developing HCC. The implementation of large-scale longitudinal and prospective studies including healthy participants to search for early biomarkers of the risk of progression to HCC is urgently needed.

Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common cancer and the third leading cause of death due to malignancy worldwide [1]. HCC incidence is continuing increasing with more than 900 thousand new cases and as many deaths recorded worldwide in 2020 [2]. HCC rates vary widely across the world with the greatest burden reported in Southeast Asia, East Asia, and sub-Saharan Africa [1]. Almost 80% of the morbidity and mortality due to HCC is attributed to developing countries [3].

Hepatitis B Virus (HBV) and Hepatitis C Virus (HCV) are the main etiologic agents of HCC [4, 5]. More than half of the HCC cases are attributable to HBV while about 25% are attributable to HCV. Controversial results have been reported on the increased risk of HBV/HCV coinfections compared to HBV or HCV mono-infections [6–9]. The role of Hepatitis D Virus (HDV) and occult hepatitis B in the development of HCC has also been demonstrated [10, 11]. The etiological factors of HCC vary considerably across regions of the world and indicate a strong disparity in the distribution of incidences of HCC [12]. The areas of high HBV prevalence are also those with the highest rates of HCC. Africa, which is a region with a high endemicity for HBV, thus has the highest incidences of HCC with more than 15 incident cases per 100 thousand inhabitants [13–16]. Key reviews, which included very few African studies, reported the importance of genotyping and mutations of interleukin-6 and HBV as biomarkers for early identification of the risk of progression to HCC [17–19]. Africa is a unique region plagued by limited awareness, late diagnosis, and limited access to care and treatment for HCC [20]. The critical burden of HCC in Africa is mostly related to late diagnosis and limited access to treatment [21–23]. A precise synthesis on the roles of the main HCC viral etiological factors

(HBV, HCV, and HDV) would be important to enlighten health decision makers on preventive and early diagnosis methods specific for the African region.

We conducted a systematic review to determine whether HBV, HCV, HDV infections and HBV/HCV coinfections are associated with an increased risk of developing HCC in Africa.

Methods

Literature search

Electronic literature search was performed for studies published from databases inception through February 2020 and updated in March 2021. Searches were conducted in Pubmed, Web of Science, African Index Medicus, and African Journal Online. The strategy included the keyword combination for exposure (HBV, HCV and HDV), outcome (HCC) and context (Africa) ([S1 Table](#)). Additional potentially relevant studies were searched manually from the reference list of included articles and relevant reviews. The protocol for this review was declared in the international PROSPERO database (CRD42020181381) and complied with the PRISMA guidelines ([S2 Table](#)).

Inclusion and exclusion criteria

Regardless of antiviral therapy status, comparative studies (clinical trials, cohort, and case control) examining the relationship between infection with HBV, HCV, HDV, and HBV/HCV coinfections and the risk of developing HCC were considered relevant for this review. Only studies in French or English conducted in Africa were considered. We considered all types of HCC diagnosed by clinical, histological, biochemical, and radiological approaches. The controls were apparently healthy people, people with non-hepatic diseases, people with liver cirrhosis, and people with hepatic diseases other than liver cirrhosis (other liver diseases). All the detection techniques for HBV (HBsAg, HBeAg and HBV DNA), HCV (anti-HCV antibodies and HCV RNA) and HDV (anti-HDV antibodies, AgHDV and HDV RNA) infection markers were considered. Studies excluded were those without control groups, with participant selection bias, with no full text and/or abstracts available, conducted outside of Africa, duplicates, case reports, and reviews.

Selection, data extraction and risk of bias assessment of included studies

Studies were selected on the basis of a title/abstract screening according to the study inclusion criteria. Full texts of selected studies were reviewed to validate eligibility and data extracted from included studies. Data retrieved were name of first author, year of publication, study design, sampling approach, timing of testing for hepatitis virus infection (retrospective/prospective), country, UNSD region, country income level, period of recruitment of study participants, study context (rural/urban and community/hospital). We also collected inclusion criteria of participants, the definition of HCC, the inclusion criteria for controls, socio-demographic confounding factors, other non-viral confounding factors known to be associated with the risk of HCC, biochemical parameters of liver, type of hepatic virus (HBV, HCV or HDV), the hepatitis virus detection method, the marker searched for the detection of hepatitis virus, the number of participants and controls and the number of exposed and unexposed subjects. Data for the assessment of individual risk of bias of studies using the Newcastle-Ottawa method ([S3 Table](#)). Discussion and consensus were used to resolve issues in the event of disagreements between investigators.

Statistical analysis

The parameters used to estimate the association between viral hepatitis and the risk of developing hepatocellular carcinoma were odds ratios (OR) and the corresponding to 95% confidence intervals determined by random effect meta-analysis [24]. Quantitative analysis was performed using the packages "meta" and "metafor" of R software version 4.0.3 software [25, 26]. Heterogeneity was assessed for each analysis using Cochrane's Q-test and I^2 measurement [27]. P value ≤ 0.10 or $I^2 \geq 50\%$ indicates significant heterogeneity. The publication bias was examined by the Egger test and funnel plot, and P value ≤ 0.10 indicate the presence of a publication bias [28]. Sensitivity analysis was performed to evaluate the validity and reliability of overall results on studies with low risk of bias and those comparable for confounding factors [29].

Results

Study selection

The article selection process is presented in Fig 1. A total of 5469 articles were identified from our electronic literature search and 21 manually from the reviewed bibliography. We excluded 1299 duplicates, 4076 based on title and abstract screening, and 79 for various reasons including wrong study population or design and unavailable article full texts (S4 Table). We thus had a total of 36 studies (114 effect data) that fit the inclusion criteria for this review [30–65].

Included studies characteristics

Bias assessment scores ranged from 3 to 9 and the median was 8 [IQR = 6–8]. Out of the 114-effect data, 75 (65.7%) were of low risk of bias, 37 (32.4%) of moderate risk of bias and 2 (1.7) of high risk of bias. The risk of bias of the effect data is shown in S5 Table. Participants in the included studies were recruited between 1981 and 2015 and studies published between 1975 and 2020 (S6 Table). All effect data included in this meta-analysis had a case-control design and the majority had non-probability sampling (105/114). No study was representative of a national population. Collection of data on hepatitis status was prospective in half of the effect data (56/114). Most of the effect data came from West Africa (52/114) and North Africa (27/114). Most of the included effects data were from The Gambia (19/114), Egypt (18/114) and South Africa (14/114). Half of the effect data came from low-middle income countries (57/114). None of the included study authors stated that the study was conducted in a rural area and most were in a hospital setting (89/114). Controls in effect data were predominantly people with non-hepatic disease, mostly matched for age and gender. Sixty-two effect data were for HBV, 35 for HCV, 12 for HDV and 5 for HBV/HCV coinfection. The majority of the effect data used multiple HCC diagnostic approach including clinical, biochemical, radiological and histological methods (79/114). More than half of the effect data had confirmed HCC histologically (70/114). The most widely used hepatitis virus detection techniques were radioimmunoassay (26/114), indirect (24/114) and direct (19/114) Enzyme Linked Immunosorbent Assay, and Enzyme immunoassay (16/114). The HBV (HBeAg, HBsAg and DNA), HCV (Anti-HCV and RNA) and HDV (HDV Ag, Anti HDV and RNA) markers studies used 4 types of controls including apparently healthy controls, controls with non-hepatic diseases, controls with cirrhosis of the liver and controls with other liver diseases. The most represented markers were HBsAg (48/114), Anti-HCV (33/114) and Ag Delta (8/114) for HBV, HCV and HDV respectively. The primary characteristics of the endpoint data are presented in S7 Table.

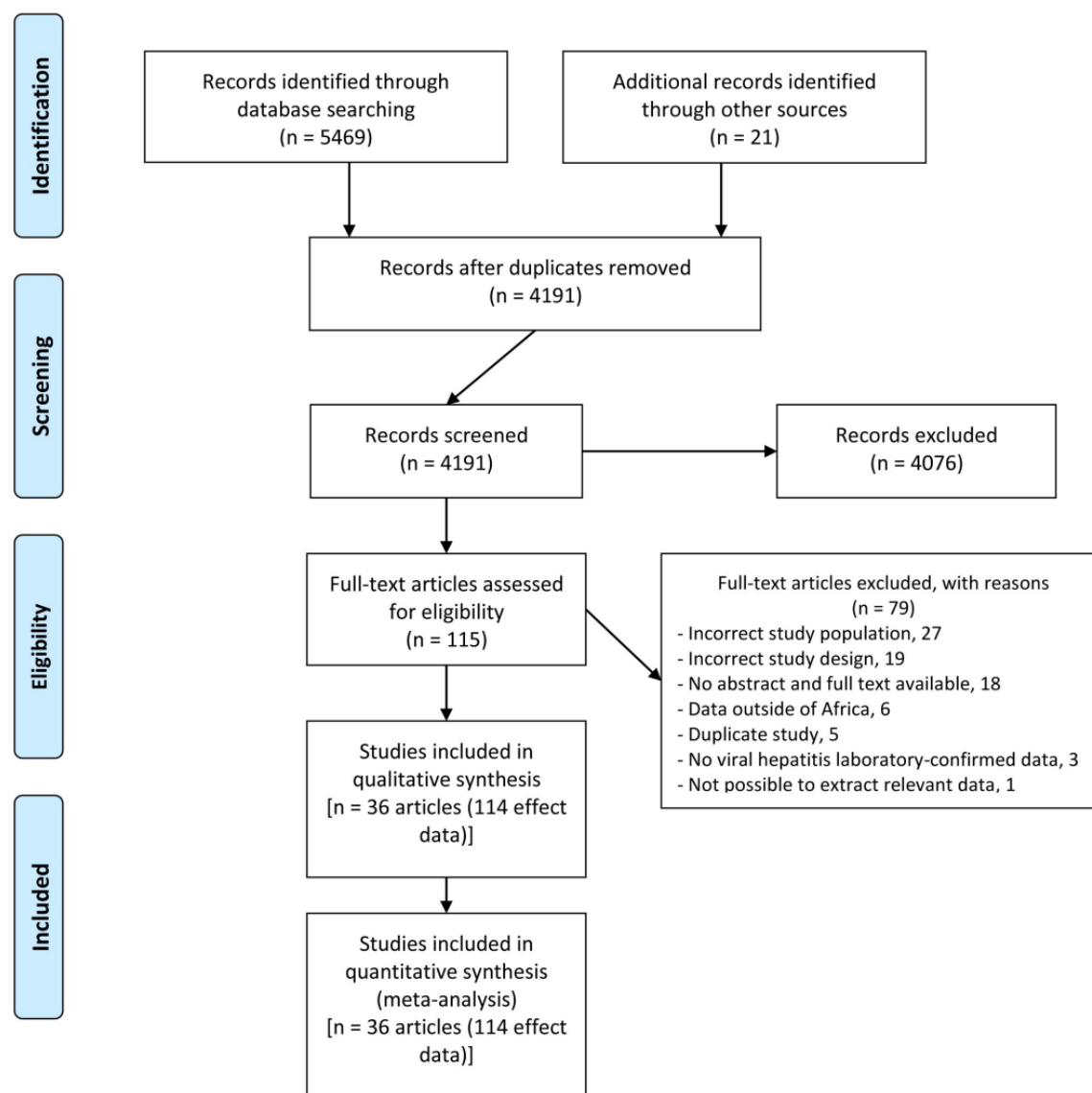


Fig 1. PRISMA flow-chart of studies selected for the meta-analysis.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903.g001>

Meta-analysis Hepatitis B Virus

HBsAg (OR = 19.9; 95% CI = [3.7–105.2]), HBsAg (OR = 9.9; 95% CI = [6.2–15.6]) and DNA (OR = 8.9; 95% CI = [5.9–13.4]) for HBV were associated with an increased risk of developing HCC with controls with non-hepatic disease (Fig 2). HBsAg was further associated with an

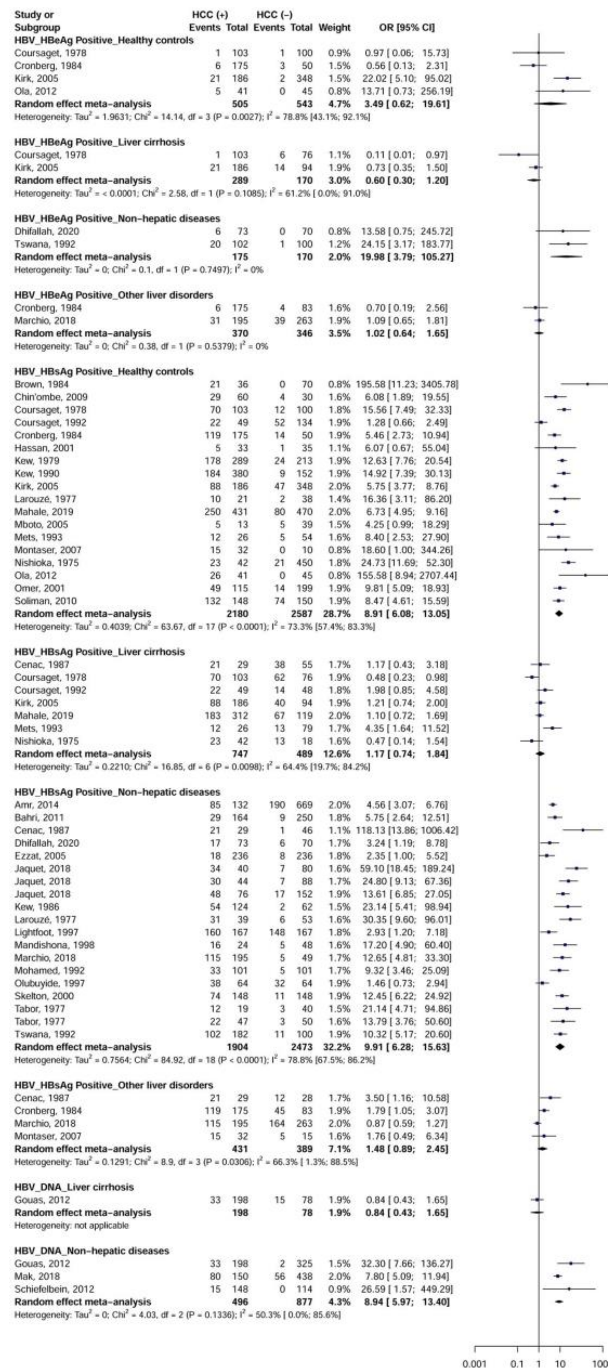


Fig 2. Association between Hepatitis B Virus infection and risk of hepatocellular carcinoma in Africa.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903.g002>

increased risk of developing HCC in apparently healthy controls (OR = 8.9; 95% CI = [6.0–13.0]). No significant difference was observed for HBeAg with apparently healthy controls (OR = 3.4; 95% CI = [0.6–19.6]), controls with liver cirrhosis (OR = 0.6; 95% CI = [0.3–1.2]), and controls with other liver diseases (OR = 1.0; 95% CI = [0.6–1.6]). No significant difference was observed for HBsAg with controls with liver cirrhosis (OR = 1.1; 95% CI = [0.7–1.8]) and controls with other liver diseases (OR = 1.4; 95% CI = [0.8–2.4]). No significant difference was observed for HBV DNA in a study of control with liver cirrhosis (OR = 0.8; 95% CI = [0.4–1.6]). For categories with 3 or more effect data, heterogeneity was significant ($I^2 > 50\%$) for all analyses according to the types of HBV marker and controls.

Meta-analysis Hepatitis C Virus

Anti-HCV (OR = 9.4; 95% CI = [6.3–14.0]) and RNA (OR = 16.5; 95% CI = [7.8–34.6]) of HCV were associated with increased risk of developing HCC with controls with non-hepatic disease (Fig 3). Anti-HCV was also associated with an increased risk of developing HCC in apparently healthy controls (OR = 7.7; 95% CI = [5.6–10.6]). There were no studies of HCV RNA with apparently healthy individuals, controls with cirrhosis of the liver, and those with other liver diseases. No significant difference was observed for anti-HCV with controls with liver cirrhosis (OR = 1.9; 95% CI = [0.9–3.8]) and controls with other liver diseases (OR = 1.1; 95% CI = [0.7–1.7]). For categories with 3 or more outcome data, with the exception of anti-HCV with apparently healthy controls, heterogeneity was significant ($I^2 > 50\%$) for the rest of the analyzes by type of marker HCV and controls.

Meta-analysis Hepatitis B Virus/Hepatitis C Virus co-infections

HBV DNA/HCV RNA (OR = 22.5; 95% CI = [1.3–387.8]) of HBV/HCV coinfection were associated with an increased risk of developing HCC with controls with non-hepatic disease (Fig 4). HBsAg/anti-HCV (OR = 7.8; 95% CI = [4.4–13.6]) of HBV/HCV coinfection were associated with an increased risk of developing HCC with apparently healthy controls. No significant difference was observed for HBsAg/anti-HCV with controls with non-hepatic diseases (OR = 1.8; 95% CI = [0.5–6.6]). Only one category of analyzes on HBV/HCV coinfection had 3 or more effect data and showed no heterogeneity in the estimation of the association between HBsAg/anti-HCV and HCC with apparently healthy controls.

Meta-analysis Hepatitis D Virus

No positive HDV antigen was found in two studies and no meta-analysis was possible. Most of the categories analyzed had less than 3 studies and it is therefore difficult to draw conclusions on the results obtained. Anti-HDV was associated with a risk of developing HCC with controls with non-hepatic disease (OR = 25.8; 95% CI = [5.9–112.2], 3 studies) (Fig 5). Only one category of HDV assays had 3 or more effect data and showed no heterogeneity in the estimation of the association between anti-HDV and HCC with controls with non-hepatic disease.

Publication bias and sensitivity analysis

Egger's linear regression test found no evidence of significant publication bias for any analysis category with at least 3 effect data ($p > 0.005$; Table 1). This result was confirmed by funnel plots which showed no asymmetry (S1–S11 Figs). We performed a sensitivity analysis for categories with 3 or more outcome data by selecting only studies with low risk of bias and studies comparable for confounding factors identified in the included studies. S8 and S9 Tables present the distribution between cases and controls for covariates known to be associated with the

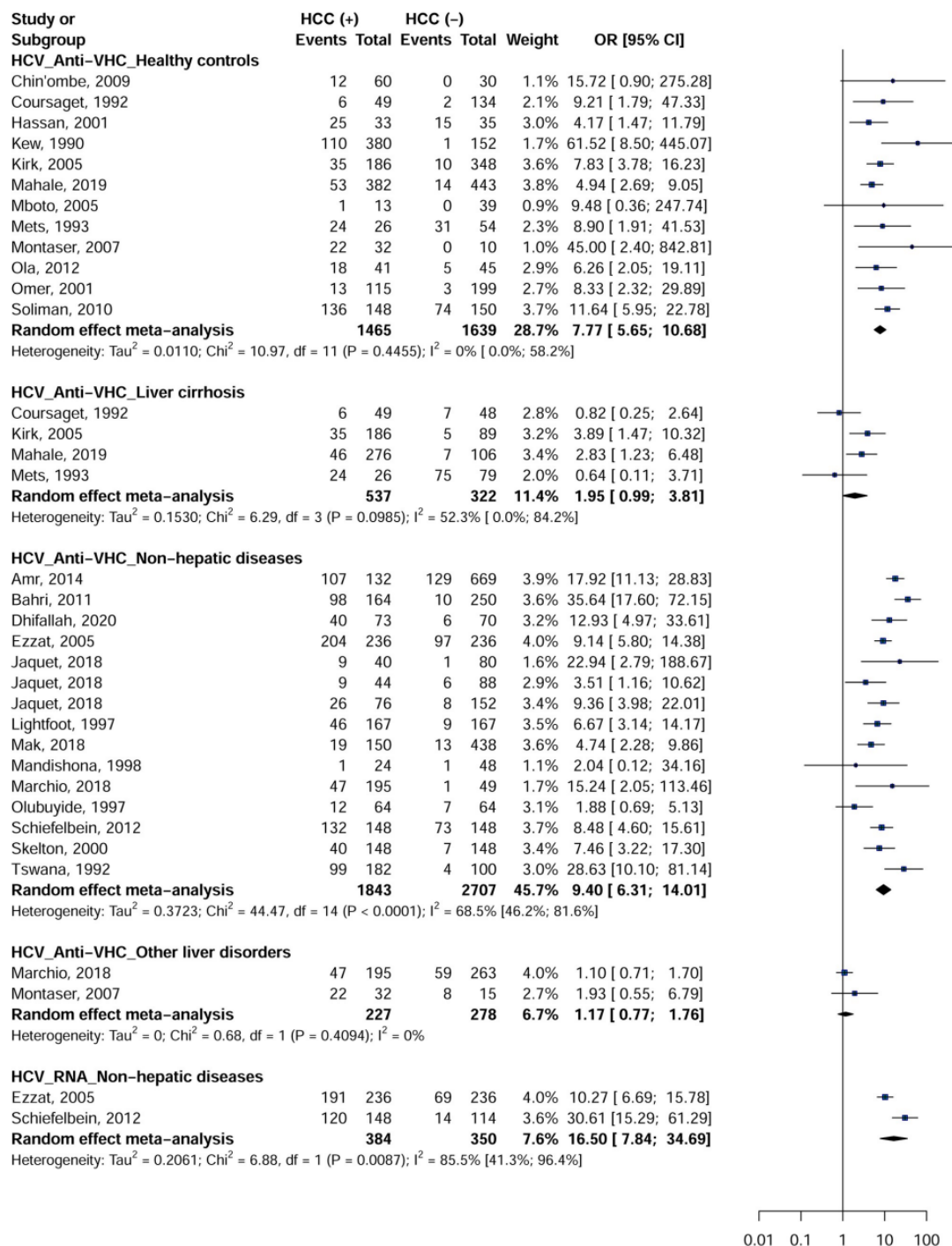


Fig 3. Association between Hepatitis C Virus infection and risk of hepatocellular carcinoma in Africa.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903.g003>

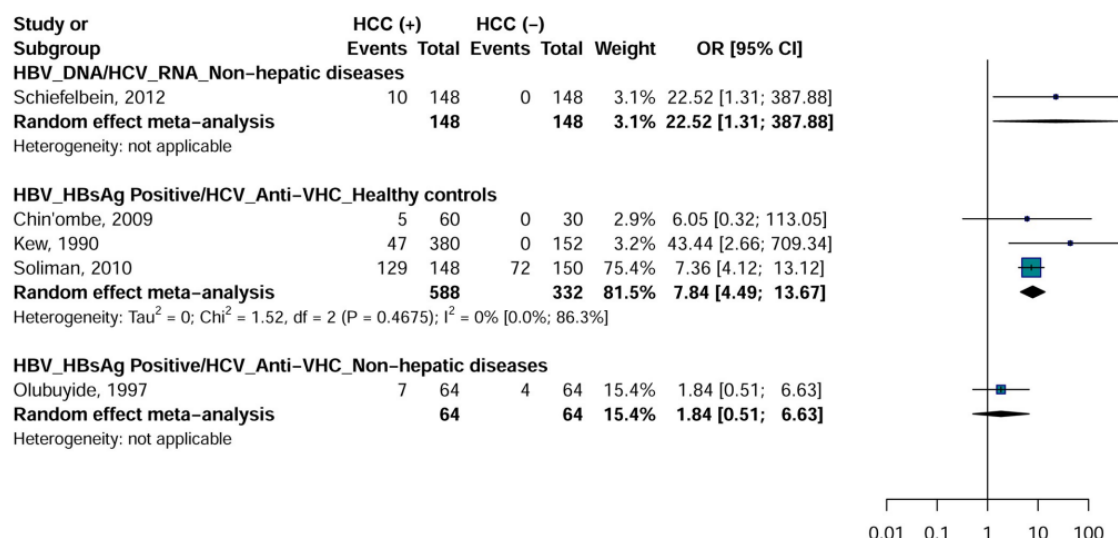


Fig 4. Association between Hepatitis B and C Virus coinfection and risk of hepatocellular carcinoma in Africa.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903.g004>

risk of HCC. The selection of these studies for sensitivity analysis did not change the overall trends (Table 1). A few exceptions were recorded for certain confounding factors represented by a single study.

Source of heterogeneity examination

In the additional sub-analysis, a study with data from HBeAg infections collected retrospectively ($p = 0.001$), conducted in The Gambia ($p = 0.001$), in a low-resource setting ($p = 0.001$), after the years 2000 ($p < 0.001$) using enzyme immunoassays for HBeAg detections ($p = 0.001$) had a significantly higher effect of the association between HBeAg and HCC with apparently healthy controls (OR = 22.0; 95% CI = [5.1–95.0]) (S10 Table) [46]. The association between HBsAg and HCC with apparently healthy controls was maintained in all categories of further sub-analysis. This effect, however, varied statistically significantly depending on the country ($p = 0.005$) and the method of hepatitis detection ($p = 0.030$). An increase of the effect size between HBsAg and HCC with apparently healthy controls depending on the country's income level ($p = 0.021$) was observed. No difference was observed in the subgroup analysis of the effect between HBsAg and HCC with controls with liver cirrhosis. With controls having non-hepatic diseases, the effect between HBsAg and HCC varied significantly by country ($p < 0.001$), UNSD region (effect highest in West Africa, $p = 0.001$), level of country income (effect higher in low-income countries, $p = 0.032$) and hepatitis detection technique (effect higher with rapid diagnostic tests, $p < 0.001$). With controls with other hepatic diseases, the effect between HBsAg and HCC varied significantly depending on the timing of data collection on hepatitis virus infection (high effect in prospective studies, $p = 0.005$), the UNSD region (size of the high effect in West Africa, $p = 0.021$) and the year of publication (size of the high effect in articles published before 2000, $p = 0.021$). No difference was observed in the effect analysis subgroups between HBV DNA and HCC with controls with non-hepatic disease. No difference was observed in the subgroup analysis of the effect between anti-HCV and HCC with apparently healthy controls. With controls having liver cirrhosis, the effect between anti-

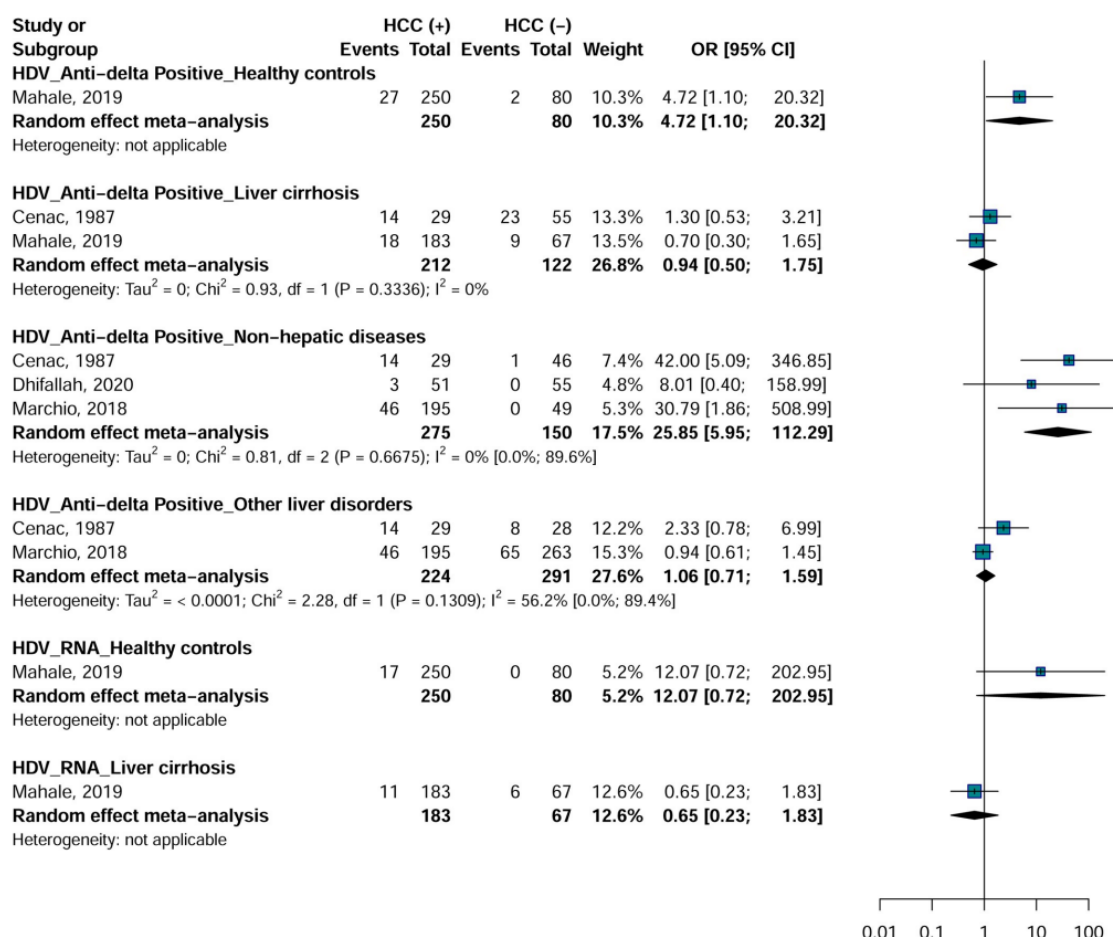


Fig 5. Association between Hepatitis D Virus infection and risk of hepatocellular carcinoma in Africa.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903.g005>

HCV and HCC varied significantly depending on the timing of data collection for hepatitis virus infection (high effect size for retrospective studies, $p = 0.014$), country (highest effect size in Gambia, $p = 0.049$) and publication year (high effect size in articles published after 2000, $p = 0.014$). With controls having non-hepatic disease, the effect between anti-HCV and HCC varied significantly by country ($p = 0.002$) and UNSD region (highest effect size in East Africa, $p = 0.006$). No significant difference was observed in the analysis subgroups of the effect between anti-HDV and HCC with the controls with non-hepatic disease and HBV/HCV and HCC coinfection with the apparently healthy controls.

Discussion

This review shows a quantitative overview of the relative contribution of HBV, HCV and HDV in the development of HCC in 20 countries of the 5 African UNSD regions. As expected, HBV, HCV and HDV markers were important contributors to the development of HCC with

Table 1. Hepatocellular carcinoma development in people with and without viral hepatitis B, C, and D infections in Africa and influence of confounders.

	OR (95%CI)	95% Prediction interval	N Studies	N HCC cases	N controls	H (95% CI)	I ² (95%CI)	P heterogeneity	P Egger test
HBV									
HBeAg									
Healthy controls									
Overall	3.5 [0.6–19.6]	[0–4317]	4	505	543	2.2 [1.3–3.6]	78.8 [43.1–92.1]	0.003	0.329
Risk of bias	3.5 [0.6–19.6]	[0–4317]	4	505	543	2.2 [1.3–3.6]	78.8 [43.1–92.1]	0.003	0.329
Male gender	3.4 [0.5–25.7]	NA	2	144	145	1.3	39.4	0.199	NA
HBsAg									
Healthy controls									
Overall	8.9 [6.1–13.1]	[2.2–36.4]	18	2180	2587	1.9 [1.5–2.4]	73.3 [57.4–83.3]	0	0.214
Risk of bias	8.9 [6.9–11.5]	[4.7–16.7]	12	1934	1814	1.4 [1–1.9]	46.3 [0–72.5]	0.039	0.142
Alcohol drinking	7.2 [5.5–9.5]	[1.2–43.1]	3	579	704	1 [1–2.3]	0 [0–80.3]	0.59	0.834
Anti-Schistosoma IgG	6.1 [0.7–55]	NA	1	33	35	NA	NA	1	NA
Cancer family history	8.5 [4.6–15.6]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Male gender	11.2 [7.8–15.9]	[7.2–17.3]	8	509	651	1.2 [1–1.9]	35.5 [0–71.5]	0.145	0.387
Married	7.1 [5.4–9.3]	NA	2	579	620	1	0	0.509	NA
Oral contraceptive user	6.1 [0.7–55]	NA	1	33	35	NA	NA	1	NA
Smoke exposure	8.3 [4.6–14.9]	NA	2	181	185	1	0	0.775	NA
Age	9.2 [5.2–16.2]	NA	2	169	188	1	0	0.466	NA
Liver cirrhosis									
Overall	1.2 [0.7–1.8]	[0.3–4.5]	7	747	489	1.7 [1.1–2.5]	64.4 [19.7–84.2]	0.01	0.724
Risk of bias	1.1 [0.7–1.7]	NA	1	312	119	NA	NA	1	NA
Alcohol drinking	1.1 [0.7–1.7]	NA	1	312	119	NA	NA	1	NA
Earth floor house	1.1 [0.7–1.7]	NA	1	312	119	NA	NA	1	NA
Education (some)	1.1 [0.7–1.7]	NA	1	312	119	NA	NA	1	NA
Family history of cancer	1.1 [0.7–1.7]	NA	1	312	119	NA	NA	1	NA
Male gender	1.4 [0.3–6.3]	NA	2	129	155	3.6 [1.9–6.6]	92.2 [73.4–97.7]	0	NA
Married	1.1 [0.7–1.7]	NA	1	312	119	NA	NA	1	NA
Age	4.4 [1.6–11.5]	NA	1	26	79	NA	NA	1	NA
Non-hepatic diseases									
Overall	9.9 [6.3–15.6]	[1.5–66.2]	19	1904	2473	2.2 [1.8–2.7]	78.8 [67.5–86.2]	0	0.237
Risk of bias	9.7 [6.2–15.4]	[1.6–60.5]	17	1802	2357	2.2 [1.7–2.7]	78.9 [66.9–86.6]	0	0.282
Alcohol drinking	18.2 [11.2–29.4]	[6.2–53.4]	5	285	469	1.3 [1–2.1]	40.6 [0–78.1]	0.151	0.577
Born in rural areas	2.4 [1–5.5]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Diabetes mellitus	12.7 [4.8–33.3]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA

(Continued)

Table 1. (Continued)

	OR (95%CI)	95% Prediction interval	N Studies	N HCC cases	N controls	H (95% CI)	I ² (95%CI)	P heterogeneity	P Egger test
Diet cassava consumption	12.7 [4.8–33.3]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet groundnut consumption	12.7 [4.8–33.3]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet maize consumption	12.7 [4.8–33.3]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet rice consumption	12.7 [4.8–33.3]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet sorghum consumption	12.7 [4.8–33.3]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Education (some)	9.1 [3–27.7]	[0–5312239.1]	3	356	476	2.7 [1.6–4.6]	86.5 [61.2–95.3]	0.001	0.777
Ever helping in farming	2.4 [1–5.5]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Ever working in farming	2.4 [1–5.5]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
HIV coinfection	23 [12–44.2]	[0.1–9519.1]	3	160	320	1.5 [1–2.9]	57.2 [0–87.8]	0.097	0.293
Iron overload	17.2 [4.9–60.4]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Male gender	7.8 [4.2–14.5]	[0.9–69.2]	12	1263	1196	2.1 [1.6–2.8]	77.9 [61.7–87.2]	0	0.217
Occupation, None	1.5 [0.7–2.9]	NA	1	64	64	NA	NA	1	NA
Other alcoholic beverages	17.2 [4.9–60.4]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Pesticides at home	2.4 [1–5.5]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Presence of HGV	2.9 [1.2–7.2]	NA	1	167	167	NA	NA	1	NA
Previous blood transfusion	3.9 [1–15.1]	NA	2	246	164	3.9 [2.2–7]	93.4 [78.5–98]	0	NA
Rodenticides at field	2.4 [1–5.5]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Rodenticides at home	2.4 [1–5.5]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Smoke exposure	11.2 [4.7–26.7]	[0.5–249.2]	5	648	618	2.3 [1.5–3.5]	81 [55.5–91.8]	0	0.849
Surgical antecedents	1.5 [0.7–2.9]	NA	1	64	64	NA	NA	1	NA
Tattoos-scarifications	3.7 [1.4–9.6]	[0–303110.2]	3	319	234	2.8 [1.6–4.7]	86.9 [62.6–95.4]	0	0.512
Use of intravenous drug	1.5 [0.7–2.9]	NA	1	64	64	NA	NA	1	NA
Aflatoxin B1-albumin adducts (pg_mg)	17.2 [4.9–60.4]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Age	6.7 [2.6–16.9]	[0.2–197.7]	5	425	436	2.7 [1.8–4]	86.5 [70.7–93.8]	0	0.774
Erythrocyte sedimentation rate (mm_hr)	17.2 [4.9–60.4]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Hemoglobin (g_dL)	17.2 [4.9–60.4]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Transferrin saturation (%)	17.2 [4.9–60.4]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Other liver disorders									
Overall	1.5 [0.9–2.5]	[0.2–9.9]	4	431	389	1.7 [1–2.9]	66.3 [1.3–88.5]	0.031	0.227
Risk of bias	1.8 [1–3.1]	NA	1	175	83	NA	NA	1	NA
Diabetes mellitus	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA
Diet cassava consumption	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA

(Continued)

Table 1. (Continued)

	OR (95%CI)	95% Prediction interval	N Studies	N HCC cases	N controls	H (95% CI)	I ² (95%CI)	P heterogeneity	P Egger test
Diet maize consumption	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA
Diet rice consumption	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA
Diet sorghum consumption	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA
Liver cirrhosis	1.8 [0.5–6.3]	NA	1	32	15	NA	NA	1	NA
Male gender	2.6 [1.1–6]	NA	2	61	43	1	0	0.427	NA
Non-BDC	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA
Smoke exposure	0.9 [0.6–1.3]	NA	1	195	263	NA	NA	1	NA
DNA									
Non-hepatic diseases									
Overall	8.9 [6–13.4]	[0.7–123]	3	496	877	1.4 [1–2.6]	50.3 [0–85.6]	0.134	0.802
Risk of bias	8.9 [6–13.4]	[0.7–123]	3	496	877	1.4 [1–2.6]	50.3 [0–85.6]	0.134	0.802
Alcohol drinking	7.8 [5.1–11.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
Diabetes mellitus	7.8 [5.1–11.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
HIV coinfection	7.8 [5.1–11.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
Male gender	8 [5.3–12.2]	NA	2	298	552	1	0	0.4	NA
Married	7.8 [5.1–11.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
Residence in rural area	8 [5.3–12.2]	NA	2	298	552	1	0	0.4	NA
Smoke exposure	7.8 [5.1–11.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
Age	7.8 [5.1–11.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
HCV									
Anti-HCV									
Healthy controls									
Overall	7.8 [5.6–10.7]	[5–12]	12	1465	1639	1 [1–1.5]	0 [0–58.2]	0.445	0.177
Risk of bias	8.2 [5.7–11.9]	[4.4–15.1]	8	1297	1386	1.1 [1–1.7]	24.4 [0–65.5]	0.235	0.128
Alcohol drinking	5.1 [3.2–8.3]	[0.2–118.7]	3	530	677	1 [1–1.9]	0 [0–71.1]	0.697	0.63
Anti-Schistosoma IgG	4.2 [1.5–11.8]	NA	1	33	35	NA	NA	1	NA
Cancer family history	11.6 [5.9–22.8]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Male gender	10 [6–16.7]	[4.4–23]	5	349	443	1 [1–1.5]	0 [0–57.7]	0.742	0.317
Married	7.4 [4.1–13.4]	NA	2	530	593	1.9 [1–3.9]	71 [0–93.5]	0.063	NA
Oral contraceptive user	4.2 [1.5–11.8]	NA	1	33	35	NA	NA	1	NA
Smoke exposure	8.4 [4.5–15.6]	NA	2	181	185	1.6 [1–3.4]	62.2 [0–91.3]	0.104	NA
Age	11.6 [5.9–22.8]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Liver cirrhosis									

(Continued)

Table 1. (Continued)

	OR (95%CI)	95% Prediction interval	N Studies	N HCC cases	N controls	H (95% CI)	I ² (95%CI)	P heterogeneity	P Egger test
Overall	1.9 [1–3.8]	[0.2–18.2]	4	537	322	1.4 [1–2.5]	52.3 [0–84.2]	0.099	0.112
Risk of bias	2.8 [1.2–6.5]	NA	1	276	106	NA	NA	1	NA
Alcohol drinking	2.8 [1.2–6.5]	NA	1	276	106	NA	NA	1	NA
Earth floor house	2.8 [1.2–6.5]	NA	1	276	106	NA	NA	1	NA
Education (some)	2.8 [1.2–6.5]	NA	1	276	106	NA	NA	1	NA
Family history of cancer	2.8 [1.2–6.5]	NA	1	276	106	NA	NA	1	NA
Male gender	0.6 [0.1–3.7]	NA	1	26	79	NA	NA	1	NA
Married	2.8 [1.2–6.5]	NA	1	276	106	NA	NA	1	NA
Age	0.6 [0.1–3.7]	NA	1	26	79	NA	NA	1	NA
Non-hepatic diseases									
Overall	9.4 [6.3–14]	[2.3–37.7]	15	1843	2707	1.8 [1.4–2.3]	68.5 [46.2–81.6]	0	0.095
Risk of bias	9.2 [6–14]	[2.1–40]	14	1770	2637	1.8 [1.4–2.4]	70.6 [49.3–82.9]	0	0.107
Alcohol drinking	5.9 [3.6–9.4]	[2.7–12.7]	5	334	806	1.1 [1–2.3]	10 [0–81.3]	0.349	0.58
Born in rural areas	9.1 [5.8–14.4]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Diabetes mellitus	5.4 [2.7–10.8]	NA	2	345	487	1.1	12.9	0.284	NA
Diet cassava consumption	15.2 [2–113.5]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet groundnut consumption	15.2 [2–113.5]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet maize consumption	15.2 [2–113.5]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet rice consumption	15.2 [2–113.5]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet sorghum consumption	15.2 [2–113.5]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Education (some)	8.2 [5.6–12]	[0.7–94.6]	3	356	476	1.1 [1–3.5]	22 [0–91.9]	0.278	0.792
Ever helping in farming	9.1 [5.8–14.4]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Ever working in farming	9.1 [5.8–14.4]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
HIV coinfection	6 [3.7–9.8]	[2.1–17.5]	4	310	758	1.1 [1–2.9]	22.8 [0–88.2]	0.274	0.943
Iron overload	2 [0.1–34.2]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Male gender	8.2 [4.8–14.1]	[1.5–44.9]	9	1221	1470	1.9 [1.4–2.7]	72.8 [46.7–86.1]	0	0.164
Married	4.7 [2.3–9.9]	NA	1	150	438	NA	NA	1	NA
Occupation, None	1.9 [0.7–5.1]	NA	1	64	64	NA	NA	1	NA
Other alcoholic beverages	2 [0.1–34.2]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Pesticides at home	9.1 [5.8–14.4]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Presence of HGV	6.7 [3.1–14.2]	NA	1	167	167	NA	NA	1	NA
Previous blood transfusion	7.3 [1.1–48.1]	NA	2	246	164	3.7 [2–6.8]	92.6 [75.2–97.8]	0	NA

(Continued)

Table 1. (Continued)

	OR (95%CI)	95% Prediction interval	N Studies	N HCC cases	N controls	H (95% CI)	I ² (95%CI)	P heterogeneity	P Egger test
Residence in rural area	6.7 [4.2–10.7]	NA	2	298	586	1.2	29.9	0.232	NA
Rodenticides at field	9.1 [5.8–14.4]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Rodenticides at home	9.1 [5.8–14.4]	NA	1	236	236	NA	NA	1	NA
Smoke exposure	8.3 [5.9–11.6]	[4.7–14.4]	5	697	955	1 [1–2.1]	0 [0–77.8]	0.442	0.702
Surgical antecedents	1.9 [0.7–5.1]	NA	1	64	64	NA	NA	1	NA
Tattoos-scarifications	8.8 [2.4–32]	[0–41387963.3]	3	319	234	2.7 [1.6–4.6]	86.3 [60.5–95.3]	0.001	0.309
Use of intravenous drug	1.9 [0.7–5.1]	NA	1	64	64	NA	NA	1	NA
Aflatoxin B1-albumin adducts (pg_mg)	2 [0.1–34.2]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Age	5.5 [3–10.2]	[0.5–58.4]	4	435	720	1.6 [1–2.8]	63.1 [0–87.6]	0.044	0.351
Erythrocyte sedimentation rate (mm_hr)	2 [0.1–34.2]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Hemoglobin (g_dL)	2 [0.1–34.2]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
Transferrin saturation (%)	2 [0.1–34.2]	NA	1	24	48	NA	NA	1	NA
HDV									
Anti-HDV									
Non-hepatic diseases									
Overall	25.8 [5.9–112.3]	[0–353332.5]	3	275	150	1 [1–2]	0 [0–74.3]	0.667	0.691
Risk of bias	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diabetes mellitus	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet cassava consumption	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet groundnut consumption	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet maize consumption	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet rice consumption	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Diet sorghum consumption	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Male gender	25.8 [5.9–112.3]	[0–353332.5]	3	275	150	1 [1–2]	0 [0–74.3]	0.667	0.691
Smoke exposure	30.8 [1.9–509]	NA	1	195	49	NA	NA	1	NA
Tattoos-scarifications	8 [0.4–159]	NA	1	51	55	NA	NA	1	NA
Age	8 [0.4–159]	NA	1	51	55	NA	NA	1	NA
HBV/HCV									
HBsAg/Anti-HCV									
Healthy controls									
Overall	7.8 [4.5–13.7]	[0.2–288.2]	3	588	332	1 [1–2.7]	0 [0–86.3]	0.468	0.676

(Continued)

Table 1. (Continued)

	OR (95%CI)	95% Prediction interval	N Studies	N HCC cases	N controls	H (95% CI)	I ² (95%CI)	P heterogeneity	P Egger test
Risk of bias	7.9 [4.5–13.9]	NA	2	528	302	1.2	32.9	0.222	NA
Cancer family history	7.4 [4.1–13.1]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Male gender	7.4 [4.1–13.1]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Married	7.4 [4.1–13.1]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Smoke exposure	7.4 [4.1–13.1]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA
Age	7.4 [4.1–13.1]	NA	1	148	150	NA	NA	1	NA

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262903.t001>

apparently healthy controls or those with non-hepatic disease. These results were confirmed when taking into account multiple confounding factors for the risk of developing HCC such as pesticides, aflatoxin B1, alcohol, smoking, other comorbidities, geographic context, mode of diet, gender, and age. Significant associations were seen in all subgroups of HBsAg, HBV DNA, anti-HCV markers with apparently healthy controls and those with non-hepatic disease.

The high risk of HCC associated with HBV, HCV, HDV and HBV/HCV markers observed during this study is consistent with previous systematic reviews conducted at global, regional and national levels [6–10, 66].

The following information should be taken into account when interpreting the findings in this review. The gold standard for diagnosing HCC is histology. In this review of data from Africa, a context where access to HCC diagnosis is restricted [21–23], only half of the included studies had used histology for the diagnosis of HCC. Difficulty in accessing the diagnosis of HCC in the African context may also have overrepresented patients with liver tumors in the last disease stages in this review. More than half of the included studies used multiple diagnostic approaches for HCC, suggesting a substantial amount of residual heterogeneity that we were not able to address in a subgroup analysis. The majority of included study investigators also did not ascertain the absence of HCC in controls, which suggests the possibility of misclassifying cases as controls. Although we planned to include prospective longitudinal studies in this review, all included studies were retrospective case-control studies. This suggests a potential recall bias, which is further exacerbated by the poor prognosis of cases recruited in the terminal phase of HCC. All the studies that we included had a case-control design with a prospective diagnosis of markers of viral hepatitis B, C and D for the majority. It is usually accepted that chronic hepatitis is those that have lasted in patients for at least 6 months. Without the participant follow-up data reported in the included studies, we are unable to distinguish acute from chronic hepatitis in the findings of the present review. Due to insufficient or absence of data [40, 52], for HBV, HCV and HDV, we did not assess the role played by occult infections, viral load, mutations, genotypes, and antiviral therapy on the risk of development of the HCC. Our findings are, however, very robust due to 1) a strengthening of the level of confidence for the overall results by a sensitivity analysis including only comparable studies for the major confounding factors 2) a wide range of markers of past and active HBV, HCV, and HDV infections, and 3) absence of publication bias.

The facies of hepatic viruses circulating in Africa being specific to both genotypes and potential mutations, prospective longitudinal studies are required to determine the role of

these parameters as biomarkers for the early diagnosis of the risk of progression to HCC [18, 19, 67]. Further studies investigating the role of occult viral hepatitis and the role of the viral load and viral therapy in progression to HCC are also required for African populations [11, 68, 69]. In this review with only case-control studies including cases in the terminal phase of the disease with a poor prognosis, large-scale longitudinal studies on healthy populations with prospective follow-up and/or a systematic collection of health data could lead to the identification of more early predictors of progression to HCC, and thus hope to modify the high mortality of HCC cases recorded in Africa. HBV, the predominant etiological agent of HCC, is highly endemic in Africa. Due to the protective effect of HBV treatment on the risk of progression to HCC [70, 71], it would be crucial to improve prevention through strong vaccination policies, diagnostic access and appropriate HBV treatment. Improving access in Africa to new direct-acting HCV therapies could potentially be of importance in reducing the burden of HCC.

Taking into account a wide range of confounders, the findings of this review suggest that HBV/HCV coinfections and HBV, HCV, and HDV infections are associated with a high risk of the occurrence of HCC.

Supporting information

S1 Checklist. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses checklist. (PDF)

S1 Table. Search strategy in PubMed. (PDF)

S2 Table. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses checklist. (PDF)

S3 Table. Items for risk of bias assessment. (PDF)

S4 Table. Main reasons of exclusion of eligible studies. (PDF)

S5 Table. Risk of bias assessment. (PDF)

S6 Table. Characteristics of included studies. (PDF)

S7 Table. Individual characteristics of included studies. (PDF)

S8 Table. P-value of Khi-2 and fisher exact tests for qualitative confounding factors. (PDF)

S9 Table. P-value of student test for quantitative confounding factors. (PDF)

S10 Table. Subgroup analyses of hepatocellular carcinoma development in people with and without viral hepatitis infections in Africa. (PDF)

S1 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBeAg in cases and apparently healthy controls and the risk of developing hepatocellular carcinoma. (PDF)

S2 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBsAg in cases and apparently healthy controls and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S3 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBsAg in cases and controls with liver cirrhosis and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S4 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBsAg in cases and controls with non-hepatic diseases and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S5 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBsAg in cases and controls with other liver disorders and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S6 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBV DNA in cases and controls with non-hepatic diseases and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S7 Fig. Funnel chart for publications of the association between anti-HCV in cases and apparently healthy controls and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S8 Fig. Funnel chart for publications of the association between anti-HCV in cases and controls with liver cirrhosis and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S9 Fig. Funnel chart for publications of the association between anti-HCV in cases and controls with non-hepatic diseases and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S10 Fig. Funnel chart for publications of the association between anti-HDV in cases and controls with non-hepatic diseases and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

S11 Fig. Funnel chart for publications of the association between HBV/HCV coinfection in cases and apparently healthy controls and the risk of developing hepatocellular carcinoma.
(PDF)

Author Contributions

Conceptualization: Donatien Serge Mbag, Sebastien Kenmoe, Sara Honorine Riwoom Essama.

Data curation: Donatien Serge Mbag, Sebastien Kenmoe, Cyprien Kengne-Ndé, Jean Thierry Ebogo-Belobo, Arnol Bowo-Ngandji.

Formal analysis: Sebastien Kenmoe, Cyprien Kengne-Ndé.

Methodology: Donatien Serge Mbag, Sebastien Kenmoe, Cyprien Kengne-Ndé, Jean Thierry Ebogo-Belobo, Gadj Mahamat, Joseph Rodrigue Foe-Essomba, Marie Amougou-Atsama, Serges Tchatchouang, Inès Nyebe, Alfloditte Flore Feudjio, Ginette Irma Kame-Ngasse, Jeannette Nina Magoudjou-Pekam, Lorraine K. M. Fokou, Dowbiss Meta-Djoms, Martin Maïdadi-Foudi, Sabine Aimee Touangnou-Chamda, Audrey Gaelle Daha-Tchoffo, Abdel

Aziz Selly-Ngaloumo, Rachel Audrey Nayang-Mundo, Jacqueline Félicité Yéngué, Jean Bosco Taya-Fokou, Raoul Kenfack-Momo, Efietngab Atembeh Noura, Cynthia Paola Demeni Emoh, Hervé Raoul Tazokong, Arnol Bowo-Ngandji, Carole Stéphanie Sake, Etienne Atenguena Okobalemba, Jacky Njiki Bikoi, Richard Njouom, Sara Honorine Riowom Essama.

Project administration: Donatien Serge Mbaga, Sebastien Kenmoe, Richard Njouom, Sara Honorine Riowom Essama.

Supervision: Sebastien Kenmoe.

Validation: Donatien Serge Mbaga, Sebastien Kenmoe, Cyprien Kengne-Ndé, Jean Thierry Ebogo-Belobo, Gadj Mahamat, Joseph Rodrigue Foe-Essomba, Marie Amougou-Atsama, Serges Tchatchouang, Inès Nyebe, Alfloditte Flore Feudjio, Ginette Irma Kame-Ngasse, Jeannette Nina Magoudjou-Pekam, Lorraine K. M. Fokou, Dowbiss Meta-Djoms, Martin Maïdadi-Foudi, Sabine Aimee Touangnou-Chamda, Audrey Gaele Daha-Tchoffo, Abdel Aziz Selly-Ngaloumo, Rachel Audrey Nayang-Mundo, Jacqueline Félicité Yéngué, Jean Bosco Taya-Fokou, Raoul Kenfack-Momo, Efietngab Atembeh Noura, Cynthia Paola Demeni Emoh, Hervé Raoul Tazokong, Arnol Bowo-Ngandji, Carole Stéphanie Sake, Etienne Atenguena Okobalemba, Jacky Njiki Bikoi, Richard Njouom, Sara Honorine Riowom Essama.

Writing – original draft: Donatien Serge Mbaga, Sebastien Kenmoe.

Writing – review & editing: Donatien Serge Mbaga, Sebastien Kenmoe, Cyprien Kengne-Ndé, Jean Thierry Ebogo-Belobo, Gadj Mahamat, Joseph Rodrigue Foe-Essomba, Marie Amougou-Atsama, Serges Tchatchouang, Inès Nyebe, Alfloditte Flore Feudjio, Ginette Irma Kame-Ngasse, Jeannette Nina Magoudjou-Pekam, Lorraine K. M. Fokou, Dowbiss Meta-Djoms, Martin Maïdadi-Foudi, Sabine Aimee Touangnou-Chamda, Audrey Gaele Daha-Tchoffo, Abdel Aziz Selly-Ngaloumo, Rachel Audrey Nayang-Mundo, Jacqueline Félicité Yéngué, Jean Bosco Taya-Fokou, Raoul Kenfack-Momo, Efietngab Atembeh Noura, Cynthia Paola Demeni Emoh, Hervé Raoul Tazokong, Arnol Bowo-Ngandji, Carole Stéphanie Sake, Etienne Atenguena Okobalemba, Jacky Njiki Bikoi, Richard Njouom, Sara Honorine Riowom Essama.

References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM (2019) Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. 144: 1941–1953. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937> PMID: 30350310
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL (2021) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.
3. Boyle P, Levin B (2008) World Cancer Report 2008.
4. Maucourt-Boulch D, de Martel C (2018) Fraction and incidence of liver cancer attributable to hepatitis B and C viruses worldwide. 142: 2471–2477.
5. de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM (2020) Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health* 8: e180–e190. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30488-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30488-7) PMID: 31862245
6. Cho LY, Yang JJ, Ko K-P, Park B, Shin A, et al. (2011) Coinfection of hepatitis B and C viruses and risk of hepatocellular carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cancer* 128: 176–184. <https://doi.org/10.1002/ijc.25321> PMID: 20232388
7. Donato F, Boffetta P, Puoti M (1998) A meta-analysis of epidemiological studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma. *International Journal of Cancer* 75: 347–354. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19980130\)75:3<347::aid-ijc4>3.0.co;2-2](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19980130)75:3<347::aid-ijc4>3.0.co;2-2) PMID: 9455792

8. Li L, Lan X (2016) Association between hepatitis B virus/hepatitis C virus infection and primary hepatocellular carcinoma risk: A meta-analysis based on Chinese population. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 12: 284. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.200763> PMID: 28230038
9. Shi J, Zhu L, Liu S, Xie W-f (2005) A meta-analysis of case-control studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma in China. *British Journal of Cancer* 92: 607–612. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602333> PMID: 15685242
10. Alfaia D, Clément S, Gomes D, Goossens N, Negro F (2020) Chronic hepatitis D and hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Journal of Hepatology* 73: 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.02.030> PMID: 32151618
11. Shi Y, Wu YH, Wu W, Zhang WJ, Yang J, et al. (2012) Association between occult hepatitis B infection and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* 32: 231–240. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02481.x> PMID: 21745272
12. Bray F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, et al. (2021) *Cancer Incidence in Five Continents Volume XI*.
13. Kew MC (2010) Hepatocellular carcinoma in African Blacks: Recent progress in etiology and pathogenesis. *World J Hepatol* 2: 65–73. <https://doi.org/10.4254/wjh.v2.i2.65> PMID: 21160975
14. Kramvis A, Kew MC (2007) Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatol Res* 37: S9–s19. <https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2007.00098.x> PMID: 17627641
15. Mittal S, El-Serag HB (2013) Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol* 47 Suppl: S2–6. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e3182872f29> PMID: 23632345
16. El-Serag HB (2012) Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 142: 1264–1273.e1261. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.12.061> PMID: 22537432
17. An P-P, Feng L-N, Zhang X-X, Jin Q-L (2020) Association of interleukin-6 gene polymorphisms with the risk of hepatocellular carcinoma. *Medicine* 99. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000023659> PMID: 33327352
18. Liu S, Zhang H, Gu C, Yin J, He Y, et al. (2009) Associations Between Hepatitis B Virus Mutations and the Risk of Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 101: 1066–1082. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp180> PMID: 19574418
19. Wong GL-H, Chan HL-Y, Yiu KK-L, Lai JW-Y, Chan VK-K, et al. (2013) Meta-analysis: the association of hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 37: 517–526. <https://doi.org/10.1111/apt.12207> PMID: 23305043
20. Spearman CW, Sonderup MW (2015) Health disparities in liver disease in sub-Saharan Africa. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* 35: 2063–2071. <https://doi.org/10.1111/liv.12884> PMID: 26053588
21. Spearman CW, Sonderup MW (2015) Health disparities in liver disease in sub-Saharan Africa. *Liver Int* 35: 2063–2071. <https://doi.org/10.1111/liv.12884> PMID: 26053588
22. Kew MC (2013) Epidemiology of hepatocellular carcinoma in sub-Saharan Africa. *Ann Hepatol* 12: 173–182. PMID: 23396727
23. Bialecki ES, Di Bisceglie AM (2005) Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)* 7: 26–34. <https://doi.org/10.1080/13651820410024049> PMID: 18333158
24. DerSimonian R, Laird N (2015) Meta-analysis in clinical trials revisited. *Contemporary Clinical Trials* 45: 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2015.09.002> PMID: 26343745
25. Balduzzi S, Rücker G, Schwarzer G (2019) How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. *Evidence-Based Mental Health* 22: 153–160. <https://doi.org/10.1136/ebmental-2019-300117> PMID: 31563865
26. Schwarzer G (2007) meta: An R package for meta-analysis. *R News* 7: 40–45.
27. Higgins JPT, Thompson SG (2002) Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in Medicine* 21: 1539–1558. <https://doi.org/10.1002/sim.1186> PMID: 12111919
28. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C (1997) Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ: British Medical Journal* 315: 629–634. <https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629> PMID: 9310563
29. Kenmoe S, Bowo-Ngandji A, Kengne-Nde C, Ebogo-Belobo JT, Mbaga DS, Mahamat G, et al. Association between early viral LRTI and subsequent wheezing development, a meta-analysis and sensitivity analyses for studies comparable for confounding factors. van den Hoogen B, editor. *PLoS ONE*. 2021; 16: e0249831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249831> PMID: 33857215

30. Amr S, Iarocci EA, Nasr GR, Saleh D, Blancato J, et al. (2014) Multiple pregnancies, hepatitis C, and risk for hepatocellular carcinoma in Egyptian women. *BMC Cancer* 14: 893. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-893> PMID: 25432765
31. Bahri O, Ezzikouri S, Alaya-Bouafif NB, Igner F, Feydi AE, et al. (2011) First multicenter study for risk factors for hepatocellular carcinoma development in North Africa. *World J Hepatol* 3: 24–30. <https://doi.org/10.4254/wjh.v3.i1.24> PMID: 21307984
32. Brown SE, Howard CR, Steward MW, Ajdukiewicz AB, Whittle HC (1984) Hepatitis B surface antigen containing immune complexes occur in seronegative hepatocellular carcinoma patients. *Clinical and experimental immunology* 55: 355–359. PMID: 6199140
33. Cenac A, Develoux M, Lamothe F, Soubiran G, Vetter JM, et al. (1987) Delta superinfection in patients with chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in a Sahelian area. Study of 112 cases versus 46 controls. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 81: 994–997. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(87\)90375-0](https://doi.org/10.1016/0035-9203(87)90375-0) PMID: 2845609
34. Chin'ombe N, Chavhunduka E, Matarira HT (2009) Seroprevalence of HBV and HCV in primary hepatocellular carcinoma patients in Zimbabwe. *Infect Agent Cancer* 4: 15. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-4-15> PMID: 19814789
35. Coursaget P, Leboulleux D, Le Cann P, Bao O, Coll-Seck AM (1992) Hepatitis C virus infection in cirrhosis and primary hepatocellular carcinoma in Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 86: 552–553. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(92\)90107-n](https://doi.org/10.1016/0035-9203(92)90107-n) PMID: 1282278
36. Coursaget P, Maupas P, Goudeau A, Drucker J (1978) Incidence and significance of hepatitis B e antigen and antibody in postnecrotic cirrhosis and primary hepatocellular carcinoma. *J Clin Microbiol* 7: 394–395. <https://doi.org/10.1128/jcm.7.4.394-395.1978> PMID: 211144
37. Cronberg S, Hansson BG, Thermos M, Moestrup T, Sow AM (1984) Hepatitis D (delta agent) in primary hepatocellular carcinoma and liver disease in Senegal. *Liver* 4: 275–279. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1984.tb00937.x> PMID: 6090857
38. Dhifallah I, Khedhiri M, Chouikha A, Kharroubi G, Hammami W, et al. (2020) Hepatitis viruses take advantage of traditional practices to increase the burden of hepatocellular carcinoma in Tunisia. *Arch Virol* 165: 33–42. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04440-5> PMID: 31630275
39. Ezzat S, Abdel-Hamid M, Eissa SA, Mokhtar N, Labib NA, et al. (2005) Associations of pesticides, HCV, HBV, and hepatocellular carcinoma in Egypt. *Int J Hyg Environ Health* 208: 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2005.04.003> PMID: 16217918
40. Gouas DA, Villar S, Ortiz-Cuaran S, Legros P, Ferro G, et al. (2012) TP53 R249S mutation, genetic variations in HBX and risk of hepatocellular carcinoma in The Gambia. *Carcinogenesis* 33: 1219–1224. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs068> PMID: 22759751
41. Hassan MM, Zaghloul AS, El-Serag HB, Soliman O, Patt YZ, et al. (2001) The role of hepatitis C in hepatocellular carcinoma—A case control study among Egyptian patients. *Journal of Clinical Gastroenterology* 33: 123–126. <https://doi.org/10.1097/00004836-200108000-00006> PMID: 11468438
42. Jaquet A, Tchounga B, Tanon A, Bagny A, Ekouevi DK, et al. (2018) Etiology of hepatocellular carcinoma in West Africa, a case-control study. *Int J Cancer* 143: 869–877. <https://doi.org/10.1002/ijc.31393> PMID: 29569722
43. Kew MC, Desmyter J, Bradburne AF, Macnab GM (1979) Hepatitis B virus infection in southern African blacks with hepatocellular cancer. *J Natl Cancer Inst* 62: 517–520. <https://doi.org/10.1093/jnci/62.3.517> PMID: 84090
44. Kew MC, Houghton M, Choo QL, Kuo G (1990) Hepatitis C virus antibodies in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 335: 873–874. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)90474-j](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)90474-j) PMID: 1691422
45. Kew MC, Kassianides C, Hodgkinson J, Coppin A, Paterson AC (1986) Hepatocellular carcinoma in urban born blacks: frequency and relation to hepatitis B virus infection. *Br Med J (Clin Res Ed)* 293: 1339–1341. <https://doi.org/10.1136/bmj.293.6558.1339> PMID: 3024771
46. Kirk GD, Lesi OA, Mendy M, Szymańska K, Whittle H, et al. (2005) 249 (ser) TP53 mutation in plasma DNA, hepatitis B viral infection, and risk of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 24: 5858–5867. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208732> PMID: 16007211
47. Larouzé B, Blumberg BS, London WT, Lustbader ED, Sankalé M, et al. (1977) Forecasting the development of primary hepatocellular carcinoma by the use of risk factors: studies in West Africa. *J Natl Cancer Inst* 58: 1557–1561. <https://doi.org/10.1093/jnci/58.6.1557> PMID: 68119
48. Lightfoot K, Skelton M, Kew MC, Yu MC, Kedda MA, et al. (1997) Does hepatitis GB virus-C infection cause hepatocellular carcinoma in black Africans? *Hepatology* 26: 740–742. <https://doi.org/10.1002/hep.510260328> PMID: 9303506

49. Mahale P, Aka P, Chen X, Pfeiffer RM, Liu P, et al. (2019) Hepatitis D virus infection, cirrhosis and hepatocellular carcinoma in The Gambia. *J Viral Hepat* 26: 738–749. <https://doi.org/10.1111/jvh.13065> PMID: 30661282
50. Mak D, Babb de Villiers C, Chasela C, Urban MI, Kramvis A (2018) Analysis of risk factors associated with hepatocellular carcinoma in black South Africans: 2000–2012. 13: e0196057. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196057> PMID: 29718992
51. Mandishona E, MacPhail AP, Gordeuk VR, Kedda MA, Paterson AC, et al. (1998) Dietary iron overload as a risk factor for hepatocellular carcinoma in Black Africans. *Hepatology* 27: 1563–1566. <https://doi.org/10.1002/hep.510270614> PMID: 9620327
52. Marchio A, Amougou Atsama M, Béré A, Komas NP, Noah Noah D, et al. (2018) Droplet digital PCR detects high rate of TP53 R249S mutants in cell-free DNA of middle African patients with hepatocellular carcinoma. 18: 421–431. <https://doi.org/10.1007/s10238-018-0502-9> PMID: 29749584
53. Mbotto CI, Davies-Russell A, Fielder M, Jewell AP (2005) Hepatocellular Carcinoma in The Gambia and the role of Hepatitis B and Hepatitis C. *J Hepatocell Carcinoma* 2: 20. <https://doi.org/10.1186/1477-7800-2-20> PMID: 16202160
54. Mets T, Smits J, Ngendahayo P, Sabbe L, Bigilimana I, et al. (1993) Hepatitis C virus infection in African patients with liver cirrhosis or primary hepatocellular carcinoma. *Scand J Gastroenterol* 28: 331–334. <https://doi.org/10.3109/00365529309090251> PMID: 8387695
55. Mohamed AE, Kew MC, Groeneveld HT (1992) Alcohol consumption as a risk factor for hepatocellular carcinoma in urban southern African blacks. *Int J Cancer* 51: 537–541. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910510406> PMID: 1318267
56. Montaser LM, Abbas OM, Saltah AM, Waked IA (2007) Circulating AFP mRNA as a Possible Indicator of Hematogenous Spread of HCC Cells: A Possible Association with HBV Infection. *J Egypt Natl Canc Inst* 19: 48–60. PMID: 18839035
57. Nishioka K, Levin AG, Simons MJ (1975) Hepatitis B antigen, antigen subtypes, and hepatitis B antibody in normal subjects and patients with liver disease. *Bull World Health Organ* 52: 293–300. PMID: 1084799
58. Ola SO, Akere A, Otegbayo JA, Odaibo GN, Olaleye DO, et al. (2012) Are patients with primary hepatocellular carcinoma infectious of hepatitis B, C and D viruses? *Afr J Med Med Sci* 41: 187–191. PMID: 23678655
59. Olubuyide IO, Aliyu B, Olaleye OA, Ola SO, Olawuyi F, et al. (1997) Hepatitis B and C virus and hepatocellular carcinoma. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 91: 38–41. [https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(97\)90387-4](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(97)90387-4) PMID: 9093625
60. Omer RE, Van't Veer P, Kadaru AM, Kampman E, el Khidir IM, et al. (2001) The role of hepatitis B and hepatitis C viral infections in the incidence of hepatocellular carcinoma in Sudan. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95: 487–491. [https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(01\)90013-6](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(01)90013-6) PMID: 11706655
61. Schiefelbein E, Zekri AR, Newton DW, Soliman GA, Banerjee M, et al. (2012) Hepatitis C virus and other risk factors in hepatocellular carcinoma. *Acta Virol* 56: 235–240. https://doi.org/10.4149/av_2012_03_235 PMID: 23043603
62. Skelton M, Kew MC, Yu MC, Crookes RL, Swanevelder JP, et al. (2000) Transfusion-transmissible virus and hepatocellular carcinoma: a case-control study. *J Viral Hepat* 7: 230–234. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2893.2000.00223.x> PMID: 10849266
63. Soliman AS, Hung CW, Tsodikov A, Seifeldin IA, Ramadan M, et al. (2010) Epidemiologic risk factors of hepatocellular carcinoma in a rural region of Egypt. *Hepatol Int* 4: 681–690. <https://doi.org/10.1007/s12072-010-9187-1> PMID: 21286338
64. Tabor E, Gerety RJ, Vogel CL, Bayley AC, Anthony PP, et al. (1977) Hepatitis B virus infection and primary hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 58: 1197–1200. <https://doi.org/10.1093/jnci/58.5.1197> PMID: 192895
65. Tswana SA, Moyo SR (1992) The interrelationship between HBV-markers and HIV antibodies in patients with hepatocellular carcinoma. *J Med Virol* 37: 161–164. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890370302> PMID: 1279108
66. Thi Vo T, Poovorawan K, Charoen P, Soonthornworasiri N, Nontprasert A, et al. (2019) Association between Hepatitis B Surface Antigen Levels and the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis B Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 20: 2239–2246. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.8.2239> PMID: 31450890
67. Fang ZL, Sabin CA, Dong BQ, Ge LY, Wei SC, et al. (2008) HBV A1762T, G1764A mutations are a valuable biomarker for identifying a subset of male HBsAg carriers at extremely high risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 103: 2254–2262. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01974.x> PMID: 18844615

68. Livingston SE, Simonetti JP, McMahon BJ, Bulkow LR, Hurlburt KJ, et al. (2007) Hepatitis B virus genotypes in Alaska Native people with hepatocellular carcinoma: preponderance of genotype F. *J Infect Dis* 195: 5–11. <https://doi.org/10.1086/509894> PMID: 17152003
69. Truong BX, Yano Y, Seo Y, Phuong TM, Tanaka Y, et al. (2007) Variations in the core promoter/pre-core region in HBV genotype C in Japanese and Northern Vietnamese patients. *J Med Virol* 79: 1293–1304. <https://doi.org/10.1002/jmv.20934> PMID: 17607788
70. Papatheodoridis GV, Dalekos GN, Yurdaydin C, Buti M, Goulis J, et al. (2015) Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in Caucasian chronic hepatitis B patients receiving entecavir or tenofovir. *J Hepatol* 62: 363–370. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.045> PMID: 25195548
71. Kim WR, Loomba R, Berg T, Aguilar Schall RE, Yee LJ, et al. (2015) Impact of long-term tenofovir disoproxil fumarate on incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B. *Cancer* 121: 3631–3638. <https://doi.org/10.1002/cncr.29537> PMID: 26177866



Submit a Manuscript: <https://www.f6publishing.com>

World J Methodol 2022 May 20; 12(3): 179-190

DOI: 10.5662/wjm.v12.i3.179

ISSN 2222-0682 (online)

META-ANALYSIS

Global prevalence of occult hepatitis C virus: A systematic review and meta-analysis

Donatien Serge Mbaga, Sebastien Kenmoe, Jacky Njiki Bikoï, Guy Roussel Takuissu, Marie Amougou-Atsama, Etienne Atenguena Okobalemba, Jean Thierry Ebogo-Belobo, Arnol Bowo-Ngandji, Martin Gael Oyono, Jeannette Nina Magoudjou-Pekam, Ginette Irma Kame-Ngasse, Alex Durand Nka, Alfloditte Flore Feudjio, Cromwel Zemnou-Tepap, Elie Adamou Velhima, Juliette Laure Ndzie Ondigui, Rachel Audrey Nayang-Mundo, Sabine Aimee Touangnou-Chamda, Yrene Kamtchueng Takeu, Jean Bosco Taya-Fokou, Chris Andre Mbongue Mikangue, Raoul Kenfack-Momo, Cyprien Kengne-Ndé, Carole Stephanie Sake, Seraphine Nkie Esemu, Richard Njouom, Lucy Ndip, Sara Honorine Riowom Essama

Specialty type: Virology

Provenance and peer review:
Invited article; Externally peer reviewed.

Peer-review model: Single blind

Peer-review report's scientific quality classification

Grade A (Excellent): 0

Grade B (Very good): 0

Grade C (Good): C

Grade D (Fair): D

Grade E (Poor): 0

P-Reviewer: Biswas S, India; Hedayati-Moghaddam MR, Iran

Received: December 9, 2021

Peer-review started: December 9, 2021

First decision: February 15, 2022

Revised: March 3, 2022

Accepted: April 29, 2022

Article in press: April 29, 2022

Published online: May 20, 2022



Donatien Serge Mbaga, Jacky Njiki Bikoï, Arnol Bowo-Ngandji, Juliette Laure Ndzie Ondigui, Sabine Aimee Touangnou-Chamda, Jean Bosco Taya-Fokou, Chris Andre Mbongue Mikangue, Carole Stephanie Sake, Sara Honorine Riowom Essama, Department of Microbiology, The University of Yaounde I, Yaounde 00237, Cameroon

Sebastien Kenmoe, Seraphine Nkie Esemu, Lucy Ndip, Department of Microbiology and Parasitology, University of Buea, Buea 00237, Cameroon

Sebastien Kenmoe, Richard Njouom, Department of Virology, Centre Pasteur of Cameroon, Yaounde 00237, Cameroon

Guy Roussel Takuissu, Centre of Research in Food, Food Security and Nutrition, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, Yaounde 00237, Cameroon

Marie Amougou-Atsama, Centre de Recherche sur les Maladies Emergentes et Re-Emergentes, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, Yaounde 00237, Cameroon

Etienne Atenguena Okobalemba, Faculty of Medicine and Biomedical Science, The University of Yaounde I, Yaounde 00237, Cameroon

Jean Thierry Ebogo-Belobo, Ginette Irma Kame-Ngasse, Elie Adamou Velhima, Yrene Kamtchueng Takeu, Medical Research Centre, Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies, Yaounde 00237, Cameroon

Martin Gael Oyono, Laboratory of Parasitology and Ecology, The University of Yaounde I, Yaounde 00237, Cameroon

Jeannette Nina Magoudjou-Pekam, Alfloditte Flore Feudjio, Cromwel Zemnou-Tepap, Raoul Kenfack-Momo, Department of Biochemistry, The University of Yaounde I, Yaounde 00237, Cameroon

Alex Durand Nka, Virology Laboratory, Chantal Biya International Reference Center for Research on HIV/AIDS Prevention and Management, Yaounde 00237, Cameroon

Mbaga DS *et al.* Global occult hepatitis C virus infection

Rachel Audrey Nayang-Mundo, Department of Microbiology, Protestant University of Central Africa, Yaounde 00237, Cameroon

Cyprien Kengne-Ndé, Epidemiological Surveillance, Evaluation and Research Unit, National Aids Control Committee, Douala 00237, Cameroon

Corresponding author: Sebastien Kenmoe, PhD, Assistant Lecturer, Department of Microbiology and Parasitology, University of Buea, Molyko to Buea town Rd, Buea 00237, Cameroon. sebastien.kenmoe@ubuea.cm

Abstract

BACKGROUND

Occult hepatitis C infection (OCI) is characterized by the presence of hepatitis C virus (HCV) RNA in the liver, peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and/or ultracentrifuged serum in the absence of detectable HCV-RNA in serum. OCI has been described in several categories of populations including hemodialysis patients, patients with a sustained virological response, immunocompromised individuals, patients with abnormal hepatic function, and apparently healthy subjects.

AIM

To highlight the global prevalence of OCI.

METHODS

We performed a systematic and comprehensive literature search in the following 4 electronic databases PubMed, EMBASE, Global Index Medicus, and Web of Science up to 6th May 2021 to retrieve relevant studies published in the field. Included studies were unrestricted population categories with known RNA status in serum, PBMC, liver tissue and/or ultracentrifuged serum. Data were extracted independently by each author and the Hoy *et al* tool was used to assess the quality of the included studies. We used the random-effect meta-analysis model to estimate the proportions of OCI and their 95% confidence intervals (95%CI). The Cochran's *Q*-test and the *I*² test statistics were used to assess heterogeneity between studies. Funnel plot and Egger test were used to examine publication bias. R software version 4.1.0 was used for all analyses.

RESULTS

The electronic search resulted in 3950 articles. We obtained 102 prevalence data from 85 included studies. The pooled prevalence of seronegative OCI was estimated to be 9.61% (95%CI: 6.84-12.73) with substantial heterogeneity [*I*² = 94.7% (95%CI: 93.8%-95.4%), *P* < 0.0001]. Seropositive OCI prevalence was estimated to be 13.39% (95%CI: 7.85-19.99) with substantial heterogeneity [*I*² = 93.0% (90.8%-94.7%)]. Higher seronegative OCI prevalence was found in Southern Europe and Northern Africa, and in patients with abnormal liver function, hematological disorders, and kidney diseases. Higher seropositive OCI prevalence was found in Southern Europe, Northern America, and Northern Africa.

CONCLUSION

In conclusion, in the present study, it appears that the burden of OCI is high and variable across the different regions and population categories. Further studies on OCI are needed to assess the transmissibility, clinical significance, long-term outcome, and need for treatment.

Key Words: Occult hepatitis C virus infection; Prevalence; Worldwide; Peripheral blood mononuclear cells; Hepatitis C virus

©The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Core Tip: This study showed that the burden of seropositive and seronegative occult hepatitis C infections (OCIs) is high and variable in different regions and population categories. Patients with hematological disorders, kidney diseases, and abnormal liver function showed the highest OCI prevalence.

Citation: Mbaga DS, Kenmoe S, Njiki Bikoï J, Takuissu GR, Amougou-Atsama M, Atenguena Okobalemba E, Ebogo-Belobo JT, Bowo-Ngandji A, Oyono MG, Magoudjou-Pekam JN, Kame-Ngasse GI, Nka AD, Feudjio AF, Zemnou-Tepap C, Adamou Velhima E, Ndzie Ondigui JL, Nayang-Mundo RA, Touangnou-Chamda SA, Kamtchueng Takeu Y, Taya-Fokou JB, Mbongue Mikangue CA, Kenfack-Momo R, Kengne-Ndé C, Sake CS, Esemu SN, Njouom R, Ndip L, Riwiom Essama SH. Global prevalence of occult hepatitis C virus: A systematic review and meta-analysis. *World J Methodol* 2022; 12(3): 179-190

URL: <https://www.wjgnet.com/2222-0682/full/v12/i3/179.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5662/wjm.v12.i3.179>

INTRODUCTION

In 2019, the World Health Organization (WHO) estimated that 58 million people are living with hepatitis C virus (HCV)[1], making HCV infection a major global public health problem[2,3]. Each year, more than 1.5 million people around the world are newly infected with HCV[4] and more than 290000 people die from it[5]. HCV infection is increasingly affecting healthcare particularly in highly endemic areas[3]. The prevalence of HCV varies greatly between regions and ranges from 0.2% to 20% in the general population[6]. HCV infection can lead to liver cirrhosis (10%-20% of cases) and hepatocellular carcinoma (HCC) (1%-5% of cases)[7].

The principal multiplication site for HCV is hepatocytes, but evidence of HCV replication has been reported in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and other extrahepatic organs[8,9].

Occult hepatitis C infection (OCI) was first described by Castillo *et al*[10] in 2004. This new form of hepatitis is defined as the absence of RNA in serum and its presence in hepatocytes, PBMC or ultracentrifuged serum[3,11-13]. OCI is further classified as seronegative OCI in subjects who are anti-HCV negative and seropositive OCI in those who are anti-HCV positive[14]. Seropositive OCI individuals represent those chronically infected with HCV who have recovered (absence of RNA in serum) either spontaneously or following treatment. There are asymptomatic carriers of OCI with normal liver enzyme levels and some with abnormal liver function[10,15-23]. OCI can also lead to hepatic attacks including cases of liver cirrhosis and even HCC in high-risk groups[24]. The first syntheses performed at the global level and in the Middle East and the Eastern Mediterranean showed highly variable OCI prevalence (ranging from 0%-89%) according to the population groups including apparently healthy individuals, patients with hematological disorders, chronic liver disease, HIV, patients who have achieved a sustained virological response (SVR), and transplant recipients[20,25,26]. The review conducted in the Middle East and Eastern Mediterranean revealed that high frequencies of OCI were recorded in patients with chronic liver disease, HIV, and injecting drug users[20]. In the review by Hedayati-Moghaddam *et al*[20], no statistically significant difference was observed in the variability of OCI prevalence across countries, patient anti-HCV status, and HCV detection method. OCI highlights multiple concerns including the potential for transmission of this form of infection through blood transfusion or hemodialysis[27]. To date, there is no global data synthesis on the prevalence of OCI in different population categories. To eradicate HCV infection by 2030 as recommended by WHO, making data available on the burden of OCI is crucial[28,29]. The objective of this systematic review and meta-analysis is to determine the global prevalence of OCI and evaluate the potential factors resulting in heterogeneity between the population groups and regions. Findings from this review may help prioritize population groups and regions most at risk for OCI screening and managing programs.

MATERIALS AND METHODS

Study design

We used the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) checklist to design this systematic review (Supplementary Table 1)[30]. The systematic review was declared in the PROSPERO international database under the number CRD42021252763.

Inclusion criteria

We included all studies without time restriction, published in peer-reviewed journals in English or in French and which fulfilled the following criteria: having a cross-sectional or case-control study design and for cohorts and clinical trials, only the baseline data were considered. We considered studies with patients of all ages tested for seropositive OCI (anti-HCV positive) and for seronegative OCI (anti-HCV negative). One study could contribute to several prevalence data that we called effect ratings. We included studies that detected HCV RNA by molecular methods in PBMCs, hepatocytes or ultracentrifuged serum[11,15,20,31]. To strengthen the robustness of our estimates, we considered only studies with at least 10 participants.

Exclusion criteria

We excluded all studies that did not provide an opportunity to extract data on OCI prevalence, and studies with no baseline data for longitudinal study. Case reports, studies selecting participants with an already known OCI result, comments on an article, reviews, editorials, duplicates and studies for which the full article or abstract could not be found were also excluded.

Search strategy

We performed a systematic and comprehensive literature search in 4 electronic databases: PubMed, EMBASE, Global Index Medicus, and Web of Science from inception until 6th May 2021 to retrieve relevant studies published in the field. The electronic search strategy conducted in PubMed covered the key words of OCI (Occult Hepatitis C OR Occult Viral hepatitis C OR Occult Hepatitis C Virus OR Occult HCV) and was adapted to other databases. We also manually searched all included studies and previous systematic reviews on the topic to identify additional references. The references cited in this article were checked in the Reference Citation Analysis website (<https://www.referencecitation-analysis.com/>).

Study selection

The duplicate articles found in the databases were removed using EndNote software. Two investigators (JTEB and SK) independently selected articles on the basis of title and abstract using Rayyan review platform. The full texts of selected articles were then read by 22 authors on the basis of the eligibility criteria. Disagreements were resolved through discussion and consensus.

Data extraction

Data were extracted independently by each author *via* the Google Forms for articles that met the inclusion criteria. The data extracted were as follows; the name of the first author, the date of publication, the period of recruitment of the participants, the design of the study, the sampling method, the number of study sites, the time of collection of the data, country, United Nations Statistics Division (UNSD) region, type of population studied, patient demographic details such as gender, age, and location of recruitment, OCI type (seronegative or seropositive), risk of bias assessment, detection test, target detected, type of sample used, number of samples tested, and number of samples positive for OCI. All disagreements regarding eligibility and data collected were resolved by discussion and consensus.

Appraisal of the methodological quality of the included studies and risk of bias

We used the Hoy *et al*[32] tool to assess the quality of the included studies (Supplementary Table 2). This tool takes into account 10 elements to assess the internal and external validity of prevalence studies. For each item, a score of 1 is assigned to a "yes" response and a score of 0 is assigned to the other responses ("no", "not clear", "not applicable"). Basically, a study was considered to be low risk, moderate risk, or high risk of bias if the total score was 0-3, 4-6, and 7-10, respectively.

Data synthesis and analysis

To estimate proportions of OCI and their 95% confidence intervals (95%CI), we chose the random-effect meta-analysis model due to the heterogeneity expected for observational studies. The *I*² statistics and Cochran's *Q*-test were used to assess heterogeneity between studies[33]. The *I*² cut-offs > 50% indicate substantial heterogeneity. Potential sources of heterogeneity were explored by subgroup analyses and meta-regression including covariates: study design, sampling, setting, timing of samples collection, countries, WHO region, UNSD region, country income level, age range, population categories, OCI diagnostic method, and sample types. We used Funnel plot and Egger test to examine publication bias [34]. R software version 4.1.0 was used for all analyses[35,36].

RESULTS

Study selection and characteristics

The electronic search identified 3950 articles (EMBASE (2025), Web of Science (1183), PubMed (706), and Global Index Medicus (36) (Figure 1). The eligibility review of 179 articles resulted in the exclusion of 94 and the inclusion of 85. The excluded articles and the individual reasons for exclusion are presented in Supplementary Table 3, while the included articles are indicated in Supplementary Text 1.

Characteristics of the included studies

Overall, we obtained 102 prevalence data from the 85 included studies (75 seronegative OCI, 24 seropositive OCI, and 3 seropositive OCI and/or seronegative OCI (Supplementary Tables 4 and 5). The prevalence data were published from 1995 to 2021 and for studies with data reported, the participants were recruited from 2002 to 2019. The majority of the prevalence data were cross-sectional design (94

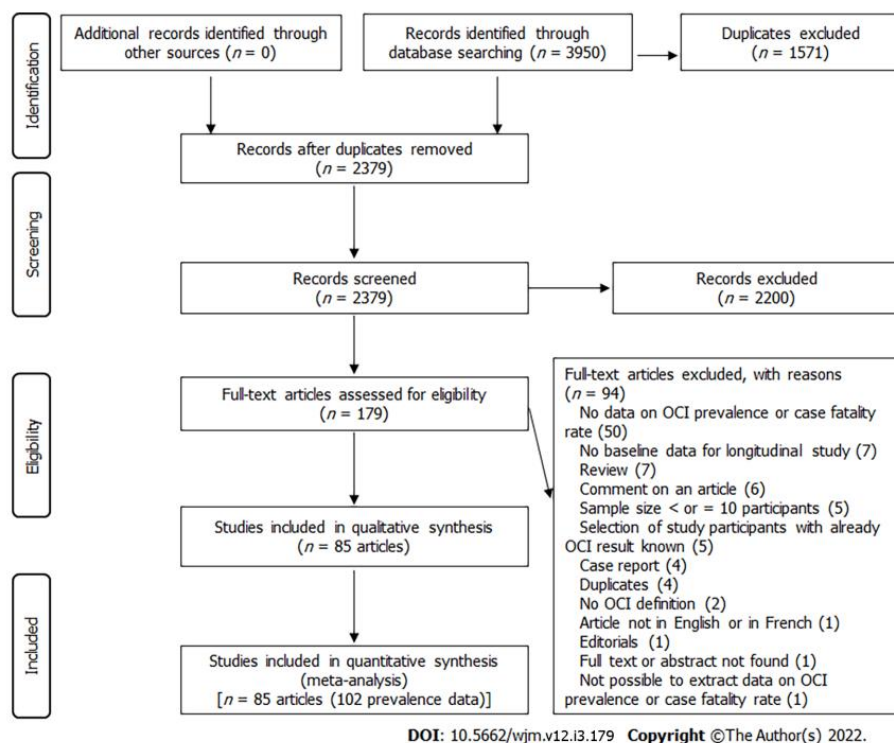


Figure 1 PRISMA flow-chart of studies selected for the meta-analysis.

out of 102) with non-random sampling (97 out of 102) and consecutive sampling methods (95 out of 102). The setting of the study was hospital-based (98 out of 102) and monocentric (83 out of 102). Prevalence data were reported predominantly in the Eastern Mediterranean (51 out of 102) and in European (41 out of 102) WHO regions. The highest numbers of prevalence data were from high-income countries (40 out of 102) and upper-middle-income countries (35 out of 102). Prevalence data predominantly involved adults (33 out of 102), patients on hemodialysis (25 out of 102), and patients who achieved a SVR (15 out of 102). The most used sample type was PBMC (86 out of 102). The OCI diagnosis was performed using classical RT-PCR (49 out of 102) or real-time RT-PCR (44 out of 102). In most prevalence data, the risk of bias was moderate (64 out of 102) (Supplementary Table 6).

Prevalence of seronegative occult C infection

A total of 75 prevalence data reporting seronegative OCI were conducted across 4 WHO regions: America, Eastern Mediterranean, Europe, and Western Pacific (Figure 2). The pooled OCI prevalence was estimated to be 9.6% (95%CI: 6.8-12.7) in samples of 8535 participants with high heterogeneity [$I^2 = 94.7\%$ (95%CI: 93.8%-95.4%), $P < 0.0001$] (Figure 3A, Table 1, and Supplementary Figure 1). There was significant publication bias (Supplementary Figure 2, $P = 0.006$). Trim-and-fill adjusted analysis indicated a lower prevalence of 5.3% (95%CI: 2.9-8.2) with an addition of 10 studies.

Prevalence of seropositive occult C infection

Prevalence data reporting seropositive OCI were conducted in 4 WHO regions including America, Eastern Mediterranean, Europe, and Western Pacific (Figure 2). Overall, seropositive OCI prevalence was estimated to be 13.3% (95%CI: 7.8-19.9) with a total of 2642 participants from 24 prevalence data (Figure 3B). High heterogeneity was observed in the overall estimate of the prevalence of seropositive OCI [$I^2 = 93.0\%$ (90.8%-94.7%), $P < 0.0001$]. There was a significant publication bias (Supplementary Figure 3, $P = 0.017$). Trim-and-fill adjusted analysis indicated a lower prevalence of 5.3% (95%CI: 1.4-10.7) with an addition of 8 studies.

Seronegative and/or seropositive occult C infection

Prevalence data reporting seronegative and/or seropositive OCI were conducted in 2 WHO regions

Table 1 Summary of meta-analysis results for the global prevalence of occult hepatitis C virus infection

	Prevalence % (95%CI)	95% prediction interval	Studies (n)	Participants (n)	¹ H (95%CI)	² I ² (95%CI)	P heterogeneity
Seronegative OCI							
Overall	9.6 (6.8-12.7)	(0-44.1)	75	8535	4.3 (4-4.6)	94.7 (93.8-95.4)	< 0.001
Trim-and-fill adjusted analysis	5.3 (2.9-8.2)	(0.0-45.1)	85	NA	5.1 (4.8-5.4)	96.2 (95.7-96.6)	< 0.001
Cross-sectional	9.3 (6.5-12.6)	(0-43.6)	68	8250	4.4 (4.1-4.8)	94.9 (94.1-95.6)	< 0.001
Low risk of bias	10.2 (5.9-15.5)	(0-45.9)	28	3372	4.3 (3.8-4.8)	94.6 (93.1-95.7)	< 0.001
Seropositive OCI							
Overall	13.4 (7.9-20)	(0-52)	24	2642	3.8 (3.3-4.3)	93 (90.8-94.7)	< 0.001
Trim-and-fill adjusted analysis	5.3 (1.4-10.7)	(0.0-49.9)	32	NA	4.5 (4.0-5.0)	95.1 (93.9-96.0)	< 0.001
Cross-sectional	12.5 (7.2-18.7)	(0-48.5)	23	2530	3.5 (3.1-4.1)	92 (89.3-94)	< 0.001
Low risk of bias	12.8 (4.6-23.6)	(0-57.6)	9	1659	3.6 (2.8-4.6)	92.3 (87.5-95.2)	< 0.001

¹H is a measure of the extent of heterogeneity, a value of H =1 indicates homogeneity of effects and a value of H >1 indicates potential heterogeneity of effects.

²I² describes the proportion of total variation in study estimates due to heterogeneity, a value > 50% indicates the presence of heterogeneity.

OCI: Occult hepatitis C virus infection; n: Number; 95%CI: 95% confidence interval; NA: Not applicable.

(Eastern Mediterranean and Europe). Overall, seronegative and/or seropositive OCI prevalence was estimated to be 12.6% (95%CI: 1.2-32.2) with a total of 285 participants from 3 prevalence data. High heterogeneity was observed in the overall estimate of the prevalence of seronegative and/or seropositive OCI [$I^2 = 93.0\%$ (83.0%-97.1%), $P < 0.0001$].

Subgroup analyses and meta-regression

Seronegative OCI: Higher proportions of seronegative OCI were estimated for studies which selected participants by non-probabilistic sampling ($P = 0.001$), conducted in Spain and Egypt ($P < 0.001$), in Southern Europe and Northern Africa ($P < 0.001$), or in countries with lower-middle income economies ($P = 0.045$), investigated children ($P = 0.01$) or patients with abnormal liver function, hematological disorders, and kidney diseases ($P < 0.001$), and detected OCI cases by real-time RT-PCR ($P < 0.001$) or by examining liver tissue ($P < 0.001$) (Supplementary Table 7). The heterogeneity of the prevalence of seronegative OCI was explained at 84.0% ($R^2 = 84.0\%$) (Supplementary Table 8).

Seropositive OCI: Higher proportions of seropositive OCI were estimated for studies performed as case controls ($P < 0.001$), conducted in Italy, United States of America, and Egypt ($P < 0.001$), in Southern Europe, Northern America, and Northern Africa ($P = 0.001$), or by examining liver tissue and PBMC ($P = 0.023$). The heterogeneity of the prevalence of seropositive OCI was explained at 46.2% ($R^2 = 46.2\%$).

DISCUSSION

This systematic review summarized the prevalence of seronegative and seropositive OCI in relevant articles published between 1995 and 2021 in 17 countries across 4 WHO regions: America, Europe, Eastern Mediterranean, and Western Pacific. Overall, we found a high prevalence of seronegative OCI (9.61%) and seropositive OCI (13.39%), respectively. Higher seronegative OCI prevalence was found in Southern Europe and Northern Africa and in patients with abnormal liver function, hematological disorders, and kidney diseases. Higher seropositive OCI prevalence was found in Southern Europe, Northern America, and Northern Africa.

Many studies have previously shown that multiple transfused subjects are at high risk of HCV infection[20,25,37-39]. Seronegative OCIs aligned well with classical HCVs and were very predominant in subjects with hematological disorders and renal diseases in this study. It is therefore important to implement screening measures for OCI in blood transfusion banks, dialysis and/or transplant units[40].

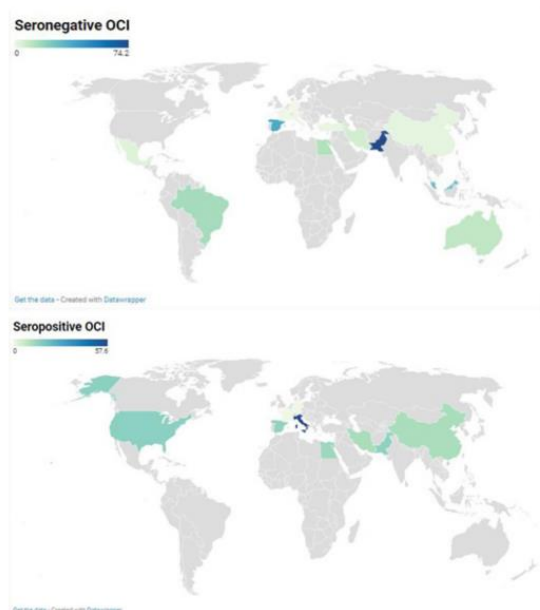


Figure 2 Global prevalence of seronegative and seropositive occult hepatitis C virus infection.

As in the present review, it has also been shown previously that patients with abnormal liver functions are at high risk of OCI[26]. There is, however, a significant residual heterogeneity in our estimates that could be related to the different types of chronic liver disease that we did not take into account. North Africa and particularly Egypt is the country with the highest prevalence of HCV in the world[41,42]. The findings of the present study corroborate this fact and show higher seronegative and seropositive OCI prevalence in North Africa (Egypt). However, it should be noted that Southern Europe and North America also showed high prevalence of OCI in this study, while most other regions were absent or poorly represented in the estimates. HIV patients, people who inject drugs and men who have sex with men are groups known to be at high risk of HCV infection and were poorly represented in this review. Additional studies characterizing the epidemiology of HCV in these groups are awaited to fully explain the global epidemiology of OCI and more specifically in the WHO regions of Africa and South-East Asia. In a first global review without meta-analysis conducted in 2017, Dolatimehr *et al*[25] reported OCI prevalence of 0%-45% and 0%-2% in hemodialysis patients (10 studies) and kidney transplant recipients (2 studies), respectively. In a conference abstract, Fu *et al*[26] reported a highly variable prevalence of OCI in different population groups ranging from 0% in patients with autoimmune hepatitis, 9% in patients with cryptogenic liver disease, 22% in patients with chronic liver disease who achieved a SVR, 33% in patients with long-standing abnormal liver-enzyme levels to 89% in patients with abnormal levels of serum aminotransferases. More recently, Hedayati-Moghaddam *et al*[20] reported the prevalence of OCI in the Middle East and Eastern Mediterranean in several population categories. This last systematic review also revealed a significant variability in OCI prevalence according to the category of the population with 19% for patients with hematological disorders, 12% for HIV-infected patients, 12% for patients with chronic liver diseases, 9% for hemodialysis patients, 8% for multitransfused patients, and 4% for apparently healthy populations. Similar to the reviews mentioned above, our study also noted a statistically significant difference in the prevalence of seronegative OCI according to population categories. However, it should be mentioned that the above reviews only included participants tested for PBMC unlike our work which also considered liver biopsies and ultracentrifuged serum. The strong heterogeneity recorded in our work could also be explained by the differences in HCV prevalence according to the regions with the areas of high HCV endemicity which should also be the areas of high prevalence of OCI[11]. As the different risk factors and the different approaches for controlling HCV infection also vary widely between studies, regions and populations, this could also potentially represent a considerable source of the variability observed in our work. We should also cite the examples of a history of accidental exposure to infected needle sticks, history of blood transfusion, history of surgery, history of endoscopy, history of unsafe sexual intercourse, history of liver disease, the length and frequency of dialysis sessions, immunodepression, injecting drugs, tattoos or imprisonment. Other potential sources of heterogeneity in our estimates may also include gender of

Mbaga DS *et al.* Global occult hepatitis C virus infection

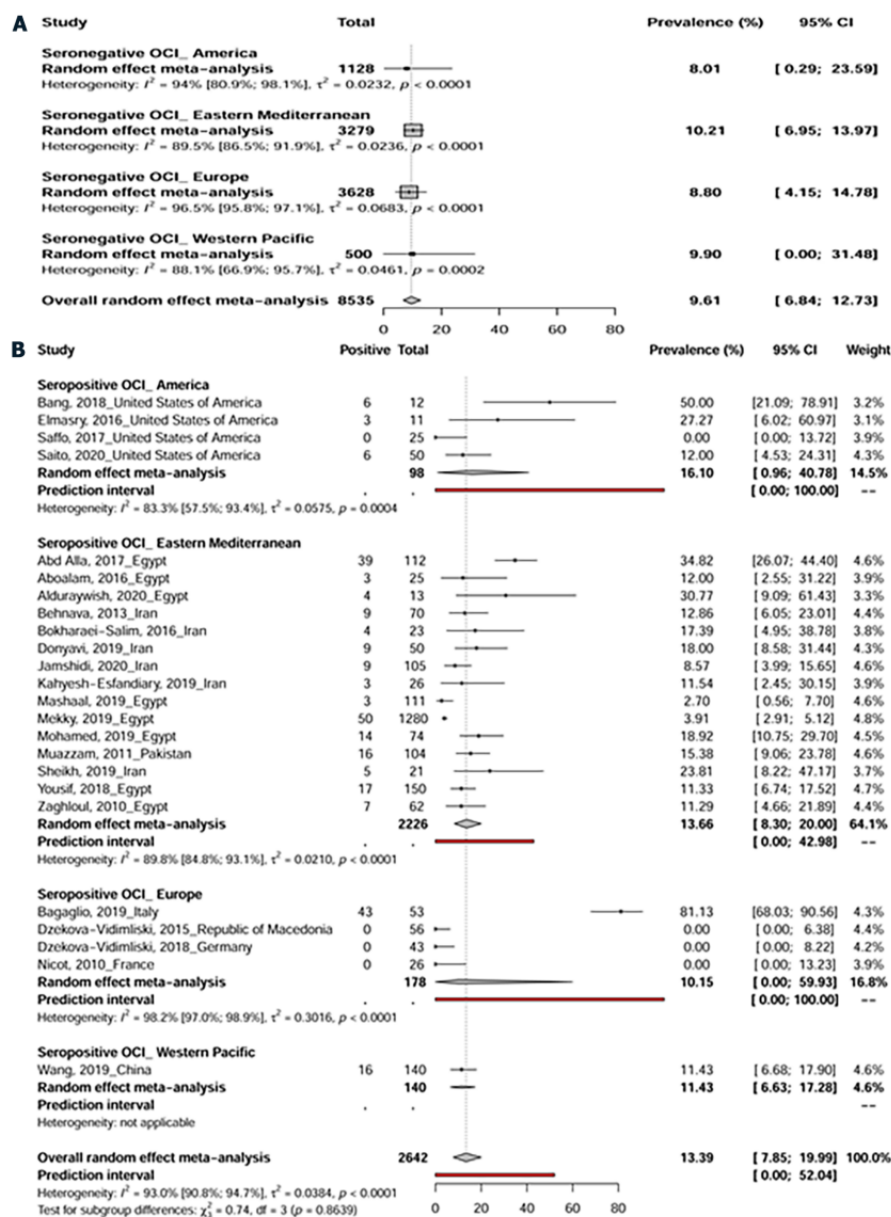


Figure 3 The pooled global prevalence of seronegative (A) and seropositive (B) occult hepatitis C virus infection.

participants, sample size, and year of participant recruitment. Our study revealed that although PBMC are an excellent non-invasive sampling approach for diagnosing OCI, liver tissue exhibits superior sensitivity for seronegative OCI. It was also found that the ultracentrifuged serum obtained was not an insignificant fraction in patients positive for OCI. These results suggest that it is potentially insufficient to test for OCI in one type of sample. We also observed that real-time RT-PCR was significantly more sensitive for the detection of seronegative OCI. This suggests a further improvement in the sensitivity of molecular techniques for OCI detection.

Our study is limited due to the included studies where the WHO Africa and South-East Asia regions are not represented. Our OCI prevalence could therefore be over- or underestimated. Substantial

residual statistical heterogeneity in prevalence measures was identified in all aggregate and subgroup meta-analyses. Despite these limitations, the main strength of our study is that we identified a very large number of studies, which covered multiple categories of symptomatic, apparently healthy populations and those at high risk of HCV infection. We also accounted for the variability of the prevalence according to the anti-HCV serostatus.

Our results suggest that the implementation of screening programs for OCI in high-risk populations, especially patients with hematologic complications, hemodialysis patients, and patients with chronic liver disease should be initiated. More studies are needed to assess the transmissibility, clinical significance, long-term outcome, and need for OCI treatment.

CONCLUSION

In conclusion, it appears that the burden of seronegative and seropositive OCI is high and very variable according to regions and categories of populations.

ARTICLE HIGHLIGHTS

Research background

In 2004, Castillo *et al* first described an unknown form of hepatitis C in humans that was different from the common chronic hepatitis C and was called occult hepatitis C Infection (OCI).

Research motivation

To eradicate hepatitis C virus (HCV) by 2030, as recommended by the WHO, it is crucial to determine the burden of OCI across the different regions of the world and in different population categories.

Research objectives

Highlight the global prevalence of seronegative and seropositive OCI according to population categories and regions of the world.

Research methods

The authors searched PubMed, EMBASE, Global Index Medicus, and Web of Science databases from inception to May 6, 2021. Data were extracted independently by each author and the Hoy *et al* tool was used to assess the quality of included studies. Prevalence and 95% confidence intervals were determined using random-effect meta-analysis.

Research results

The authors included 85 articles out of the 3950 identified by the electronic search. The combined prevalence of seronegative OCI was 9.61% (95%CI: 6.84-12.73) and the prevalence of seropositive OCI was 13.39% (95%CI: 7.85-19.99). For variations by region, seropositive OCI prevalence was higher in Southern Europe, Northern America, and Northern Africa, and seronegative OCI prevalence was higher in Southern Europe and Northern Africa. For variations by population categories, seronegative OCI prevalence was higher in patients with abnormal liver function, hematological disorders, and kidney diseases.

Research conclusions

The burden of OCI is high and greatly variable according to world regions and population categories.

Research perspectives

Consideration should be given to the implementation of screening programs for OCI in high-risk populations such as patients with hematologic disorders, kidney disease, and those with abnormal liver function.

FOOTNOTES

Author contributions: Kenmoe S, Mbaga DS, and Riwoom Essama SH were responsible for conception and design of the study as well as project administration; Mbaga DS, Kenmoe S, Njiki Bikoï J, Takuissu GR, Amougou Atsama M, Atenguena Okobalemba E, Ebogo-Belobo JT, Bowo-Ngandji A, Oyono MG, Magoudjou-Pekam JN, Kame-Ngasse GI, Nka AD, Feudjio AF, Zemnou-Tepap C, Velhima EA, Ndzie Ondigui JL, Nayang Mundo RA, Touangnou-Chamda SA, Kamtchueng Takeu Y, Taya-Fokou JB, Mbongue Mikangue CA, Kenfack-Momo R, and Kengne-Nde C were responsible for the data curation and interpretation of results; Kengne-Nde C and Kenmoe S were responsible for

Mbaga DS *et al.* Global occult hepatitis C virus infection

statistical analysis; Kenmoe S, Mbaga DS, and Riwoom Essama SH were responsible for the project supervision; Kenmoe S and Mbaga DS wrote the original draft; All authors critically reviewed the first draft and approved the final version of the paper for submission, and have read and approved the final manuscript.

Supported by the European Union (EDCIP2 programme), No. TMA2019PF-2705.

Conflict-of-interest statement: The authors deny any conflict of interest.

PRISMA 2009 Checklist statement: The authors have read the PRISMA 2009 Checklist, and the manuscript was prepared and revised according to the PRISMA 2009 Checklist.

Open-Access: This article is an open-access article that was selected by an in-house editor and fully peer-reviewed by external reviewers. It is distributed in accordance with the Creative Commons Attribution NonCommercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Country/Territory of origin: Cameroon

ORCID number: Donatien Serge Mbaga 0000-0002-9496-0445; Sebastien Kenmoe 0000-0002-5536-080X; Jacky Njiki Bikoï 0000-0002-6677-1452; Guy Roussel Takuissu 0000-0002-7478-4165; Marie Amougou-Atsama 0000-0001-6662-9045; Etienne Atenguena Okobalemba 0000-0003-1556-4389; Jean Thierry Ebogo-Belobo 0000-0002-4057-889X; Arnol Bowo-Ngandji 0000-0003-4463-1018; Martin Gael Oyono 0000-0002-0990-4087; Jeannette Nina Magoudjou-Pekam 0000-0003-0176-6174; Ginette Irma Kame-Ngasse 0000-0003-1410-5156; Alex Durand Nka 0000-0002-9358-8661; Alfloditte Flore Feudjio 0000-0001-6152-8552; Cromwel Zemnou-Tepap 0000-0001-8405-373X; Elie Adamou Velhima 0000-0002-2386-4595; Juliette Laure Ndzie Ondigui 0000-0001-6569-3950; Rachel Audrey Nayang-Mundo 0000-0002-0479-3840; Sabine Aimee Touangnou-Chamda 0000-0002-8899-1229; Yrene Kamtchueng Takeu 0000-0001-9972-9421; Jean Bosco Taya-Fokou 0000-0003-1383-885X; Chris Andre Mbongue Mikangue 0000-0001-9131-6438; Raoul Kenfack-Momo 0000-0003-2827-628X; Cyprien Kengne-Ndé 0000-0002-8338-2221; Carole Stephanie Sake 0000-0003-2919-5035; Seraphine Nkie Esemu 0000-0003-2497-4689; Richard Njouom 0000-0003-3112-6370; Lucy Ndiop 0000-0003-3511-6049; Sara Honorine Riwoom Essama 0000-0001-5090-4612.

Corresponding Author's Membership in Professional Societies: International Society of Global Health, No. 00768.

S-Editor: Ma YJ

L-Editor: Webster JR

P-Editor: Ma YJ

REFERENCES

- Centers for Disease Control and Prevention. Global Viral Hepatitis: Millions of People are Affected. 2021. Available from: <https://www.cdc.gov/hepatitis/global/index.htm>
- Blanco RY, Loureiro CL, Villalba JA, Sulbarán YF, Maes M, de Waard JH, Rangel HR, Jaspe RC, Pujol FH. Decreasing prevalence of Hepatitis B and absence of Hepatitis C Virus infection in the Warao indigenous population of Venezuela. *PLoS One* 2018; **13**: e0197662 [PMID: 29799873 DOI: 10.1371/journal.pone.0197662]
- Abdelmoemen G, Khodair SA, Abou-Saif S, Kobtan A, Abd-El Salam S. Prevalence of occult hepatitis C virus among hemodialysis patients in Tanta university hospitals: a single-center study. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018; **25**: 5459-5464 [PMID: 29214477 DOI: 10.1007/s11356-017-0897-y]
- World Health Organization. Hepatitis C. 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
- Sheikh M, Bokharaei-Salim F, Monavari SH, Ataei-Pirkooch A, Esghaei M, Moradi N, Babaei R, Fakhim A, Keyvani H. Molecular diagnosis of occult hepatitis C virus infection in Iranian injection drug users. *Arch Virol* 2019; **164**: 349-357 [PMID: 30390150 DOI: 10.1007/s00705-018-4066-5]
- Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2007; **13**: 2436-2441 [PMID: 17552026 DOI: 10.3748/wjg.v13.i17.2436]
- Ji F, Yeo YH, Wei MT, Ogawa E, Enomoto M, Lee DH, Iio E, Lubel J, Wang W, Wei B, Ide T, Preda CM, Conti F, Minami T, Bielen R, Sezaki H, Barone M, Kolly P, Chu PS, Virlogeux V, Eurich D, Henry L, Bass MB, Kanai T, Dang S, Li Z, Dufour JF, Zoulim F, Andreone P, Cheung RC, Tanaka Y, Furusyo N, Toyoda H, Tamori A, Nguyen MH. Sustained virologic response to direct-acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2019; **71**: 473-485 [PMID: 31096005 DOI: 10.1016/j.jhep.2019.04.017]
- Cacoub P, Comarmond C. Considering hepatitis C virus infection as a systemic disease. *Semin Dial* 2019; **32**: 99-107 [PMID: 30549107 DOI: 10.1111/sdi.12758]
- Forton DM, Karayiannis P, Mahmud N, Taylor-Robinson SD, Thomas HC. Identification of unique hepatitis C virus quasispecies in the central nervous system and comparative analysis of internal translational efficiency of brain, liver, and serum variants. *J Virol* 2004; **78**: 5170-5183 [PMID: 15113899 DOI: 10.1128/jvi.78.10.5170-5183.2004]
- Castillo I, Pardo M, Bartolomé J, Ortiz-Movilla N, Rodríguez-Iñigo E, de Lucas S, Salas C, Jiménez-Heffernan JA, Pérez-Mota A, Graus J, López-Alcorocho JM, Carreño V. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis* 2004; **189**: 7-14 [PMID: 14702147 DOI: 10.1093/infdis/ji001]

- 10.1086/380202]
- 11 **Austria A**, Wu GY. Occult Hepatitis C Virus Infection: A Review. *J Clin Transl Hepatol* 2018; **6**: 155-160 [PMID: 29951360 DOI: 10.14218/JCTH.2017.00053]
- 12 **Frias M**, Rivero-Juárez A, Téllez F, Palacios R, Jiménez-Arranz Á, Pineda JA, Merino D, Gómez-Vidal MA, Pérez-Camacho I, Camacho Á, Rivero A. Evaluation of hepatitis C viral RNA persistence in HIV-infected patients with long-term sustained virological response by droplet digital PCR. *Sci Rep* 2019; **9**: 12507 [PMID: 31467339 DOI: 10.1038/s41598-019-48966-9]
- 13 **Mekky MA**, Sayed HI, Abdelmalek MO, Saleh MA, Osman OA, Osman HA, Morsy KH, Hetta HF. Prevalence and predictors of occult hepatitis C virus infection among Egyptian patients who achieved sustained virologic response to sofosbuvir/daclatasvir therapy: a multi-center study. *Infect Drug Resist* 2019; **12**: 273-279 [PMID: 30774394 DOI: 10.2147/IDR.S181638]
- 14 **Vidimliski PD**, Nikolov I, Geshkovska NM, Dimovski A, Rostaing L, Sikole A. Review: Occult hepatitis C virus infection: still remains a controversy. *J Med Virol* 2014; **86**: 1491-1498 [PMID: 24895180 DOI: 10.1002/jmv.23979]
- 15 **Bartolomé J**, López-Alcorocho JM, Castillo I, Rodríguez-Iñigo E, Quiroga JA, Palacios R, Carreño V. Ultracentrifugation of serum samples allows detection of hepatitis C virus RNA in patients with occult hepatitis C. *J Virol* 2007; **81**: 7710-7715 [PMID: 17475654 DOI: 10.1128/JVI.02750-06]
- 16 **Pham TN**, MacParland SA, Mulrooney PM, Cooksley H, Naoumov NV, Michalak TI. Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of hepatitis C. *J Virol* 2004; **78**: 5867-5874 [PMID: 15140984 DOI: 10.1128/JVI.78.11.5867-5874.2004]
- 17 **Radkowski M**, Gallegos-Orozco JF, Jablonska J, Colby TV, Walewska-Zielecka B, Kubicka J, Wilkinson J, Adair D, Rakela J, Laskus T. Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; **41**: 106-114 [PMID: 15619235 DOI: 10.1002/hep.20518]
- 18 **Wang Y**, Rao H, Chi X, Li B, Liu H, Wu L, Zhang H, Liu S, Zhou G, Li N, Niu J, Wei L, Zhao J. Detection of residual HCV-RNA in patients who have achieved sustained virological response is associated with persistent histological abnormality. *EBioMedicine* 2019; **46**: 227-235 [PMID: 31345785 DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.07.043]
- 19 **Abdel-Moneim AS**. Occult hepatitis C infections: time to change the defined groups. *Microbiol Immunol* 2019; **63**: 474-475 [PMID: 31403214 DOI: 10.1111/1348-0421.12737]
- 20 **Hedayati-Moghaddam MR**, Soltanian H, Ahmadi-Ghezeldasht S. Occult hepatitis C virus infection in the Middle East and Eastern Mediterranean countries: A systematic review and meta-analysis. *World J Hepatol* 2021; **13**: 242-260 [PMID: 33708353 DOI: 10.4254/wjh.v13.i2.242]
- 21 **Martínez-Rodríguez ML**, Uribe-Nogues LA, Arroyo-Anduiza CI, Mata-Marín JA, Benítez-Arvizu G, Portillo-López ML, Ocaña-Mondragón A. Prevalence and risk factors of Occult Hepatitis C infections in blood donors from Mexico City. *PLoS One* 2018; **13**: e0205659 [PMID: 30339689 DOI: 10.1371/journal.pone.0205659]
- 22 **De Marco L**, Gillio-Tos A, Fiano V, Ronco G, Krogh V, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Merletti F, Richiardi L, Sacerdote C. Occult HCV infection: an unexpected finding in a population unselected for hepatic disease. *PLoS One* 2009; **4**: e8128 [PMID: 19956542 DOI: 10.1371/journal.pone.0008128]
- 23 **De Marco L**, Manzini P, Trevisan M, Gillio-Tos A, Danielle F, Balloco C, Pizzi A, De Filippo E, D'Antico S, Violante B, Valfré A, Curti F, Merletti F, Richiardi L. Prevalence and follow-up of occult HCV infection in an Italian population free of clinically detectable infectious liver disease. *PLoS One* 2012; **7**: e43541 [PMID: 22927986 DOI: 10.1371/journal.pone.0043541]
- 24 **Rezaee-Zavareh MS**, Hadi R, Karimi-Sari H, Hossein Khosravi M, Ajudani R, Dolatimehr F, Ramezani-Binabaj M, Miri SM, Alavian SM. Occult HCV Infection: The Current State of Knowledge. *Iran Red Crescent Med J* 2015; **17**: e34181 [PMID: 26734487 DOI: 10.5812/ircmj.34181]
- 25 **Dolatimehr F**, Khosravi MH, Rezaee-Zavareh MS, Alavian SM. Prevalence of occult HCV infection in hemodialysis and kidney-transplanted patients: a systematic review. *Future Virol* 2017; **12**: 315-322 [DOI: 10.2217/fvl-2016-0138]
- 26 **Fu S**, Zhang MM, Yao NJ, Feng YL, Zhao Y, Liu J. Prevalence of occult hepatitis C virus infection in patients with chronic liver disease: A systematic review and meta-analysis. Abstracts. *Hepatol Inter* 2020; **14**: 1-470 [DOI: 10.1007/s12072-020-10030-4]
- 27 **Carreño V**, Bartolomé J, Castillo I, Quiroga JA. New perspectives in occult hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2012; **18**: 2887-2894 [PMID: 22736911 DOI: 10.3748/wjg.v18.i23.2887]
- 28 **World Health Organization**. Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030. 2016. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/206453/WHO_HIV_2016.04_eng.pdf?jsessionid=7DF15B71373378C993210C993495CB0F?sequence=1
- 29 **World Health Organization**. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. Towards ending viral hepatitis. 2016. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HIV-2016.06>
- 30 **Moher D**, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 2009; **6**: e1000097 [PMID: 19621072 DOI: 10.1371/journal.pmed.1000097]
- 31 **Donyavi T**, Bokharaei-Salim F, Khanaliha K, Sheikh M, Bastani MN, Moradi N, Babaei R, Habib Z, Fakhim A, Esghaei M. High prevalence of occult hepatitis C virus infection in injection drug users with HIV infection. *Arch Virol* 2019; **164**: 2493-2504 [PMID: 31346769 DOI: 10.1007/s00705-019-04353-3]
- 32 **Hoy D**, Brooks P, Woolf A, Blyth F, March L, Bain C, Baker P, Smith E, Buchbinder R. Assessing risk of bias in prevalence studies: modification of an existing tool and evidence of interrater agreement. *J Clin Epidemiol* 2012; **65**: 934-939 [PMID: 22742910 DOI: 10.1016/j.jclinepi.2011.11.014]
- 33 **Higgins JP**, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; **327**: 557-560 [PMID: 12958120 DOI: 10.1136/bmj.327.7414.557]
- 34 **Egger M**, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; **315**: 629-634 [PMID: 9310563 DOI: 10.1136/bmj.315.7109.629]
- 35 **Borenstein M**, Hedges LV, Higgins JPT, Rothstein HR. Introduction to Meta-Analysis. 1 ed: John Wiley & Sons, Ltd, 2009 [DOI: 10.1002/9780470743386]

Mbaga DS *et al.* Global occult hepatitis C virus infection

- 36 **Schwarzer G.** meta: An R Package for Meta-Analysis. *R News* 2007; **7**: 7
- 37 **Alavian SM,** Kabir A, Ahmadi AB, Lankarani KB, Shabbabaie MA, Ahmadzad-Asl M. Hepatitis C infection in hemodialysis patients in Iran: a systematic review. *Hemodial Int* 2010; **14**: 253-262 [PMID: 20491973 DOI: 10.1111/j.1542-4758.2010.00437.x]
- 38 **Rostami Z,** Nourbala MH, Alavian SM, Bieraghdar F, Jahani Y, Einollahi B. The impact of Hepatitis C virus infection on kidney transplantation outcomes: A systematic review of 18 observational studies: The impact of HCV on renal transplantation. *Hepat Mon* 2011; **11**: 247-254 [PMID: 22087151]
- 39 **Su Y,** Norris JL, Zang C, Peng Z, Wang N. Incidence of hepatitis C virus infection in patients on hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *Hemodial Int* 2013; **17**: 532-541 [PMID: 23072424 DOI: 10.1111/j.1542-4758.2012.00761.x]
- 40 **Rezaee-Zavareh MS,** Ramezani-Binabaj M, Moayed Alavian S. Screening for occult hepatitis C virus infection: Does it need special attention? *Hepatology* 2015; **62**: 321-322 [PMID: 25476196 DOI: 10.1002/hep.27626]
- 41 **Alavian SM,** Rezaee-Zavareh MS. The Middle East and hepatitis C virus infection: does it need special attention? *Lancet Infect Dis* 2016; **16**: 1006-1007 [PMID: 27684342 DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30264-X]
- 42 **Kouyoumjian SP,** Chemaitelly H, Abu-Raddad LJ. Characterizing hepatitis C virus epidemiology in Egypt: systematic reviews, meta-analyses, and meta-regressions. *Sci Rep* 2018; **8**: 1661 [PMID: 29374178 DOI: 10.1038/s41598-017-17936-4]

Seroprevalence of HBsAg in Patients with Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma at the Earliest Endpoint of treatment: A Cross-Sectional Study

Seroprevalence of HBsAg in Patients with Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma

Donatien Serge Mbaga¹, Jacky Njiki Biko¹, Etienne Atenguena Okobalemba², Justin Olivier Essindi¹, Chris André Mbongue Mikangue¹, Sabine Aimée Touangnou-Chamda¹, Alexandra Emmanuelle Membangbi¹, Aicha Ngoutane^{1,3}, Arnaud Franck Elang¹, Carole Stéphanie Sake¹, George Ikomey Mondinde⁴, Sebastien Kenmoe⁵, Sara Honorine Riwom Essama¹ *

¹-Department of Microbiology, The University of Yaounde I, Yaoundé, Cameroon

²- Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

³- Institute of Medical Research and Medicinal Plant Study, Yaoundé, Cameroon

⁴- Centre for the Study and Control of Communicable Diseases (CSCCD), Yaoundé, Cameroon

⁵- Department of Microbiology and Parasitology, University of Buea, Buea, Cameroon,

Abstract:- Background: The ideal goal of therapy of Hepatitis B virus (HBV) infection should be host sterilization which corresponding to clearance of HBsAg from serum and of covalently closed circular DNA (cccDNA) from hepatocytes. Good combination of actual therapies may allow achievement of HBV sterilization in host. The aim of this study was to highlight seroprevalence of HBsAg in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma (HCC) at the earliest endpoint of treatment.

Methods: During a cross-sectional study, consenting participants with chronic liver disease and HCC recruited between December 2020 and March 2022 at the Yaoundé General Hospital (YGH) and the University Teaching Hospital of Yaoundé (UTHY) provided five milliliters of blood sample. A qualitative search for HBsAg was performed by Rapid Diagnostic Tests (RDTs) and Monolisa™ HBs Ag ULTRA. Data analysis were performed using SPSS Version 25.0 software.

Results: Out of the 135 patients tested for HBsAg, 69 samples were positive simultaneously with RDTs and Monolisa™ HBs Ag ULTRA, 37 (100.0%), 19 (100.0%), 13 (100.0%) respectively in participants with chronic hepatitis, cirrhosis, and HCC ($P < 0.0001$).

Conclusion: Our results showed a high prevalence of HBsAg in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at the 24th week of their treatment.

Keywords:- HBsAg, Chronic Hepatitis, Cirrhosis, Hepatocellular Carcinoma.

I. INTRODUCTION

The World Health Organization (WHO) estimates that approximately 354 million people are living chronically with hepatitis B virus (HBV) worldwide (WHO, 2022) and this chronic infection can lead to cirrhosis and hepatocellular

carcinoma (HCC) (Andoulo et al., 2013). Epidemiological data estimate that 50% of HCC cases are attributable to HBV infection worldwide (Mbaga et al., 2022) and that the number of HBV-related deaths from cirrhosis or HCC has increased considerably over the past 20 years (Harris et al., 2019). In Africa, HBV is endemic and take up considerable proportions among the 96% of mortality attributable to viral hepatitis in people living with cirrhosis and those with HCC (OMS regional Afrique, 2018). In Cameroon, the overall prevalence of HBV is around 11.2% (Bigna et al., 2017) and vary considerably across different types of Cameroonian population (Andoulo et al., 2013; Bigna et al., 2017; Djuidje Ngounou et al., 2018; Eyong et al., 2019; Ndifontaiyong et al., 2021; Ngoupa et al., 2019; Njouom et al., 2018; Noah et al., 2016; Tsague et al., 2019). To date, treatments against HBV infection focus on achieving the virological response which manifests by an undetectable viral load at the 24th or 48th week of treatment (Aljumah et al., 2019) and normalization of aminotransferase levels which allows the host immune system to gain control over the infection (Tang et al., 2018). But this is rarely achieved, either spontaneously or through treatment [16]. Following the suppression of polymerase activity by Direct Acting Antivirals (DAA), serum HBV DNA is rapidly reduced without directly affecting HBsAg production (Soriano et al., 2020) however, obtaining HBsAg seroclearance during treatment marks a functional cure (Tout et al., 2021) and this can lead to the elimination of HBV (Soriano et al., 2020). Indeed, the ideal goal of therapy against HBV infection should be host sterilization corresponding to clearance of HBsAg from serum and covalently closed circular DNA (cccDNA) from hepatocytes (Hutin et al., 2018). Current treatment for HBV infection such as nucleos(t)ide analogues or immune modulators like pegylated interferon alpha were proved to effective decreasing viral replication (Choi et al., 2022; Xu et al., 2018) HBV treatment aims to prevent or significantly delay liver-related morbidity and mortality (Martinez et al., 2021). Because a complete cure with the eradication of cccDNA is not a realistic goal with the current therapeutic options, a functional

cure, defined as durable loss of HBsAg with or without seroconversion, is considered as the optimal treatment endpoint, and it is associated with significantly improved patient outcomes (French et al., 2020). The efficacy of antivirals has markedly improved the long-term outcomes of patients with HBV infection (Lin & Kao, 2016). However, clearance of HBsAg is only achieved in a small portion of HBV patients therefore, a cure of HBV infection is still a daunting challenge (Baltayiannis & Karayiannis, 2014). Good combination of actuals HBV therapies may allow achievement of HBV sterilization in host (Tout et al., 2021). We have led this study to highlight proportion of patients with HBV infection capable to get seroclearance of HBsAg at the earliest endpoint of treatment.

II. METHODS

A. Study design and setting

We conducted a cross-sectional study at the hepatogastroenterology departments of the Yaoundé General Hospital (YGH) and internal medicine of the University Teaching Hospital of Yaounde (UTHY) between December 2020 and March 2022.

B. Study population and sampling

The study population was composed of participants with Chronic Liver Disease and those with Hepatocellular Carcinoma (HCC). The aim of the study was explained to all consent participants before their inclusion. All participants were HBe Ag positive at the beginning of their treatment 24 weeks ago. Participants were divided into 3 groups. Group 1 consisted of participants with chronic hepatitis (CH) who were negative for cirrhosis and HCC. Group 2 consisted of participants with cirrhosis who were negative for HCC. Group 3 was composed of participants with HCC. The participants who were 21 years of age or older were chosen, regardless of their sex, age, or nationality. Participant having hepatitis C Virus (HCV), Human Immunodeficiency Virus (HIV) and those under or upper 24th weeks of treatment, were excluded from the analysis.

C. Procedure for collecting socio-demographic and clinical data

Data collection from each participant was done consecutively and prospectively. For each consenting participant, qualitative and quantitative variables were collected by interviewing the participant and by blood samples analysis. The qualitative variables collected were: Sex, marital status, scarification, tattoos and piercing, alcohol consumption before the discovery of the disease; tobacco consumption before the discovery of the disease; surgical history; history of blood transfusion; vaccination against HBV. The quantitative variables collected were Age; ALT (GPT); AST (GOT); AFP;

D. Collection and fate of blood samples

Five milliliters of blood samples were taken in EDTA tubes. The samples were divided into three aliquots of the same volume each. The first aliquot was used for the search for HBsAg, HCV and HIV the second aliquot was used for the quantification of ALT, AST, and AFP. The third aliquot was stored for further analysis.

E. Biological analysis of samples

➤ Search for HBs Ag

We carried out Rapid Diagnosis Tests (RDTs) to detect Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg), HCV and Anti-HIV respectively by HEXAGON HBsAg, Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA and Alere Determine™ for HIV-1/2 manufactured respectively in Japan, USA and Germany according to the instructions of the designers. Positive HBsAg results were confirmed by Monolisa™ HBs Ag ULTRA for the detection of HBsAg manufactured in the USA.

➤ AFP, ALT, and AST quantification

The quantification of AFP and transaminases (ALT and AST) was carried out only on HBs Ag positive samples with Monolisa™ HBs Ag ULTRA. Thirty participants positive to HBsAg were randomly selected by using a random number generator in Microsoft Excel. The codes corresponding to the aliquots were all used in analyses. AFP quantification was performed using Finecare™ Rapid AFP Quantitative Strip (made in China) which uses fluorescence immunochromatography Assay and Finecare™ FIA Meter device. Quantification of transaminases (ALT and AST) was performed using SPRINREACT reagents (made in Spain) and a spectrophotometer.

F. Ethical considerations

To respect the ethics of medical research, the study was authorized by the University Teaching Hospital of Yaoundé (N° 3235/AR/CHUY/DG/DGA/CAPRC), Yaoundé General Hospital (N/Ref: 213-21/HGY/DG/DPM/MA-TR). The Centre for the Study and Control of Communicable Diseases of the Faculty of Medicine and Biomedical Sciences of the University of Yaoundé. Each patient who participated in this study read the information sheet then gave their signed consent and finally an anonymity code was assigned to them.

G. Sample Size calculation

The minimum study sample size was 208 participants. The calculation of this sample size was made using 11.2% HBV prevalence in Cameroon (Bigna et al., 2017) and according to GLOBOCAN data from 2020 which provided a prevalence of 3.7% for liver cancer in Cameroon (GLOBOCAN, 2020). This calculation was made using the following formula:

$$n = P(1-P)(Z_{1-\alpha})^2 / i^2$$
 (Wang & Ji, 2020) with $Z_{1-\alpha} = 1.96$; $i = 0.05$; $P =$ prevalence of outcomes.

H. Statistical analysis

For each participant recruited, qualitative and quantitative variables were collected by either interviewing the participant, or analyzing blood samples. The collected data were recorded and processed using the Excel Version 2016 (Microsoft Corp., USA). Analyses were done using the biostatistical software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 25.0. The Chi-square test allowed us to compare the proportions between the different groups and the non-parametric Kruskal Wallis test allowed us to compare the means $\pm$ standard deviations between the different groups. A p-value of < 0.05 was considered statistically significant.

III. RESULTS

A. Participants

We offered the study to 619 patients who came for consultation at the UTHY or the YGH, respectively 331 patients at the UTHY and 288 patients at the YGH. Of these 619 patients, 41 refused to participate to the study, which gave a non-response rate of 6.6%, and 93 were excluded because they were on their first medical visit. One hundred and ninety-two patients were excluded because they were infected with HCV. Of the 294 HBV patients submitted to treatment, 48 were excluded because HIV. Among the remaining 246 HIV-

negative participants, 80 participants were at less than 24 weeks of treatment, 135 were at 24 weeks of treatment and 31 were at more than 24 weeks of treatment. Of the 135 eligible participants, only 97 participants were positive for HBsAg with the HEXAGON HBsAg RDTs, respectively 65 participants with CH, 19 with cirrhosis, and 13 with HCC. Of these only 69 samples were positive for HBsAg by Monolisa™ HBs Ag ULTRA, respectively 37 CH, 19 cirrhosis, and 13 HCC among which we randomly selected 10 CH, 10 cirrhosis, and 10 HCC samples, to quantify the AFPs, transaminases (ASAT, ALAT), (Figure 1).

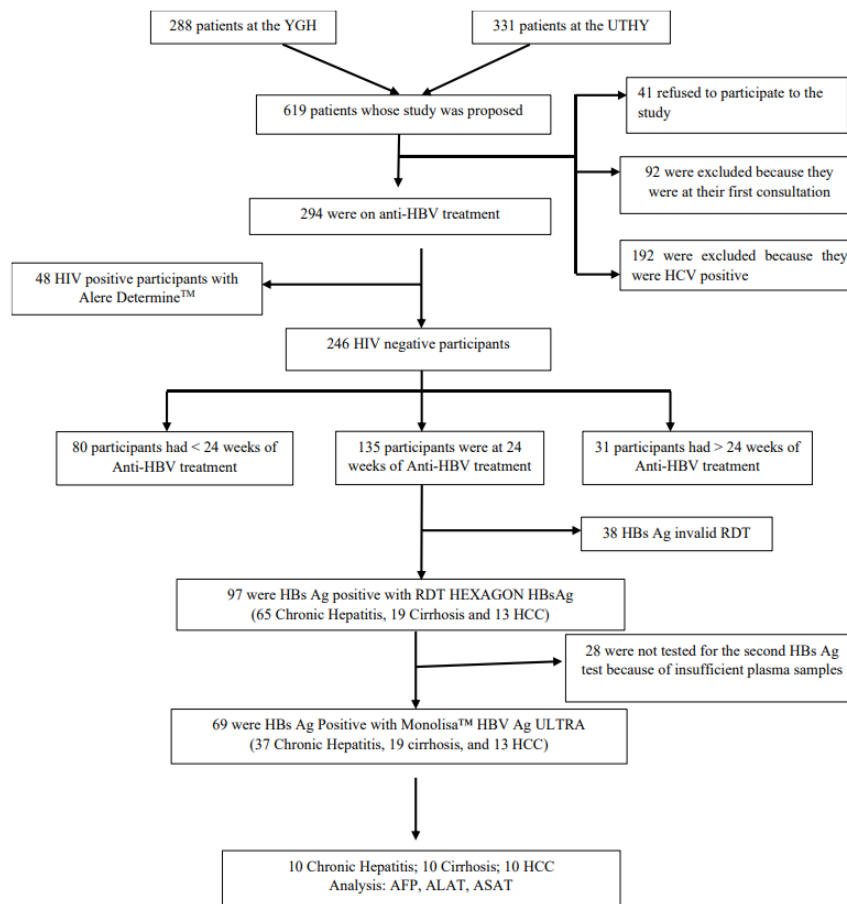


Figure 1: Flow Chart of selection of participants with Chronic Hepatitis, Cirrhosis, and Hepatocellular Carcinoma between December 2020 and March 2022

B. Sociodemographic and clinical characteristics of study participants

Overall, the age of the participants was between 26 and 71 years old. Depending on the group considered, the participants with HCC had the most advanced mean age $\pm$ SD of 65.08 ± 3.9 years. The 60-69 age group was the most represented with 8 (12.3%); 4 (21.05%) and 11 (65.5%) participants with chronic hepatitis, respectively; Cirrhosis, and HCC. The male sex was in the majority regardless of the group considered with 11 (84.6%); 13 (68.4%) and 41 (63.07%) respectively for participants with HCC, Cirrhosis, and CH. (Table 1).

Table 1: Sociodemographic and clinical characteristics of the HBsAg positive participants at 24 weeks of treatment

	CH n=65 n(%)	Cirrhosis n=19 n(%)	HCC n=13 n(%)
Age			
Mean±Standard Deviation	46.6±13.7	45.8±16.1	65.08±3.9
20-29	4 (6.1)	4 (21.05)	//
30-39	8 (12.3)	5 (26.3)	//
40-49	7 (10.7)	//	//
50-59	9 (13.8)	5 (26.3)	//
60-69	8(12.3)	4(21.05)	11(84.6)
70-79	1(1.5)	1(5.2)	2(15.3)
Gender (Male)	41 (63.07)	13 (68.4)	11(84.6)
Scarification	6 (9.2)	3(15.7)	4(30.7)
Tattoo	9(13.8)	5 (26.3)	//
Surgical history	3 (4.6)	1(5.2)	1(7.6)
Blood transfusion	8(12.3)	1(5.2)	3 (23.07)
Alcohol consumption before illness	10 (15.3)	3(15.7)	2(15.3)
Smoking before illness	//	1(5.2)	2(15.3)
Vaccination against HBV (No)	65 (100.0)	19 (100.0)	13 (100.0)
HBV treatment			
Lamivudine	23(35.3)	3(15.7)	2(15.3)
Tenofovir	13(20.0)	4(21.05)	5(38.4)
Tenofovir+ Emtricitabine	29(44.6)	12(48.0)	6 (46.1)

HCC: Hepatocellular Carcinoma; CH: Chronic hepatitis; HBV: Hepatitis B Virus

C. Virological profile of study participants

After carrying out the RDTs for the search of HBsAg on the 135 participants at the 24th week of treatment, we obtained 97 positive participants for HBsAg, respectively 65 (73.6%) CH participants, 19 (63.3%) cirrhosis and 13 (76.4%) HCC positive for HBsAg (P <0.0001) (Table 2). With the Monolisa™ HBs Ag ULTRA, HBs Ag was carried out on 97 patients positive for HBs Ag by TDR. Of these, 28 were not tested because of insufficient plasma samples. All the remaining 69 samples had a ratio > 1. Samples with ratio ≤1 were considered negative and samples with ratio > 1 were considered positive. These were declared positive for HBV with Monolisa™ HBs Ag ULTRA, respectively 37 (56.9%), 19 (100.0%), and 13 (100.0%) for participants with chronic hepatitis, cirrhosis, and HCC (P<0.0001) (Table 3).

Table 2: Profile of participants screened for HBsAg by RDTs at 24 weeks of treatment

Virological marker	HC n(%)	Cirrhosis n(%)	HCC n(%)	P-value
HBsAg				
Invalid RDT	23(26.1)	11(8.1)	4(23.5)	
Positive RDT	65(73.6)	19(63.3)	13(76.4)	<0.0001

HCC: Hepatocellular Carcinoma; CH: Chronic hepatitis; HBV: Hepatitis B Virus

Table 3: Profile of participants screened for HBsAg by Monolisa™ HBs Ag ULTRA at 24 weeks of treatment

Virological markers	HC n (%)	Cirrhosis n (%)	HCC n (%)	P-value
HBsAg				
Positive ELISA	37(100.0)	19(100.0)	13(100.0)	<0.000 1

HCC: Hepatocellular Carcinoma; CH: Chronic hepatitis; HBV: Hepatitis B Virus

D. Biochemical markers of HBsAg positive participants simultaneously with RDT and Monolisa™ HBs Ag ULTRA.

The biochemical profile of the participants consisted of the search for transaminases and AFP on the samples of the participants positive for the RDTs and Monolisa™ HBs Ag ULTRA tests and chosen randomly. Overall, the biochemical profile of participants positive for HBsAg was carried out on 30 samples distributed as follows: 10 samples from participants with chronic hepatitis (CH), 10 samples from participants with cirrhosis, and 10 samples from participants with HCC. It appears that only HCC patients had an abnormal average ALT (GPT) and AST (GPT) of 76.9 ± 10.1 IU/L and 73.7 ± 11.2 IU/L respectively compared to the participants. with CH and Cirrhosis P <0.0001 (Table 4).

Table 4: Biochemical markers of randomly selected HBsAg-positive participants

	CH (n=10)	Cirrhosis (n =10)	HCC (n =10)	p-value
ALT (GPT) IU/L	28.2±12.7	57.6±9.6	76.9 ±10.1	<0.000 1
AST (GOT) IU/L	23.3±4.0	53.3±7.9	73.7 ±11.2	<0.000 1
AFP ng /ml	75.6±29.5	95.5±38.8	203.7 ±45.2	<0.000 1

HCC: Hepatocellular Carcinoma; CH: Chronic hepatitis; HBV: Hepatitis B Virus

IV. DISCUSSION

This study aimed to estimate the seroprevalence of HBsAg in participants with chronic liver disease and HCC at the 24th week of their treatment. Of the 135 patients tested, 69 samples were positive for HBsAg simultaneously with RDTs and Monolisa™ HBs Ag ULTRA, 37 (100.0%), 19 (100.0%), 13 (100.0%) respectively in participants with CH, cirrhosis, and HCC ($P < 0.0001$). The main objective of the antiviral treatment currently administered to patients is the complete suppression of HBV replication, which has little or no effect on HBsAg levels. Indeed, HBsAg is an envelope protein of HBV which is associated with covalently closed circular DNA (cccDNA) found inside hepatocytes and cccDNA is a structure with high resistance to the activity of currently available antiviral drugs (Lai et al., 2014). In fact, there is growing evidence that serum HBsAg, usually assessed as a qualitative marker for the diagnosis of HBV, could also be an additional tool to monitor the effects of treatment of HBV infection (Yoshida, 2014). The current research challenge is to find treatments that can increase the elimination of HBsAg, but this first requires the identification of predictive factors for treatment failure which can be combined with immunological factors in the prediction of HBsAg elimination (Tout et al., 2021). This therefore places HBsAg as a good indicator of therapeutic efficacy for preliminary evaluation of the effect of treatment on cccDNA (Huang et al., 2022). Although the induction and maintenance of long-term HBV suppression remain the primary goal of antiviral treatment, the elimination of HBsAg remains an optimal treatment endpoint (Gramenzi et al., 2011).

Depending on the three groups studied, the chronic hepatitis group was in the majority with 37 participants respectively, but the HCC group had the highest average age with 65.08 ± 39 years, a sex ratio of 1.9 in favor of men, and a predominance of HCC in the 60-69 age group. Our results are similar to those reported in previous studies conducted on participants with liver disease and HCC in Cameroon and some African countries such as Gabon, Gambia, and Nigeria (Amougou et al., 2016; Andoulo et al., 2013; Echejoh et al., 2008; Mboto et al., 2005; Perret et al., 2002) HCC participants had the highest ALT (GPT), AST (GOT) and AFP levels with respectively 76.9 ± 10.1 IU/L, 73.7 ± 11.2 IU/L, 203.7 ± 45.2 ng/mL compared to participants with CH and Cirrhosis ($P < 0.0001$). The transaminase test (ALT and AST) is simple, practical, inexpensive and non-invasive but not specific to liver disease. Indeed, transaminases are present respectively in the cytoplasm and mitochondria of hepatocytes and muscle cells. When hepatocytes are damaged by the cytopathic effects of oncogenic hepatitis viruses, transaminases are released into the bloodstream resulting in increased serum levels of ALT and AST in the peripheral blood. It is also possible that inflammatory stimulation due to tumor progression evidently

stimulates hepatocytes to produce abundant amounts of transaminases compared to what will be found in patients with early liver disease (Ayuso et al., 2018; EASL, 2017; W. Wang & Wei, 2020). Besides its role in the diagnosis of HCC, we observed elevated serum AFP levels in participants with HCC. AFP is currently the most widely used serum biomarker for screening and early diagnosis of HCC, as well as for evaluating the efficacy and prognosis of HCC treatment. However, not all HCC tumors contribute to an increase in AFP levels. It is therefore important to explore the search for new biomarkers capable of overcoming the shortcomings of transaminases and AFP to complement x-ray examinations (Ghenea et al., 2021).

The results obtained in our study can be used to update and add epidemiological data to influence policy makers in HBV infection control policy. Lifelong treatment can be a burden on health systems in some developing countries, therefore it becomes imperative that research for the development of sterilization treatments for HBV infection be effective in countries with high morbidity of HBV (Hall et al., 2020). In this study we excluded all participants with comorbidities such as diabetes, and HIV because immunosuppressive diseases may increase the proportion of participants with HBsAg at the 24th week of treatment. We did not search Hepatitis D and E Viruses (HDV) and (HEV) in these study participants yet HDV is known to be a satellite virus of HBV (Amougou et al., 2016) and in 2017, Amougou Atsama et al reported a high prevalence of HEV in Cameroonian patients with HCC (Amougou Atsama et al., 2017). Only plasma samples were considered in this work, we could have obtained more revealing results if we had used serum, whole blood or biopsy fragments. We were unable to screen study participants for the concurrent presence of HBsAg and other serum HBV markers such as HBeAg, HBcAg, Anti-HBs, Anti-HBe and Anti-HBc. As other limitations, we can note the lack of staging of cirrhotic participants and those with HCC. To achieve the WHO goals to eliminate HBV by 2030, sub-Saharan Africa will need to actively prioritize the implementation of several elimination strategies such as the introduction of free HBV treatment by national policies. Identify groups at high risk of treatment failure in order to take steps to limit the spread of antiviral resistance.

V. CONCLUSION

Our results showed a high prevalence of HBsAg in patients with liver disease and hepatocellular carcinoma at the 24th week of their treatment. This indicates a relatively very short time to assess the loss of HBsAg which is a good serological marker for evaluating functional cure.

ACKNOWLEDGMENT

We thank the University Teaching Hospital of Yaoundé, Yaoundé General Hospital, the CSCCD of FMBS of the University of Yaoundé, and the Laboratory of Microbiology of the University of Yaoundé for respectively authorizing this work and giving use of the workspace. We also thank all participants for agreeing to participate in this work.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interest.

FUNDING:

This study did not receive any funding.

REFERENCES

- [1]. WHO. Hepatitis overview. 2022. <https://www.who.int/health-topics/hepatitis>. Accessed 13 April 2022.
- [2]. Andoulo FA, Kowo M, Talla P, Medjo EH, Djapa R, Njoya O, et al. Epidemiology of Hepatitis B-Associated Hepatocellular Carcinoma in Cameroon. 2013;14:4.
- [3]. Mbaga DS, Kenmoe S, Kengne-Ndé C, Ebogo-Belobo JT, Mahamat G, Foe-Essomba JR, et al. Hepatitis B, C and D virus infections and risk of hepatocellular carcinoma in Africa: A meta-analysis including sensitivity analyses for studies comparable for confounders. *PLoS One*. 2022;17(1):e0262903.
- [4]. Harris PS, Hansen RM, Gray ME, Massoud OI, McGuire BM, Shoreibah MG. Hepatocellular carcinoma surveillance: An evidence-based approach. *World J Gastroenterol*. 2019;25(13):1550–1559.
- [5]. OMS regional Afrique. Rapport de situation sur la mise en œuvre du cadre d'action de la stratégie mondiale du secteur de la santé pour la prévention, les soins et le traitement de l'hépatite virale 2016-2021 dans la Région Africaine: document d'information.(No. AFR/RC68/INF. DOC/6).Organisation mondiale de la Santé. Bureau régional de l'Afrique. 2018. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/276214/AFR-RC68-INF-DOC-6-fre.pdf>. Accessed 16 April 2022.
- [6]. Bigna JJ, Amougou MA, Asangbeh SL, Kenne AM, Noumegni SRN, Ngo-Malabo ET, et al. Seroprevalence of hepatitis B virus infection in Cameroon: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2017;7(6):e015298.
- [7]. Djuidje Ngounou M, Fepa Kwesseu A, Nwobegahay J, Fewou P. HBV and HCV Seroprevalence and the Predominant HCV Genotypes in a Hospital Setting in Cameroon. *Virology*. 2018;07(02). doi:10.4172/2161-0517.1000178.
- [8]. Noah DN, Andoulo FA, Bonny AB, Doungé BD, Eloumou SAF, Zogo PO. Prévalence du carcinome Hépatocellulaire chez les porteurs d'hépatopathie chronique à Yaoundé - Cameroun. *Revue de Médecine et de Pharmacie*. 2016;6(1):507–513.
- [9]. Tsague MK, Fotio AL, Bomgning CLK, Nguefack-Tsague G, Fopa F, Nguefack TB. Prevalence of viral and non-viral hepatitis in Menoua Division, West Region, Cameroon: a retrospective hospital-based study. *The Pan African Medical Journal*. 2019;32(212). doi:10.11604/pamj.2019.32.212.16495.
- [10]. Ngoupa JB, Njukeng PA, Akwa EN, Kengne M, Tamoufe U, Goon DT, et al. Seroprevalence and associated risk factors for Hepatitis B virus infection among barbers and their clients in two cities in Cameroon. *Southern African Journal of Infectious Diseases*. 2019;0(0):1–5.
- [11]. Njoum R, Siffert I, Texier G, Lachenal G, Tejiokem MC, Pépin J, et al. The burden of hepatitis C virus in Cameroon: Spatial epidemiology and historical perspective. *J Viral Hepat*. 2018;25(8):959–968.
- [12]. Ndifontayong AN, Ali IM, Sokoudjou JB, Ndimumeh JM, Tume CB. The Effect of HBV/HCV in Response to HAART in HIV Patients after 12 Months in Kumba Health District in the South West Region of Cameroon. *Trop Med Infect Dis*. 2021;6(3):150.
- [13]. Eyong EM, Yankam BM, Seraphine E, Ngwa CH, Nkfusai NC, Anye CS, et al. The prevalence of HBsAg, knowledge and practice of hepatitis B prevention among pregnant women in the Limbe and Muyuka Health Districts of the South West region of Cameroon: a three-year retrospective study. *Pan Afr Med J*. 2019;32:122.
- [14]. Aljumah AA, Bin Selayem NA, Al-Howti SY, Dafallah M, AlGhamdi H, Mokhtar H, et al. Clinical and virological outcomes of entecavir therapy in patients with chronic hepatitis B: A real life experience. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2019;25(1):12–16.
- [15]. Tang LSY, Covert E, Wilson E, Kottitil S. Chronic Hepatitis B Infection: A Review. *JAMA*. 2018;319(17):1802.
- [16]. Vlachogiannakos J, Papatheodoridis GV. Hepatitis B: Who and when to treat? *Liver Int*. 2018;38:71–78.
- [17]. Soriano V, Barreiro P, Cachay E, Kottitil S, Fernandez-Montero JV, de Mendoza C. Advances in hepatitis B therapeutics. *Therapeutic Advances in Infection*. 2020;7:204993612096502.
- [18]. Tout I, Lampertico P, Berg T, Asselah T. Perspectives on stopping nucleos(t)ide analogues therapy in patients with chronic hepatitis B. *Antiviral Research*. 2021;185:104992.
- [19]. Hutin Y, Nasrullah M, Easterbrook P, Nguimfack BD, Burrone E, Averhoff F, et al. Access to Treatment for Hepatitis B Virus Infection — Worldwide, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2018;67(28):773–777.
- [20]. Xu W, Zhang Q, Zhu X, Lin C, Chen Y, Deng H, et al. 48-Week Outcome after Cessation of Nucleos(t)ide Analogue Treatment in Chronic Hepatitis B Patient and the Associated Factors with Relapse. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;2018:1–11.
- [21]. Choi HSJ, Tonthat A, Janssen HLA, Terrault NA. Aiming for Functional Cure With Established and Novel Therapies for Chronic Hepatitis B. *Hepatology Communications*. 2022;6(5):935–949.

- [22]. Martinez MG, Boyd A, Combe E, Testoni B, Zoulim F. Covalently closed circular DNA: The ultimate therapeutic target for curing HBV infections. *Journal of Hepatology*. 2021;75(3):706–717.
- [23]. French J, Locarnini S, Zoulim F. Direct-acting antivirals and viral RNA targeting for hepatitis B cure: Current Opinion in HIV and AIDS. 2020;15(3):165–172.
- [24]. Lin C-L, Kao J-H. Review article: novel therapies for hepatitis B virus cure - advances and perspectives. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;44(3):213–222.
- [25]. Baltayiannis G, Karayiannis P. Treatment options beyond IFN α and NUCs for chronic HBV infection: expectations for tomorrow. *J Viral Hepat*. 2014;21(11):753–761.
- [26]. GLOBOCAN. Cancer today. 2020. <http://gco.iarc.fr/today/home>. Accessed 23 February 2022.
- [27]. Wang X, Ji X. Sample Size Estimation in Clinical Research: From Randomized Controlled Trials to Observational Studies. *Chest*. 2020;158(1S):S12–S20.
- [28]. Lai J, Sun H, Jie Y, Zhang K, Ke W. Serum HBsAg level and its clinical significance in lamivudine treatment for patients with HBsAg-negative acute-on-chronic liver failure. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014;22:78–82.
- [29]. Yoshida EM. Concordance of sustained virologic response at weeks 4, 12 and 24 post-treatment of hepatitis C in the era of new oral direct-acting antivirals: A concise review. 6.
- [30]. Huang D, Wu D, Wang P, Wang Y, Yuan W, Hu D, et al. End-of-treatment HBcrAg and HBsAb levels identify durable functional cure after Peg-IFN-based therapy in patients with CHB. *Journal of Hepatology*. 2022;S0168827822000666.
- [31]. Gramenzi A, Loggi E, Micco L, Cursaro C, Fiorino S, Galli S, et al. Serum hepatitis B surface antigen monitoring in long-term lamivudine-treated hepatitis B virus patients: HBsAg in lamivudine-treated chronic hepatitis B. *Journal of Viral Hepatitis*. 2011;18(10):e468–e474.
- [32]. Perret J-L, Moussavou-Kombila J-B, Delaporte E, Pemba L-F, Boguikouma J-B, Matton T, et al. [HBs Ag and antibodies to hepatitis C virus in complicated chronic liver disease in Gabon. A case control study]. *Gastroenterol Clin Biol*. 2002;26(2):131–135.
- [33]. Echejoh G, Tanko NM, Manasseh A, Ogala-Echejoh S, Ugoya S, Mandong B. Hepatocellular carcinoma in Jos, Nigeria. *Nigerian journal of medicine: journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria*. 2008;17:210–3.
- [34]. Mboto CI, Davies-Russell A, Fielder M, Jewell AP. Hepatocellular Carcinoma in The Gambia and the role of Hepatitis B and Hepatitis C. *Int Semin Surg Oncol*. 2005;2:20.
- [35]. Amougou MA, Noah DN, Moundipa PF, Pineau P, Njouom R. A prominent role of Hepatitis D Virus in liver cancers documented in Central Africa. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):647.
- [36]. Wang W, Wei C. Advances in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Genes Dis*. 2020;7(3):308–319.
- [37]. Ayuso C, Rimola J, Vilana R, Burrel M, Darnell A, García-Criado Á, et al. Diagnosis and staging of hepatocellular carcinoma (HCC): current guidelines. *Eur J Radiol*. 2018;101:72–81.
- [38]. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu, European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017;67(2):370–398.
- [39]. Ghenea AE, Pădureanu V, Cioboată R, Udriștoiu A-L, Drocaș AI, Țieranu E, et al. The Study of Clinical and Biochemical Parameters in Assessing the Response to the Antiviral Therapy in the Chronic Viral Hepatitis B. *Medicina*. 2021;57(8):757.
- [40]. Hall S, Howell J, Visvanathan K, Thompson A. The Yin and the Yang of Treatment for Chronic Hepatitis B—When to Start, When to Stop Nucleos(t)ide Analogue Therapy. *Viruses*. 2020;12(9):934.
- [41]. Amougou Atsama M, Atangana PJA, Noah Noah D, Moundipa PF, Pineau P, Njouom R. Hepatitis E virus infection as a promoting factor for hepatocellular carcinoma in Cameroon: Preliminary Observations. *International Journal of Infectious Diseases*. 2017;64:4–8.

Research



Seroprevalence of hepatitis C virus antigen in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at 12th week of treatment: a cross-sectional study

 Donatien Serge Mbaga,  Jacky Njiki Bikoï,  Etienne Atenguena Okobalemba, Justin Olivier Essindi,  Chris André Mbongue Mikangue,  Alexandra Emmanuelle Membangbi,  Aïcha Ngoutane,  Arnaud Franck Elang,  Sabine Aimée Touangnou-Chamda,  Carole Stéphanie Sake, George Ikomey Mondinde,  Sebastien Kenmoe,  Sara Honorine Riowm Essama

Corresponding author: Sara Honorine Riowm Essama, Department of Microbiology, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon. sarariowm@yahoo.fr

Received: 14 May 2022 - **Accepted:** 24 Sep 2022 - **Published:** 11 Oct 2022

Keywords: Hepatitis C virus Ag, chronic hepatitis, cirrhosis, hepatocellular carcinoma

Copyright: Donatien Serge Mbaga et al. Pan African Medical Journal (ISSN: 1937-8688). This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution International 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Cite this article: Donatien Serge Mbaga et al. Seroprevalence of hepatitis C virus antigen in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at 12th week of treatment: a cross-sectional study. Pan African Medical Journal. 2022;43(72). 10.11604/pamj.2022.43.72.35450

Available online at: <https://www.panafrican-med-journal.com//content/article/43/72/full>

Seroprevalence of hepatitis C virus antigen in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at 12th week of treatment: a cross-sectional study

Donatien Serge Mbaga¹, Jacky Njiki Bikoï¹, Etienne Atenguena Okobalemba², Justin Olivier Essindi¹,

Chris André Mbongue Mikangue¹, Alexandra Emmanuelle Membangbi¹, Aïcha Ngoutane^{1,3}, Arnaud Franck Elang¹, Sabine Aimée Touangnou-Chamda¹, Carole Stéphanie Sake¹, George Ikomey Mondinde⁴, Sebastien Kenmoe⁵, Sara Honorine Riowm Essama^{1,8}

¹Department of Microbiology, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon, ²Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon, ³Institute of Medical Research and Medicinal Plant Study, Yaoundé, Cameroon, ⁴Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, The University of Yaoundé I (Center for the Study and Control of Communicable Diseases (CSCCD), Yaoundé, Cameroon, ⁵Department of Microbiology and Parasitology, University of Buea, Buea, Cameroon

***Corresponding author**

Sara Honorine Riowom Essama, Department of Microbiology, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

Abstract

Introduction: epidemiological data suggests that more than 50% of hepatitis C virus (HCV) patients fail treatment. The objective of the study was to highlight the seroprevalence of hepatitis C virus antigen (HCV Ag) at the 12th week of treatment.

Methods: during a cross-sectional study, participants with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma (HCC) were recruited between December 2020 and March 2022 at the Yaoundé General Hospital (HGY) and the University Teaching Hospital of Yaounde (UTHY). Five millilitres of blood samples were taken from each consenting participant and then a simultaneous qualitative search for HCV Ag by Enzyme-Linked Immuno Assay (ELISA) was performed. Analysis of the results was performed using SPSS Version 25.0 software. **Results:** out of the 192 participants selected for the study, only 92 (47,9%) participants were at 12 weeks of treatment, including 69 (75%) participants positive for the hepatitis C virus antibody (HCV Ab) by RDT. Of these participants, 44 (47.8%) participants were positive for HCV Ag by ELISA, respectively 19/37 (51.3%), 14/19 (73.6%), 11/13 (84.6%) with chronic hepatitis (HC), Cirrhosis, and HCC ($P < 0.0001$). **Conclusion:** our results showed a high prevalence of HCV Ag in patients at their 12th week of treatment which

predicts treatment failure and calls for public policy to develop new management strategies to prevent HCV treatment failure in our context.

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) is one of the main viruses responsible for liver disease [1]. An estimated 71.1 million people are living with HCV infection worldwide [2]. Chronic hepatitis C infection is the leading cause of death in people with chronic hepatitis (CH), cirrhosis, and hepatocellular carcinoma (HCC) [3], and this chronic infection causes 25% of HCC cases [4]. WHO Africa estimates that HCV is one of the viruses responsible for 96% of mortality in people with cirrhosis and those with HCC [5]. In Cameroon, HCV affects 6.5% of people [6] and shifts considerably across the population in the country according to the most recent Cameroonian studies [7-13]. The primary objective of HCV treatment with direct-acting antivirals (DAAs) is to cure infected people. This healing can be measured by the sustained virological response (RSV), which is defined as an absence of detectable HCV ribonucleic acid (RNA) in the serum at the 12th or 24th week of treatment [14]. Current DAA-based treatments have shown promising results, with a cure rate of more than 95% of patients from the 8th week of treatment [15]. This prompted the World Health Organization (WHO) to establish a global strategy for the elimination of viral hepatitis which aims to reduce the number of new infections, and deaths and increase by 80% the proportion of people treated by 2030 [3]. Unfortunately, some studies have shown that more than 50% of HCV patients fail treatment and systematically relapse and later develop treatment resistance [16,17]. This is mainly observed in certain hard-to-cure populations, such as patients with severe hepatic decompensation, active HCC, chronic HCV genotype 3 infection, and those multiple DAA failures [18].

To date, multiple obstacles that may hinder the success of HCV treatment have been identified [19] and constitute the major limiting factors that may contribute to a significant increase in HCV morbidity and mortality over the next 15 years in developing countries if nothing is done [20]. Screening and diagnosis of HCV infection rely on three different approaches which can be used alone or in combination. These are the detection of an HCV IgG antibody (HCV-Ab), the detection of the capsid antigen of the HCV (HCV-Ag) which is highly retained from one viral strain to another, and the detection of HCV RNA. Of these approaches only HCV Ag and RNA can confirm an active infection [21] even the recent WHO guidelines continue to recommend the use of the Ac-HCV test for first-line screening [22]. Hepatitis C virus Ag in serum or plasma is an indirect marker of HCV replication that can be used as an alternative to HCV RNA to diagnose HCV viremia at the 12th or 24th week of treatment to assess whether the patient eliminates HCV in a context where HCV viral load assessment is very expensive for poor people [23]. We therefore set the objective to highlight the seroprevalence of HCV Ag in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at the 12th week of treatment.

Methods

Study design and setting: this study was cross-sectional. It took place in the city of Yaoundé, and the hepato-gastroenterology departments of the Yaoundé General Hospital (YGH) and internal medicine of the University Teaching Hospital of Yaoundé (UTHY) served as a recruitment site for participants between December 2020 and March 2022.

Study population and sampling: all participants were informed of the aim of the study before their inclusion in the study. The study population was composed of participants with chronic liver disease and those with hepatocellular carcinoma (HCC) who came for follow-up at the 12th week of

treatment either the UTHY or the HGY, the consenting participants were divided into 3 groups. Group 1 consisted of participants with chronic hepatitis C (CHC) who were negative for cirrhosis or HCC. Group 2 consisted of participants with cirrhosis diagnosed by radiographic, biochemical, and clinical examinations and confirmed by a physician. Group 3 was composed of participants with HCC diagnosed by histological, radiographic, and biochemical examinations and confirmed by a physician. These participants were chosen, regardless of their sex, age (21 years or older), nationality, and treatment. Any participant who was having others aetiologies or comorbidities was excluded from the study.

Procedure for collecting socio-demographic and clinical data: data collection from each participant was done consecutively and prospectively. Each of the participants spoke in the consultation box with the principal investigator. The information leaflet was presented, to those unable to read, the principal investigator read the contents of the leaflet and then explained the aim of the study. The consenting patient gave his signed agreement to participate in the study. Then a pre-established and standardized questionnaire was administered to him.

Variables collected: for each participant, qualitative and quantitative variables were collected either by interview or blood samples analysis. The qualitative variables collected were: sex, marital status, scarification, tattoos, piercing, alcohol consumption before disease; tobacco consumption before disease; surgical history; history of blood transfusion; the treatment submitted, patients with chronic hepatitis; cirrhosis; HCC; HCV-Ab; HCV-Ag. The quantitative variables collected were age; alanine aminotransferase (ALT) glutamic-pyruvic transaminase (GPT); aspartate aminotransferase (AST) glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT); alpha-fetoprotein (AFP).

Collection and fate of blood samples: overall, five millilitres of blood samples were taken from the

crook of the elbow of each consenting participant, in ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) tubes. The samples were transferred to the Centre for the Study and Control of Communicable Diseases (CSCCD) of the Faculty of Medicine and Biomedical Sciences of Yaoundé (FMBS) where they were divided into three aliquots of the same volume each. The first aliquot was used for the search for HCV Ab and HCV Ag, the second aliquot was used for the quantification of ALT, AST, and AFP. The third aliquot was divided into 2 parts and then saved for further analysis.

Biological analysis of samples

Search for hepatitis C virus antibody and hepatitis C virus antigen: we carried out a qualitative search for HCV-Ab by immunochromatography according to the designers of rapid diagnostic tests (RDT) VOXTUR BIO LTD for HCV manufactured in India. Only positive results were confirmed by Monolisa™ HCV Ag-Ab ultra for the detection of capsid antigen of HCV in human plasma manufactured in the USA. Samples whose optical density was greater than or equal to the threshold (ratio ≥ 1) were considered positive. We did not retest samples due to a lack of reagent.

Alpha-fetoprotein, alanine aminotransferase, and aspartate aminotransferase quantification: quantification of AFP and transaminases (ALT and AST) was carried out only on ELISA-positive samples. Indeed, 30 HCV were selected randomly using a random number generator in Microsoft Excel. The codes corresponding to the aliquots were used for analyses. alpha-fetoprotein quantification was performed using Fineware™ Rapid AFP quantitative Strip (made in China) which uses a fluorescence immunochromatography Assay. Quantification of transaminases (ALT and AST) was performed using sprinreact reagents (made in Spain).

Ethical considerations: to respect the ethics of medical research, the study was authorized by the University Teaching Hospital of Yaoundé (N° 3235/AR/CHUY/DG/DGA/CAPRC),

Yaoundé General Hospital (N/Ref: 213-21/HGY/DG/DPM/MA-TR). The CSCCD allowed the laboratories analysis. Each patient who participated in this study read the information sheet then gave their signed consent and finally an anonymity code was assigned to them.

Sample size calculation: the minimum sample size was 148 participants. The calculation of this sample size was made using the prevalence of HCV, which are 6.5% in Cameroon [6], and according to GLOBOCAN data from 2020 which provided a prevalence of 3.7% for liver cancer in Cameroon [24]. We used the following formula [25]:

$$n = \frac{P(1-P)(Z_{1-\alpha})^2}{i^2}$$

Z = the level of statistical significance with a 95% confidence interval (CI) of 1.96; i = the level of precision of 0.05; P = prevalence of outcomes.

Statistical analysis: for each participant recruited, qualitative and quantitative variables were collected by either interviewing the participant or analyzing blood samples. The collected data were recorded and processed using Excel Version 2016 (Microsoft Corp., USA). Analyses were done using the biostatistical software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 25.0. The Chi-square test allowed us to compare the proportions between the different groups and the non-parametric Kruskal Wallis test allowed us to compare the means $\pm$ standard deviations between the different groups. A p-value of < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Participants: we offered the study to 619 patients who came for consultation at the UTHY or the YGH, respectively 331 patients at the UTHY and 288 patients at the YGH. Of these 619 patients, 41 refused to participate in the study, which gave a non-response rate of 6.6%, 92 were excluded because they were on their first day of

consultation and 294 did not meet the inclusion criteria. The remaining 192 participants were on anti-HCV treatment, of which 332 were positive for Human Immunodeficiency Virus (HIV) and were excluded. Of the remaining 160 participants, 28 were at less than two weeks of treatment, 92 were at 12 weeks of treatment and 40 were at more than 12 weeks of treatment. Among the patients who were at 12 weeks of treatment, 69 (75%) tested positive for HCV Ab, out of these participants, only 44 (47.8%) were positive for HCV Ag (19 CH, 14 cirrhosis, and 11 HCC). We randomly selected 10 chronic hepatitis, 10 cirrhosis, and 10 HCC samples to quantify AFP and transaminases (Figure 1).

Sociodemographic and clinical characteristics of study participants: overall, participants with chronic hepatitis (CH) were the majority with 19 HCV-positive participants. But the HCC group had the highest average age with 65.8 ± 4.2 years. The 50-59 and 60-69 age groups were the most represented with 8 (42.1%) and 8 (72.7%) respectively for CH and HCC. The male gender 11 (57.9%) of the CH group was most represented. According to marital status, married participants were the most represented in the HC group with 12 (63.1%). For scarification, the CHC group was the most represented with 4 (36.3%) and 5 (26.3%) of HC participants having tattoos. Seven (36.8%) HC participants reported that they consumed alcohol before their illness while only 2 (18.1%) HCC participants reported smoking cigarettes before their illness. Two participants both CH and Cirrhosis groups respectively (10.5%) and (14.2%) had received a blood transfusion before their disease. Concerning anti-HCV treatment, 8 (42.1%) participants were taken sofosbuvir + ribavirin (Table 1).

HCV profile of study participants: out of the 192 participants on HCV antiviral treatment, 92 were HIV-negative at the 12th week of their treatment. Of these participants, 58 had chronic hepatitis (CH), 21 had cirrhosis, and 13 had HCC. Sixty-nine participants were positive for the HCV Ab test respectively 37/58 (63.7%) CH; 19/21 (90.4%)

Cirrhosis, and 13/13 (100%) HCC ($P < 0.009$), and 23 tests were invalid results. We excluded these samples from our analysis. Out of positive HCV Ab participants, only 44 were positive for HCV Ag with ELISA with optical densities equal to or greater than the threshold, ratios ≥ 1 (Table 2). These samples were not retested following a lack of reagents. They were declared positive for HCV in this study respectively 19/58 (51.3%) CH, 14/21 (73.6%) Cirrhosis, and 11/13 (84.6%) HCC ($P < 0.0001$) (Table 3).

Biochemical markers of HCV-positive participants simultaneously on RDT and ELISA: participants whose samples were ELISA positive were randomly selected. Each group was made up of 10 participants. Transaminase was tested for each group ALT (GPT) and ASAT (GOT) were higher in participants with HCC (75.4 ± 7.3 IU/L and 72.2 ± 13.8 IU/L respectively) compared to participants with CH and Cirrhosis, with $P < 0.0001$. Regarding AFP, participants with HCC had also a higher mean of AFP of 249.8 ± 6.1 ng /ml, followed by participants with cirrhosis 82.3 ± 10.7 ng /ml, and finally participants with CH 58.5 ± 26.3 ng /ml ($P < 0.0001$) (Table 4).

Discussion

By 2030, with the treatment of hepatitis C using DAAs, the WHO goal is to eliminate HCV. Therefore, unsatisfactory HCV treatment outcomes must be reported to facilitate better management of those seeking care. This study aimed to estimate the seroprevalence of HCV Ag in participants with liver disease and HCC at the 12th week of treatment. Of the 74 samples positive for HCV Ab with the RDT, only 44 samples were positive for HCV Ag with ELISA, respectively 19/37 (51.3%) HC, 14/19 (73.6%) Cirrhosis, 11/13 (84.6%) HCC ($P < 0.0001$). These results show a high prevalence of HCV Ag, which translates into a long and very expensive treatment for patients. Since some patients achieve healing rather at the 24th week this would mean that the treatment of these patients will have to be prolonged until the 24th

week. Since treatment against HCV is expensive in our context, this appeals to public authorities to bear the costs of treatment more because infected patients come from the most disadvantaged sections of the population. In other words, to remain in the policy of eradicating HCV, the governments of developing countries must set up solid policies for managing the treatment of people with HCV so that they can achieve the sustained virologic response (SVR). This implies that patients whose HCV Ag results by ELISA are positive at the 12th week of their therapy require special follow-up. Indeed, several studies have been interested in assessing the role of HCVA in the diagnosis of hepatitis C. It has been demonstrated that the HCV Ag marker can be used to diagnose hepatitis C and of evaluating HCV SVR [3] because there is a correlation between the titer of HCVAg and the viral load of HCV, which makes the capsid antigen a marker of viremia and viral replication of HCV [23]. It, therefore, remains important to carefully follow up with people receiving HCV treatment so that increased efforts can be made to identify people who are successful or unsuccessful to converge toward the international HCV elimination goals. Although HCV-Ag testing can potentially replace viral load for HCV diagnosis or monitoring in some settings, national and international guidelines still advocate the use of PCR as the gold standard test for monitoring progress during and after treatment and is currently still recommended [21].

Our results may have been underestimated given the fact that we only considered ELISA positive for all samples whose optical density was greater than or equal to the threshold (ratio ≥ 1) and that we did not retest the samples with the threshold (ratio between 0.9 and 1). Indeed, it is known that the treatment of hepatitis C using DAAs very rarely eliminates HCV in all people treated. This is probably due to certain risk factors such as on the one hand the advanced age and health status of the patient and on the other hand, the cost, the duration, and the missed doses can negatively affect the results of the treatment [23,26-28]. Added to this, the lack of inexpensive viral

diagnostic tests and universally accessible treatment adapted to resource-limited settings represent an obstacle to the implementation of HCV surveillance in difficult contexts [22].

Regarding biochemical markers to assess the liver health status of study participants at their 12th week of treatment, CHC participants had the highest ALT (GPT), AST (GOT), and AFP. high with respectively 75.4 $\pm$ 7.3 IU/L; 72.2 $\pm$ 13.8 IU/L; 249.8 $\pm$ 6.1 ng/mL compared to participants with CH and Cirrhosis ($P < 0.0001$). The transaminase test (ALT and AST) is simple, practical, inexpensive, and non-invasive but not specific to liver disease. Indeed, transaminases are present respectively in the cytoplasm and mitochondria of hepatocytes and muscle cells. When hepatocytes are damaged by the cytopathic effects of oncogenic hepatitis viruses, transaminases are released into the bloodstream resulting in increased serum levels of ALT and AST in the peripheral blood. It is also possible that inflammatory stimulation due to tumour progression stimulates hepatocytes to produce abundant amounts of transaminases compared to what would be found in patients with early liver disease [29]. Besides its role in the diagnosis of HCC, higher serum AFP levels were also observed in participants with HCC. Alpha-fetoprotein is currently the most widely used serum biomarker for screening and early diagnosis of HCC, as well as for evaluating the efficacy and prognosis of HCC treatment. However, not all HCC tumours contribute to an increase in AFP. This makes this marker non-specific to the CHC facility. It is therefore important to explore the search for new biomarkers capable of overcoming the shortcomings of transaminases and AFP to complement X-ray examinations in the hope of achieving HCC screening rates close to those that would be obtained using the biopsy [22,30].

The results obtained in our study can be used to update and add epidemiological data to influence policymakers in the policy of prevention and control of HCV during treatment in Cameroon. We excluded all patients with comorbidities such as diabetes, and HIV because these could play a

major role in the ineffectiveness of the treatment. Only plasma samples were considered in this work, we could have obtained more revealing results if we had used the serum, whole blood, or biopsy fragments. The fact of not having retested positive samples as indicated by the Monolisa™ HCV Ag-Ab ultra-protocol constitutes a limitation insofar as certain samples declared positive would have been negative and vice versa. As other limitations, we can note the lack of staging of cirrhotic participants and those with HCC. To achieve the WHO objectives plan to eliminate HCV by 2030, sub-Saharan Africa, in particular Cameroon, will have to actively prioritize the implementation of several strategies such as the reduction or even total coverage of treatment costs. of HCV by public authorities. Identify groups at high risk of therapeutic failure, so that they benefit from special attention in the management of their treatment and indirectly prevent possible resistance to antiviral treatment, and monitor the rebound of viral load and the diversion towards occult hepatitis C.

Conclusion

Our results showed a high prevalence of HCV Ag in patients with liver disease and hepatocellular carcinoma at their 12th week of treatment, suggesting a high prevalence of early treatment failure. These results challenge public policies to develop treatment management strategies to prevent treatment failure and treatment desertion due to Anti HCV treatment costs in our context and encourage the development of the vaccine against HCV. All this is to prevent mortality from cirrhosis, liver failure, and hepatocellular carcinoma.

What is known about this topic

- Sustained virological response measured at 12th or 24th weeks of treatment;
- More than 50% of HCV patients fail treatment.

What this study adds

- Highlight a high prevalence of HCV Ag at 12 weeks of treatment.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Authors' contributions

Mbaga Donatien Serge, Njiki Bikoï Jacky, and Riwoom Essama Sara Honorine were responsible for the conception and design of the study as well as project administration. Mbaga Donatien Serge, Atenguena Okobalemba Etienne, were responsible for the data collection. Mbaga Donatien Serge, Njiki Bikoï Jacky, Essindi Justin Olivier, and Ikomey Mondinde George, were involved in the laboratory analysis and interpretation of results. Mbaga Donatien Serge was responsible for statistical analysis. Mbaga Donatien Serge wrote the original draft. Kenmoe Sebastien, Essindi Justin Olivier, Mbongue Mikangue Chris André, Membangbi Alexandra Emmanuelle, Ngoutane Aicha, Elang Arnaud Franc, Touangnou-Chamda Sabine Aimée, and Sake Carole Stéphanie, reviewed the first draft. All authors approved the final version of the paper for submission. Riwoom Essama Sara Honorine oversees all steps. All the authors have read and agreed to the final manuscript.

Acknowledgments

We thank the University Teaching Hospital of Yaoundé, Yaoundé General Hospital, the CSCCD of FMBS of the University of Yaoundé, and the Laboratory of Microbiology of the University of Yaoundé I for respectively authorizing this work and giving use of the workspace. We also thank all participants for agreeing to participate in this work.

Tables and figure

Table 1: sociodemographic and clinical characteristics of HCV Ag positive participants after 12 weeks of treatment

Table 2: profile of HCV markers sought in participants at 12 weeks of treatment

Table 3: seroprevalence of HCV Ag tested in participants at 12 weeks of treatment

Table 4: biochemical markers of HCV Ag positive participants by ELISA at 12 weeks of treatment

Figure 1: flow Chart of selection of participants

References

1. WHO. Hepatitis: overview. 2022. Accessed April 13, 2022.
2. WHO. Hepatitis C. 2021. Accessed April 26, 2022.
3. Wasitthanasem R, Vichaiwattana P, Siripon N, Posuwan N, Auphimai C, Klinfueng S *et al.* Liver disease burden and required treatment expenditures for hepatitis C virus (HCV) infection in Thailand: Implications for HCV elimination in the new therapeutic era, a population-based study. *PLoS ONE*. 2018;13(4): e0196301. **PubMed** | **Google Scholar**
4. Mbaga DS, Kenmoe S, Kengne-Ndé C, Ebogo-Belobo JT, Mahamat G, Foe-Essomba JR *et al.* Hepatitis B, C and D virus infections and risk of hepatocellular carcinoma in Africa: a meta-analysis including sensitivity analyses for studies comparable for confounders. *PLoS One*. 2022;17(1): e0262903. **PubMed** | **Google Scholar**
5. Organisation mondiale de la Santé Regional Afrique. Rapport de situation sur la mise en œuvre du cadre d'action de la stratégie mondiale du secteur de la santé pour la prévention, les soins et le traitement de l'hépatite virale 2016-2021 dans la région Africaine. Bureau Régional de l'Afrique. 2018. Accessed April 16, 2022.
6. Bigna JJ, Amougou MA, Asangbeh SL, Kenne AM, Nansseu JR. Seroprevalence of hepatitis C virus infection in Cameroon: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2017;7(8): e015748. **PubMed** | **Google Scholar**
7. Djuidje Ngounoue M, Fepa Kwasessu AG, Nwobegahay J, Moundipa Fewou P. HBV and HCV seroprevalence and the predominant HCV genotypes in a Hospital setting in Cameroon. *Virol Mycol*. 2018;7(178): 2161-0517. **Google Scholar**
8. Kowo MP, Andoulo FA, Ngek LT, Sizimboue DT, Ndam AN, Ondo BE *et al.* Prevalence of hepatitis C virus and associated risk factors among inmates at New Bell Prison, Douala, Cameroon. *Open Journal of Epidemiology*. 2019 May 6;9(02): 119. **Google Scholar**
9. Tsague MK, Fotio AL, Bomgning CLK, Nguefack-Tsague G, Fopa F, Nguefack TB. Prevalence of viral and non-viral hepatitis in Menoua Division, West Region, Cameroon: a retrospective hospital-based study. *Pan Afr Med J*. 2019 Apr 29;32: 212. **PubMed** | **Google Scholar**
10. Ngoupa JB, Njukeng PA, Akwa EN, Kengne M, Tamoufe U, Ter Goon D *et al.* Seroprevalence and associated risk factors for hepatitis B virus infection among barbers and their clients in two cities in Cameroon. *Southern African Journal of Infectious Diseases*. 2019 Mar 1;34(1): 1-5. **Google Scholar**
11. Njouom R, Siffert I, Texier G, Lachenal G, Tejiokem MC, Pépin J *et al.* The burden of hepatitis C virus in Cameroon: spatial epidemiology and historical perspective. *J Viral Hepat*. 2018;25(8): 959-968. **PubMed** | **Google Scholar**
12. Ndifontiyong AN, Ali IM, Sokoudjou JB, Ndimumeh JM, Tume CB. The effect of HBV/HCV in response to HAART in HIV patients after 12 months in Kumba Health District in the South West Region of Cameroon. *Trop Med Infect Dis*. 2021;6(3): 150. **PubMed** | **Google Scholar**

13. Eyong EM, Yankam BM, Seraphine E, Ngwa CH, Nkfusai NC, Anye CS *et al.* The prevalence of HBsAg, knowledge and practice of hepatitis B prevention among pregnant women in the Limbe and Muyuka Health Districts of the South West region of Cameroon: a three-year retrospective study. *Pan Afr Med J.* 2019;32: 122. **PubMed** | **Google Scholar**
14. Pockros PJ. Management of patients who have achieved sustained virologic response for hepatitis C virus infection. *Gastroenterology & Hepatology.* 2018 May;14(5): 305. **Google Scholar**
15. Lee JS, Choi HJ, Lee HW, Kim BK, Park JY, Kim DY *et al.* Screening, confirmation, and treatment rates of hepatitis C virus infection in a tertiary academic medical center in South Korea. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2021;36(9): 2479-2485. **PubMed** | **Google Scholar**
16. Rocco A, Compare D, Coccoli P, Esposito C, Di Spirito A, Barbato A *et al.* Vitamin B 12 supplementation improves rates of sustained viral response in patients chronically infected with hepatitis C virus. *Gut.* 2013;62(5): 766-773. **PubMed** | **Google Scholar**
17. Innes HA, Hutchinson SJ, Allen S, Bhattacharyya D, Bramley P, Delahooke TES *et al.* Excess liver-related morbidity of chronic hepatitis C patients, who achieve a sustained viral response, and are discharged from care. *Hepatology.* 2011;54(5): 1547-1558. **PubMed** | **Google Scholar**
18. Nahon P, Layese R, Cagnot C, Asselah T, Guyader D, Pol S *et al.* HCV Eradication in primary or secondary prevention optimizes hepatocellular carcinoma curative management. *Cancer Prevention Research.* 2021;14(5): 581-592. **PubMed** | **Google Scholar**
19. Lee HW, Lee HJ, Hwang JS, Sohn JH, Jang JY, Han KJ *et al.* Lamivudine maintenance beyond one year after HBeAg seroconversion is a major factor for sustained virologic response in HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2010;51(2): 415-421. **PubMed** | **Google Scholar**
20. Chan HL, Wong VW, Tse AM, Tse C, Chim AM, Chan H *et al.* Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2007;5(12): 1462-1468. **PubMed** | **Google Scholar**
21. Adland E, Jesuthasan G, Downs L, Wharton V, Wilde G, McNaughton AL *et al.* Hepatitis virus (HCV) diagnosis and access to treatment in a UK cohort. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1): 461. **PubMed** | **Google Scholar**
22. Pawlotsky J-M, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G *et al.* EASL recommendations on treatment of hepatitis C: final update of the series. *Journal of Hepatology.* 2020;73(5): 1170-1218. **PubMed** | **Google Scholar**
23. Rossetti B, Loggi E, Raffaelli CS, Mercinelli S, Gandolfo C, Savellini GG *et al.* Hepatitis C virus core antigen (HCVAg): an affordable assay to monitor the efficacy of treatment in DAAs era. 2021;44(2): 89-94. **Google Scholar**
24. GLOBOCAN. Estimated number of prevalent cases (3-year) as a proportion in 2020, liver, both sexes, all ages, Africa. 2020. Accessed February 23, 2022.
25. Wang X, Ji X. Sample size estimation in clinical research: from randomized controlled trials to observational studies. *Chest.* 2020;158(1S): S12-S20. **PubMed** | **Google Scholar**
26. Ghenea AE, Ungureanu AM, Turculeanu A, Popescu M, Carsote M, Tîeranu ML *et al.* Predictors of early and sustained virological response of viral hepatitis C. *Rom J Morphol Embryol.* 2020;61(4): 1185-1192. **PubMed** | **Google Scholar**
27. Nabulsi NA, Martin MT, Sharp LK, Koren DE, Teply R, Zuckerman A *et al.* Predicting treatment failure for initiators of hepatitis C virus treatment in the era of direct-acting antiviral therapy. *Front Pharmacol.* 2020;11: 551500. **PubMed** | **Google Scholar**

28. Tmu N, Kumar A, Sharma P, Singla V, Bansal N, Arora A. Results of sofosbuvir plus ribavirin in patients with hepatitis C related decompensated cirrhosis. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2019;9(1): 4-12. **PubMed** | **Google Scholar**
29. Chan HLY, Chen CJ, Omede O, Al Qamish J, Al Naamani K, Bane A *et al.* The present and future disease burden of hepatitis C virus infections with today's treatment paradigm. *Journal of Viral Hepatitis*. 2017;24(S2): 25-43. **PubMed** | **Google Scholar**
30. Huang CF, Yu ML. Unmet needs of chronic hepatitis C in the era of direct-acting antiviral therapy. *Clin Mol Hepatol*. 2020;26(3): 251-260. **PubMed** | **Google Scholar**

Table 1: sociodemographic and clinical characteristics of HCV Ag positive participants after 12 weeks of treatment

	n = 44 HCV		
	HC n =19	Cirrhosis n =14	HCC n =11
	n (%)	n (%)	n (%)
Age			
Mean±standard deviation	49.7±7.3	56.5±8.2	65.8±4.2
20-29	//	//	//
30-39	2 (10.5)	//	//
40-49	7 (36.8)	4 (28.5)	//
50-59	8 (42.1)	5 (35.7)	//
60-69	2 (10.5)	4 (28.5)	8 (72.7)
70-79	//	1 (7.1)	3 (27.2)
Gender (male)	11 (57.9)	8 (57.1)	10 (90.9)
Marital status			
Married	12 (63.1)	10 (71.4)	8 (72.7)
Single	5 (26.3)	4 (28.5)	//
Widower	2 (10.5)	//	//
Scarification (yes)	2 (10.5)	3 (21.4)	4 (36.3)
Tattoo (yes)	5 (26.3)	3 (21.4)	//
Alcohol consumption before illness (yes)	7 (36.8)	3 (21.4)	3 (27.2)
Smoking before illness (yes)	1 (5.2)	1 (7.1)	2 (18.1)
Blood transfusion (yes)	2 (10.5)	2 (14.2)	1 (9.0)
HCV treatment			
sofosbuvir + ribavirin	8 (42.1)	5 (35.7)	4 (36.3)
sofosbuvir + ribavirin + pegylated interferon alpha	7 (36.8)	5 (35.7)	2 (18.1)
sofosbuvir + ledispavir	4 (21.0)	4 (28.5)	5 (45.4)

HCC: hepatocellular carcinoma; CH: chronic hepatitis; HCV: hepatitis C virus

Table 2: profile of HCV markers sought in participants at 12 weeks of treatment

	Profile of HCV Ab markers sought with RDTs on 97 participants at 12 weeks of treatment				HCV Ag markers were searched with ELISA only on the 74 RDT-positive participants			
	HC n =58 (%)	Cirrhosis n =21(%)	HCC n =13 (%)	P-value	HC n =37 (%)	Cirrhosis n =19 (%)	HCC n =13 (%)	P-value
Undetermined	21	2	//	0.009	//	//	//	<0.000 1
Negative test	//	//	//		18	5	2	
Positive test	37 (63.7)	19 (90.4)	13 (100)		19 (51.3)	14 (73.6)	(84.6)	

With ELISA, samples with a ratio <1 were considered negative; Samples with a ratio ≥ 1 were considered positive; HCC: hepatocellular carcinoma; CH: chronic hepatitis; HCV: hepatitis C virus

Table 3: seroprevalence of HCV Ag tested in participants at 12 weeks of treatment

Attendees	n	HCV Ag/Anti-HCV n (%)
Chronic hepatitis	58	19/58 (32.7%)
Cirrhosis	21	14/21 (66.6%)
Hepatocellular carcinoma	13	11/13 (84.6%)

Table 4: biochemical markers of HCV Ag positive participants by ELISA at 12 weeks of treatment

	Chronic hepatitis (n=10)	Cirrhosis (n=10)	Hepatocellular Carcinoma (n=10)	p-value
ALT (GPT) IU/L	29.0±9.8	58.7±5.1	75.4±7.3	<0.000 1
AST (GOT) IU/L	23.1±6.1	53.7±8.6	72.2±13.8	<0.000 1
AFP ng /ml	58.5±26.3	82.3±10.7	249.8±6.1	<0.000 1

alanine aminotransferase (ALT) glutamic-pyruvic transaminase (GPT); aspartate aminotransferase (AST) glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT); alpha-fetoprotein (AFP); hepatitis C virus antigen (HCV Ag)

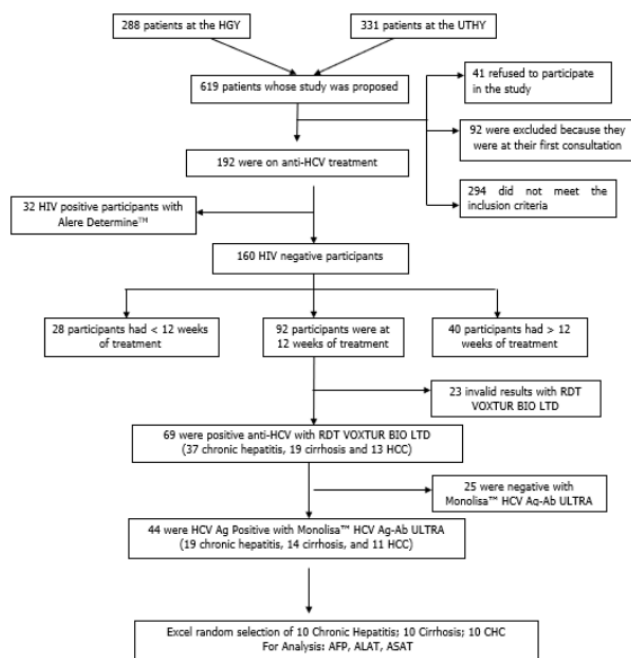


Figure 1: flow chart of selection of participants

Assessment of Serum Cytokine Levels in Patients with Hepatocellular Carcinoma and those with Chronic Liver Disease: Cross-Sectional Study

Donatien Serge Mbaga^{1,*}, Jacky Njiki Bikoï¹, Etienne Atenguena Okobalemba², Justin Olivier Essindi¹, Chris André Mbongue Mikangue¹, Cyprien Kengne Nde³, George Ikomey Mondinde⁴, Sebastien Kenmoe⁵, Sara Honorine Riwoom Essama¹

¹Department of Microbiology, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

²Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, The University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

³Comité National de Lutte Contre le SIDA, Cameroon

⁴Centre for the Study and Control of Communicable Diseases, Yaoundé, Cameroon

⁵Department of Microbiology and Parasitology, University of Buea, Buea, Cameroon

*Corresponding author: mbaga2015.mds@gmail.com

Received February 22, 2023; Revised March 27, 2023; Accepted April 07, 2023

Abstract The diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC) is currently limited by the use of Alpha-fetoprotein (AFP) levels and medical imaging. To improve the diagnostic process, this study aimed to compare cytokine levels in patients with HCC, liver cirrhosis, and chronic hepatitis. Sixty participants were consecutively enrolled in a cross-sectional study and divided into three groups: 20 with Chronic Hepatitis, 20 with Liver Cirrhosis, and 20 with HCC. The study was conducted in Yaoundé from December 2020 to April 2022. Blood samples were collected from each participant and analysed using a Luminex instrument to quantify cytokine markers. The data were analysed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 25.0. Significant variations in proinflammatory (IL-2 and IL-6) and angiogenic growth factor (VEGF) cytokines were observed among the three groups, with p-values of <0.0001, 0.050, and <0.0001 respectively. VEGF showed high sensitivity (80%) and moderate specificity (70%) at a threshold of 200 pg/ml, while in the one hand, AFP showed high sensitivity (80%) and low specificity (35%) at a threshold of 100 ng/ml. On another hand, IL-6 showed moderate sensitivity (60%) and high specificity (80%) at a threshold of 25 pg/ml. The findings of this study suggest that combining AFP levels, medical imaging, and cytokine markers such as IL-6 and VEGF can improve the early diagnosis of HCC.

Keywords: AFP, IL-6, VEGF, chronic hepatitis, cirrhosis, HCC

Cite This Article: Donatien Serge Mbaga, Jacky Njiki Bikoï, Etienne Atenguena Okobalemba, Justin Olivier Essindi, Chris André Mbongue Mikangue, Cyprien Kengne Nde, George Ikomey Mondinde, Sebastien Kenmoe, and Sara Honorine Riwoom Essama, "Assessment of Serum Cytokine Levels in Patients with Hepatocellular Carcinoma and those with Chronic Liver Disease: Cross-Sectional Study." *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*, vol. 11, no. 1 (2023): 18-24. doi: 10.12691/ajidm-11-1-4.

1. Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a critical public health concern, ranking as the sixth most common cancer and the fourth leading cause of cancer mortality globally [1,2]. The incidence of HCC is on the rise, with over 900,000 new cases and a corresponding number of fatalities each year [3,4]. East Asia and Africa are the hardest hit regions [5], with a higher incidence among men compared to women [6]. The development of HCC is linked to various risk factors, including liver cirrhosis, chronic infection with hepatitis B, and C viruses, aflatoxin exposure, excessive alcohol consumption, smoking, type II diabetes, and metabolic disorders [1,2,5,6,7,8]. We can see a range of molecular malfunctions in addition to these

key risk factors [3]. Despite the use of imaging exams such as ultrasonography in the diagnosis and monitoring of HCC [9,10,11], a number of molecular malfunctions associated with the disease remain unknown [10].

Treatment options for HCC include both curative and non-curative approaches [10,12], and the pathological characteristics of the tumor, such as size, grade, stage, and vascular invasion, have been the most well researched predictors of prognosis [13,14,15]. However, the search for additional serum prognostic markers ongoing [16].

Recent advancements in biomedical research have identified potential markers for the early detection of HCC, including Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), non-coding RNAs, DCP, vitamin K deficiency-induced protein or antagonist-II (PIVKA-II), lymphocytes, tumour infiltrating, programmed death 1 (PD-1) and its ligands, PD-L1 and PD-L2 [17-24].

The purpose of this study was to compare cytokine levels in individuals with HCC, liver cirrhosis, and chronic hepatitis.

2. Methods

2.1. Ethical Considerations

This study was conducted in accordance with the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines [25] and was approved by the ethics committee of the Faculty of Science, University of Yaoundé 1 (No: BTC-JIRB2022-044), the Administration of Yaoundé General Hospital (N/Ref: 213-21/HGY/DG/DPM/MA-TR), and the University Teaching Hospital of Yaoundé (N° 3235/AR/CHUY/DG/DGA/CAPRC). All participants provided written informed consent.

2.2. Design and Setting

This cross-sectional study was conducted at the hepatogastroenterology department of the Yaoundé General Hospital (YGH) and the internal medicine department of the University Teaching Hospital of Yaoundé (UTHY) between December 2020 and April 2022.

2.3. Study Population

The study population consisted of participants with Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma (HCC). Participants were divided into three groups: Group 1 with chronic hepatitis (CH) who were negative for cirrhosis and HCC; Group 2 with cirrhosis who were negative for HCC; and Group 3 with HCC. Participants were 21 years or older and were chosen regardless of their sex, age, or nationality. Participants with Human Immunodeficiency Virus (HIV) or comorbidities were excluded from this analysis. These data were published elsewhere [26,27].

2.4. Measurement of Serum Cytokine Levels

Peripheral venous blood was collected from each participant via venepuncture, and the serum was obtained after centrifugation of the blood sample. The sera were frozen and stored at -20°C until analysis. Concentrations of cytokines were determined using a Luminex multiplex technique, with reagents purchased from Merck Millipore (Billerica, Massachusetts, USA). The experiments were performed and read on the Bio-Plex platform (Bio-Rad, USA), with the Bio-Plex Manager Software version 6.1 used for bead acquisition and analysis.

2.5. Data Analyses

The data were analysed using SPSS Version 25.0. Quantitative variables were presented as median ($\pm$ interquartile interval). The ANOVA test was used to compare quantitative variables between the three groups, and the Spearman correlation coefficient test was used to find the association between two variables. P-values ≤ 0.05

were considered significant. To determine the optimal cut-off, point for serum VEGF in diagnosing HCC, a receiver operating characteristic (ROC) curve was constructed to plot sensitivity against 1-specificity at each point. A significance level of less than 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Demographic and Clinical Characteristics of the Study Population

Among the 40 non-HCC patients, 20 had chronic hepatitis B, and 20 had chronic hepatitis C. Among the 20 HCC patients, 10 had chronic hepatitis C, and the remain 10 had chronic hepatitis B (Figure 1).

Out of the 60 participants in our study (HCC group: n=20, Cirrhosis group: n=20, and Chronic Hepatitis group: n=20), the majority were male (82%) with a median age of 56 years (range: 26-71 years) and the most represented age group was 61-70 years (35%). There was no significant difference between the three groups in terms of age and gender. However, the mean value of AFP was significantly different between the three groups, with a value of 63.6 ± 21.8 for Chronic Hepatitis, 88.41 ± 19.2 ng/ml for Cirrhosis, and 226.5 ± 66.4 ng/ml for HCC (Table 1).

3.2. Cytokines Profile in the Study Groups

Sera from the study participants were analysed for the presence of Pro-inflammatory (IL-2, IL-6, IL-17A and TNF- α), Anti-inflammatory (IL-4 and IL-10), Antiviral (IFN α 2 and IFN- γ) chemokines (RANTES and MIP-1) and growth factors (VEGF and G-CSF). Table 2 shows the mean ($\pm$ SD) concentrations of these cytokines in the three groups. Participants with HCC showed higher levels of cytokines such as IL-2, IL-6, IFN- γ , G-CSF, and VEGF compared to participants with Cirrhosis and Chronic Hepatitis, with p-values all below 0.05. There were no significant differences in cytokine concentrations such as IL-15, IL-17A, IL-4, IL-10, IFN α 2, RANTES, and G-CSF.

3.3. Correlation between DNA HBV, IFN-g, IL-2, IL-6 and VEGF

No correlation was found between serum AFP and VEGF levels among participants. Also, no correlation was detected between serum VEGF and IL-2 levels among participants. However, a significant correlation was observed between serum VEGF and IFN- γ , serum VEGF and DNA HBV, and serum VEGF and IL-6 levels among participants (Table 3).

3.4. Assessment of Diagnostic Accuracy of DNA HBV, IFN-g, IL-2, IL-6, and VEGF Using ROC

Curve Analysis We evaluated the sensitivity and specificity of five biomarkers (IFN-g, DNA HBV, IL-6, VEGF) compared to that of AFP, which was considered as

the reference standard. The diagonal line represents a random classification model, and a good performance index is indicated by curves above the line, with a performance index of 0.5. As shown in Figure 2, DNA HBV, IL-6, AFP, and VEGF demonstrated a good performance index as they are all above the random classification model.

Serum AFP at a cut-off value of 80 ng/mL showed an accuracy of 80% in diagnosing HCC, with a sensitivity of 80% and specificity of 35%. At a cut-off value of 200 pg/mL, serum VEGF showed an accuracy of 70%

(sensitivity of 80% and specificity of 70%) for HCC diagnosis. Serum IL-6 at a cut-off value of 25 pg/mL demonstrated a sensitivity and specificity of 60% and 80%, respectively (Table 4).

The results revealed that VEGF and AFP had the highest sensitivity among the studied serum tumor markers. Furthermore, the ROC curve analysis indicated that both VEGF and IL-6 had high specificity. The area under the ROC curve (AUC) for serum VEGF was 70%, while the AUC values for serum AFP and IL-6 were 80% respectively (Table 4).

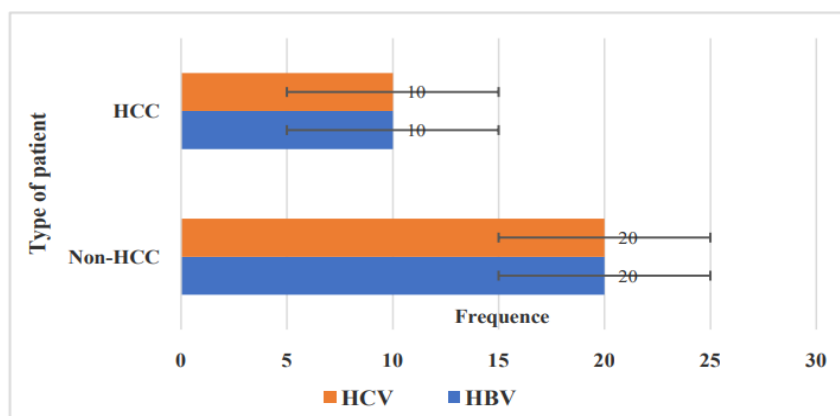


Figure 1. Distribution of study participants

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the three study groups

		Chronic Hepatitis n=20	Cirrhosis n=20	HCC n=20	P-value
Gender	Female	3(27.3%)	3(27.3%)	5(45.5%)	0.6
	Male	17(34.7%)	17(34.7%)	15(30.6%)	
Age	Mean $\pm$ SD	48.1 $\pm$ 15.8	50.0 $\pm$ 15.4	53.8 $\pm$ 12.5	0.4
	Median	51.0	53.0	56.0	
	Range	26-67	26-70	28-71	
AFP ng/ml	Mean $\pm$ SD	63,6 $\pm$ 21,8	88,41 $\pm$ 19,2	226,5 $\pm$ 66,4	<0.0001
	Median	88.3	95.0	245.0	
	Range	64.0-107.0	84.0-135.0	90.0-360.0	

Table 2. Cytokine concentrations in study groups

Cytokines	Chronic hepatitis n=20	Cirrhosis n=20	HCC n=20	P-value
Pro-inflammatory pg/ml				
IL-2	20,0 $\pm$ 6,9	16,6 $\pm$ 5,9	12,9 $\pm$ 4,1	<0,0001
IL-12	94,1 $\pm$ 84,9	93,02 $\pm$ 130,2	109,4 $\pm$ 100,4	0,8
IL-17A	24,6 $\pm$ 4,1	30,8 $\pm$ 10,7	42,8 $\pm$ 74,9	0,4
IL-6	11,2 $\pm$ 1,2	12,3 $\pm$ 2,7	25,0 $\pm$ 3,0	0,050
IL-15	27,5 $\pm$ 9,1	29,9 $\pm$ 8,9	38,4 $\pm$ 54,1	0,534
Anti-inflammatory pg/ml				
IL-4	22,2 $\pm$ 10,5	24,5 $\pm$ 16,3	28,1 $\pm$ 15,02	0,4
IL-10	102,7 $\pm$ 80,3	112,1 $\pm$ 73,5	118,1 $\pm$ 53,5	0,7
Antiviral pg/ml				
IFN α_2	15,8 $\pm$ 6,4	17,6 $\pm$ 8,01	24,6 $\pm$ 35,8	0,399
IFN- γ	13,3 $\pm$ 1,4	13,5 $\pm$ 0,9	12,9 $\pm$ 1,6	0,4
Chemokine pg/ml				
RANTES	88,3 $\pm$ 74,3	126,05 $\pm$ 111,3	120,9 $\pm$ 99,1	0,410
Growth Factor pg/ml				
VEGF	168,8 $\pm$ 24,2	187,3 $\pm$ 34,4	406,0 $\pm$ 72,7	<0,0001
G-CSF	12,8 $\pm$ 2,5	12,9 $\pm$ 2,9	13,1 $\pm$ 1,8	0,9

Table 3. Correlations between AFP, IL-2, IL-6 and VEGF

		IL-2 r (p-value)	VEGF r (p-value)
Chronic Hepatitis n=20	IFN-g (pg/ml)		0,5* (0,04)
Cirrhosis n=20	DNA HBV (log IU/ml)		-0,6* (0,04)
HCC n=20	DNA HBV (log IU/ml)	-0,7* (0,012)	
Hole participants n=60	IL-6 (pg/ml)		0,3* (0,02)

*. The correlation is significant at the 0.05 level (two-sided).

The correlation coefficient (r) varies between -1 and +1, 0 reflecting a zero relationship between the two variables, a negative value (negative correlation) meaning that when one of the variables increases, the other decreases; while a positive value (positive correlation) indicates that the two variables vary together in the same direction.

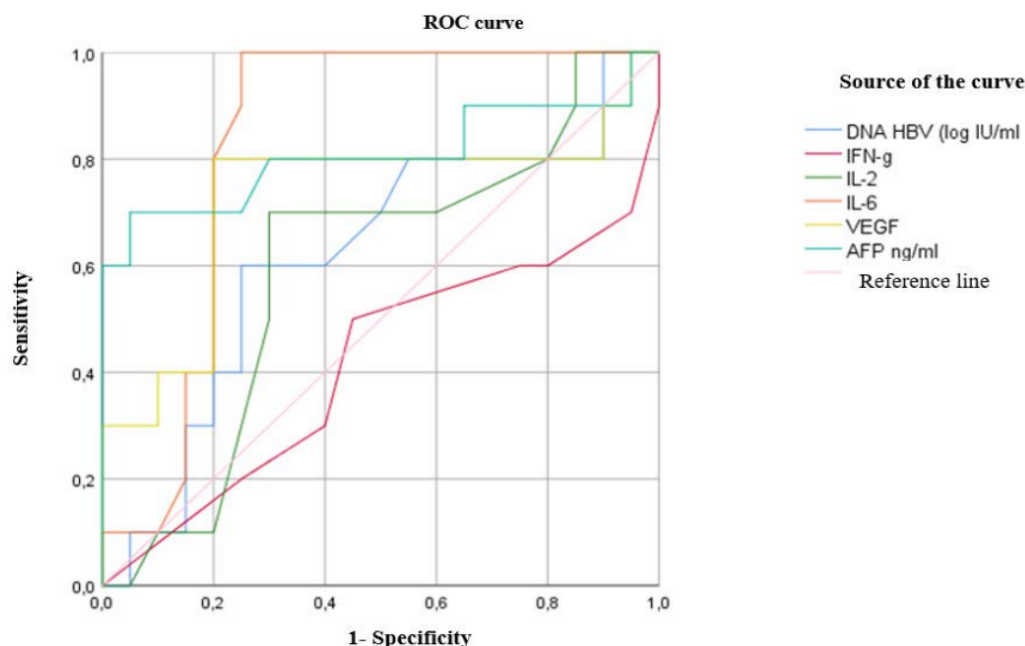


Figure 2. ROC curves of IFN-g; DNA HBV; IL6; VEGF and AFP

Table 4. Diagnostic performance of AFP, DNA HBV INF-g, IL-2, IL-6, VEGF, in the prediction of hepatocellular carcinoma

Test result variable(s)	Thresholds	Se%	Sp %	TP	FN	PPV%	NPV%	Area under the curve			
HBV DNA (log IU/ml)	//	//	//	//	//	//	//	Area	ES	95% CI	p
IFN-g pg/ml	//	//	//	//	//	//	//	0.6	0.1	[0.3-0.8]	0.3
IL-2 pg/ml	//	//	//	//	//	//	//	0.4	0.1	[0.1-0.6]	0.4
AFP ng/ml	80	80	35	16	32	66.7	88.9	0.5	0.1	[0.3-0.8]	0.4
IL-6 pg/ml	25	60	80	16	32	66.7	88.9	0.8	0.07	[0.6-1.0]	0.007
VEGF pg/ml	200	80	70	15	28	55.6	84.8	0.8	0.1	[0.6-0.9]	0.004
								0.72	0.1	[0.4-0.9]	0.048

The test result variables: DNA HBV (log IU/ml), IFN-g, AFP ng/ml, IL-2 include at least one link between the real positive state group and the real negative state group; ES: Standard error; CI: Confidence interval; Se: Sensitivity; Sp: Specificity. TP: true positive; FN: false negative; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value.

4. Discussion

In this part, we examined the profile of the following 12 analytes (IL-2; IL-4; IL-6; IL-10; IL-12; IL-15; IL-17A; IFN α 2; IFN - γ ; VEGF; G-CSF; RANTES) in 60 participants with chronic liver disease and those with HCC. Overall, we observed High levels of proinflammatory cytokines (IL-2 and IL-6) whose levels varied significantly ($p < 0.0001$ and $p = 0.050$) between participants with Chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis and HCC respectively. We also observed significant variation

($p < 0.0001$) for VEGF (factor of angiogenic growth) between the different groups studied.

The significant variation of IL-2 is explained by the fact that IL-2 is a powerful immunoregulator of the stimulation, proliferation and activation of T lymphocytes, natural killer cells and lymphocytes. B [28]. The effect of inflammation and inflammatory cells on the process of tumor development and progression is increasingly recognized. It is now clear that cases of cancer result from chronic infections and inflammation. IL-2 therefore plays a central role in the interplay between innate resistance

and adaptive immunity by generating T helper 1 (Th1) and CTL responses. In this study, we found that serum IL-2 levels were lower in patients with HCC compared with patients with Cirrhosis and Chronic Hepatitis. Our results are comparable to those of Peng et al; who in his study obtained the following amounts of IL-2 for HCC patients (238.2 ± 136.7 ng/L) compared to controls (288.6 ± 177.1 ng/L) [29]. Our results suggest that decreasing levels of IL-2 may play a role in the etiology of HCC by reducing Th1 cytotoxic responses [30].

In this study, the levels of IFN- γ and IL-17A were investigated in patients with Chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis, and HCC. Although no significant difference was found in IFN- γ and IL-17A. IL-17A levels between the three groups, the levels were higher in patients with HCC compared to those with Chronic Hepatitis and Liver Cirrhosis. These findings are in line with previous studies that showed an increase in IL-17A levels with disease severity or stage. Compared to our study, Ribeiro et al, found higher amounts of IL-17A in patients with chronic liver disease compared to acute liver disease [31]. These results could mean that IL-17A levels increase with disease severity or stage. This is further supported by studies previously performed by Du et al in 2013 which showed that IL-17A expression in patient liver tissue was positively correlated with the degree of inflammation and the stage of fibrosis [32] as well as Studies by Du et al and Elkhawaga et al have found that the highest levels of IL-17A were observed in patients with cirrhosis of the liver compared to those with chronic hepatitis. This suggests that IL-17A may play a role in the pathogenesis and progression of HCC [33]. IFN- γ is known to be associated with chronic liver disease and HCC through its interaction with other pro-inflammatory cytokines. These findings suggest that the balance of cytokines plays a crucial role in the development and progression of liver diseases and HCC. Further research is necessary to fully understand the role of IFN- γ and IL-17A in the pathogenesis and progression of HCC [31].

Our results indicated that patients with HCC (406.0 ± 72.7 pg/ml) had significantly elevated serum VEGF levels compared to those without liver cirrhosis (187.3 ± 34.4 pg/ml) and chronic hepatitis (168.8 ± 24.2 pg/ml). Our findings were consistent with those of Alzamzamy et al, who reported higher VEGF levels in the HCC group compared to the cirrhosis group (1409 pg/ml vs 233.3 pg/ml) and the control group (1409 pg/ml vs 204 pg/ml) [34]. Youssef et al also observed higher VEGF levels in HCC patients ($2180.8 \pm 1,621.4$ pg/ml) compared to patients with cirrhosis ($1605.3 \pm 4,082.4$ pg/ml) and healthy individuals (561.0 ± 251.7 pg/ml) [35]. These findings suggest that VEGF may play a role in liver angiogenesis and carcinogenesis through hypoxia-induced upregulation of VEGF gene expression. VEGF has been proposed as a potential tumor marker for HCC, as HCC is a highly vascular tumor that requires angiogenesis for growth and survival, and elevated VEGF levels have been linked to poor tumor clinical features and prognosis. In line with previous studies, our results showed that higher serum VEGF levels were associated with poor HCC prognosis. Thus, monitoring serum VEGF levels could aid in early HCC diagnosis and provide clinicians with valuable information about disease prognosis [34]. These

findings suggest that VEGF may play a role in liver angiogenesis and carcinogenesis through hypoxia-induced upregulation of VEGF gene expression. VEGF has been proposed as a potential tumor marker for HCC, as HCC is a highly vascular tumor that requires angiogenesis for growth and survival, and elevated VEGF levels have been linked to poor tumor clinical features and prognosis [36]. In line with previous studies, our results showed that higher serum VEGF levels were associated with poor HCC prognosis [37]. Thus, monitoring serum VEGF levels could aid in early HCC diagnosis and provide clinicians with valuable information about disease prognosis [39].

Besides its role in the diagnosis of HCC, higher serum AFP levels were also observed in participants with HCC. AFP is currently the most widely used serum biomarker for screening and early diagnosis of HCC, as well as for evaluating the efficacy and prognosis of HCC treatment. However, not all HCC tumours contribute to an increase in AFP [36]. In this study, we found that higher serum VEGF levels were significantly associated with HCC compared to patients without liver cirrhosis and chronic hepatitis. This finding is in line with previous studies that have suggested that VEGF could serve as a potential biomarker for HCC diagnosis. Our results also showed that there was no correlation between VEGF and AFP, which is in contrast to previous studies that reported a correlation between the two markers. However, this discrepancy could be due to the role of VEGF in the pathogenesis and spread of HCC, as not all HCC tumours result in an increase in AFP levels [37,38].

At a threshold of 200 pg/ml, VEGF had a sensitivity of 80% and a specificity of 70%. On the other hand, AFP had a sensitivity of 80% and a specificity of 35% for HCC diagnosis. These results are similar to previous studies, such as Alzamzamy et al who found a threshold of 250 pg/ml VEGF had a sensitivity of 80% and a specificity of 81.7% [40]. Our results were also comparable to Mukozu et al who reported a sensitivity of 86.4% and a specificity of 96.2% for VEGF with a threshold value of 108 pg/ml [41]. However, our results contrast with those of Sadik et al who found a high specificity (100%) and a weak sensitivity (23.8%) for AFP in HCC diagnosis [42]. In comparison, Yvamoto et al found that VEGF levels had a sensitivity and specificity of 65% and 85%, respectively, while AFP had a sensitivity and specificity of 28% and 99% for HCC diagnosis [43]. These findings suggest that VEGF could be a more accurate biomarker for the diagnosis of HCC compared to AFP.

In our study, we found that the sensitivity and specificity of VEGF in the diagnosis of HCC were 80% and 70% respectively, at a threshold of 200 pg/ml. On the other hand, the sensitivity and specificity of AFP in the diagnosis of HCC were 80% and 35% respectively, at a threshold of 100 ng/ml. These results are in line with previous studies by Alzamzamy et al and Mukozu et al who also found high sensitivity and specificity of VEGF for HCC diagnosis [41,43]. However, our results are not in line with the findings of Atta et al, Sadik et al and Yvamoto et al, where higher sensitivity and specificity were found for AFP, in the diagnosis of HCC [42,43]. This discrepancy highlights the need for further research in this area to establish the most reliable biomarker for HCC diagnosis.

As limitations, it's worth mentioning the absence of staging for participants who had cirrhosis and HCC in the study. Additionally, we did not analyze the genetic variations of the biomarkers in our investigation to examine the genetic relationships. Another limitation is that we did not examine the relationship between VEGF levels and the effectiveness of antiviral therapies for viral hepatitis B and C, as well as the impact of HCC antitumor therapies on VEGF levels, as it is possible that VEGF levels could predict the response to these treatments when used in combination with other treatments in the patient groups studied.

5. Conclusion

In conclusion, our study showed that the immunological biomarkers IL-6 and VEGF, both pro-inflammatory and growth factors, demonstrated good diagnostic performance. These biomarkers have proven to be effective in assisting with the diagnosis of HCC in patients with chronic liver disease. To improve early diagnosis of HCC, we recommend to use these biomarkers in conjunction with AFP and medical imaging.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge all the participants who contributed to this research. The authors would also like to acknowledge the staff of the Yaoundé General Hospital, and internal medicine department of the University Teaching Hospital of Yaoundé, Cameroon.

Conflict of Interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Financial Disclosure

The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Funding/Support

The authors received no funding support for the research, authorship, and publication of this article.

Data availability Statement

The data supporting the results of this study are available on request from the corresponding author. The data is not publicly available because it contains information that could compromise the confidentiality of research participants.

List of Abbreviations

AFP: Alpha foetoprotein
AUC: Area Under the ROC curve
CI: Confidence interval
FN: False Negative
G-CSF: Granulocyte Colony Stimulating Factor
HCC: Hepatocellular Carcinoma
HIV: Human Immunodeficiency Virus
IFN: Interferon
IL: Interleukin
MIP-1: Macrophage Inflammatory Protein-1
NPV: Negative Predictive Value
PPV: Positive Predictive Value
PD-1: Programmed Death 1
PIVKA-II: Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist
ROC: Receiver Operating Characteristic
RANTES: Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted
Se: Sensitivity
r: Spearman's correlation coefficient
Sp: Specificity
ES: Standard Error
TP: True Positive
VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

References

- [1] Samant H, Amiri HS, Zibari GB. Addressing the worldwide hepatocellular carcinoma: epidemiology, prevention and management. *J Gastrointest Oncol*. 2021; 12(Suppl 2): S361-S373.
- [2] Suresh D, Srinivas AN, Kumar DP. Etiology of Hepatocellular Carcinoma: Special Focus on Fatty Liver Disease. *Front Oncol*. 2020; 10: 601710.
- [3] Chidambaranathan-Reghupaty S, Fisher PB, Sarkar D. Hepatocellular carcinoma (HCC): Epidemiology, etiology and molecular classification. *Adv Cancer Res*. 2021; 149: 1-61.
- [4] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71(3): 209-249.
- [5] Singal AG, Lampertico P, Nahon P. Epidemiology and surveillance for hepatocellular carcinoma: New trends. *J Hepatol*. 2020; 72(2): 250-261.
- [6] McGlynn KA, Petrick JL, El-Serag HB. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*. 2021; 73 Suppl 1: 4-13.
- [7] Garrido A, Djouder N. Cirrhosis: A Questioned Risk Factor for Hepatocellular Carcinoma. *Trends Cancer*. 2021; 7(1): 29-36.
- [8] Sagnelli E, Macera M, Russo A, Coppola N, Sagnelli C. Epidemiological and etiological variations in hepatocellular carcinoma. *Infection*. 2020; 48(1): 7-17.
- [9] Elgenidy A, Afifi AM, Awad AK, Jalal PK. Utility of serum angiopoietin-2 as diagnostic marker of hepatocellular carcinoma: A systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2022; 46(5): 101909.
- [10] Galle PR, Forner A, Llovet JM, Mazzaferro V, Piscaglia F, Raoul J-L, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*. 2018; 69(1): 182-236.
- [11] Jun CH, Yoon JH, Cho E, Shin SS, Cho SB, Kim HJ, et al. Barcelona clinic liver cancer-stage C hepatocellular carcinoma: A novel approach to subclassification and treatment. *Medicine*. 2017; 96(17): e6745.
- [12] Xie D-Y, Ren Z-G, Zhou J, Fan J, Gao Q. 2019 Chinese clinical guidelines for the management of hepatocellular carcinoma: updates and insights. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2020; 9(4): 452-463.

- [13] Schoenleber SJ, Kurtz DM, Talwalkar JA, Roberts LR, Gores GJ. Prognostic role of vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma: systematic review and meta-analysis. *British Journal of Cancer*. 2009; 100(9): 1385-1392.
- [14] Zhan P, Qian Q, Yu L-K. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma tissue: a meta-analysis. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2013; 2(3): 148-155.
- [15] Zhan P, Qian Q, Yu L-K. Serum VEGF level is associated with the outcome of patients with hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2013; 2(4): 209-215.
- [16] Li J-H, Ma W-J, Wang G-G, Jiang X, Chen X, Wu L, et al. Clinicopathologic Significance and Prognostic Value of Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) in Patients with Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis. *Front Immunol*. 2018; 9: 2077.
- [17] Cao G, Li X, Qin C, Li J. Prognostic Value of VEGF in Hepatocellular Carcinoma Patients Treated with Sorafenib: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2015; 21: 3144-3151.
- [18] Chen H-L, Chen Y-H, Du L, Song Y-P, Zhu B. Elevated serum alpha-fetoprotein levels are associated with poor prognosis of hepatocellular carcinoma after surgical resection: A systematic review and meta-analysis. *Arab J Gastroenterol*. 2021; 22(1): 12-22.
- [19] Sun DW, An L, Huang HY, Sun XD, Lv GY. Establishing peripheral PD-L1 as a prognostic marker in hepatocellular carcinoma patients: how long will it come true? *Clin Transl Oncol*. 2021; 23(1): 82-91.
- [20] Fan J, Chen Y, Zhang D, Yao J, Zhao Z, Jiang Y, et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein alone or in combination for hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Surg Oncol*. 2020; 34: 245-255.
- [21] Yang L, Wei C, Li Y, He X, He M. miR-224 is an early-stage biomarker of hepatocellular carcinoma with miR-224 and miR-125b as prognostic biomarkers. *Biomarkers in medicine*. 2020; 14(15).
- [22] Yao D-F, Wu X-H, Zhu Y, Shi G-S, Dong Z-Z, Yao D-B, et al. Quantitative analysis of vascular endothelial growth factor, microvascular density and their clinicopathologic features in human hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2005; 4(2): 220-226.
- [23] Xing H, Zheng Y-J, Han J, Zhang H, Li Z-L, Lau W-Y, et al. Protein induced by vitamin K absence or antagonist-II versus alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A systematic review with meta-analysis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2018; 17(6): 487-495.
- [24] Abdeahad H, Avan A, Pashirzad M, Khazaei M, Soleimanpour S, Ferns GA, et al. The prognostic potential of long noncoding RNA HOTAIR expression in human digestive system carcinomas: A meta-analysis. *J Cell Physiol*. 2019; 234(7): 10926-10933.
- [25] von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, et al. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008; 61(4): 344-349.
- [26] Mbaga DS, Njiki Biko J, Atenguena Okobalemba E, Essindi JO, Mbongue Minkangue CA, Touangnou-Chamda SA, et al. Seroprevalence of HBsAg in Patients with Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma at the Earliest Endpoint of treatment: A Cross-Sectional Study. 2022; 7(8): 7.
- [27] Mbaga DS, Njiki Biko J, Atenguena Okobalemba E, Essindi JO, Mbongue Minkangue CA, Membangbi AE, et al. Seroprevalence of hepatitis C virus antigen in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma at 12th week of treatment: a cross-sectional study. *The Pan African Medical Journal*. 2022; 43(72).
- [28] Gao Q-J, Xie J-X, Wang L-M, Zhou Q, Zhang S-Y. Interaction effects among IFN- γ +874, IL-2-330, IL-10-1082, IL-10-592 and IL-4-589 polymorphisms on the clinical progression of subjects infected with hepatitis B virus and/or hepatitis C virus: a retrospective nested case-control study. *BMJ Open*. 2017; 7(8): e013279.
- [29] Peng Q, Li H, Lao X, Deng Y, Chen Z, Qin X, et al. Association of IL-2 polymorphisms and IL-2 serum levels with susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese Zhuang population. *Infection, Genetics and Evolution*. 2014; 27: 375-381.
- [30] Bahgat NA, Kamal MM, Abdelaziz AO, Mohye MA, Shousha HI, Ahmed MM, et al. Interferon- γ and Interleukin-10 Gene Polymorphisms are not Predictors of Chronic Hepatitis C (Genotype-4) Disease Progression. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015; 16(12): 5025-5030.
- [31] Ribeiro CR de A, Martinelli KG, de Mello V da M, Baptista B da S, Dias NST, Paiva IA, et al. Cytokine, Genotype, and Viral Load Profile in the Acute and Chronic Hepatitis B. *Viral Immunology*. 2020; 33(10): 620-627.
- [32] Du W-J, Zhen J-H, Zeng Z-Q, Zheng Z-M, Xu Y, Qin L-Y, et al. Expression of Interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagn Pathol*. 2013; 8(1): 40.
- [33] Elkhawaga AA, Hosni A, Zaky DZ, Kamel AA, Mohamed NA, Abozaid MA, et al. Association of Treg and TH17 Cytokines with HCV Pathogenesis and Liver Pathology. *Egypt J Immunol*. 2019; 26(2): 55-63.
- [34] Alzamzamy A, Elsayed H, Elraouf MA, Eltoukhy H, Megahed T, Aboubakr A. Serum vascular endothelial growth factor as a tumor marker for hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-related cirrhotic patients. *WJGO*. 2021; 13(6): 600-611.
- [35] Youssef AA, Issa HA, Omar MZ, Behiry EG, Elfallah AA, Hasaneen A, et al. Serum human endothelial cell-specific molecule-1 (endocan) and vascular endothelial growth factor in cirrhotic HCV patients with hepatocellular carcinoma as predictors of mortality. *CEG*. 2018; Volume 11: 431-438.
- [36] Wang X, Zhang Y, Yang N, He H, Tao X, Kou C, et al. Evaluation of the Combined Application of AFP, AFP-L3%, and DCP for Hepatocellular Carcinoma Diagnosis: A Meta-analysis. *Biomed Res Int*. 2020; 2020: 5087643.
- [37] Atta MM, Atta H, Rashed L, Said E, Ali S, Kaseb A, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor in hepatitis C related hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *JHC*. 2016; 19.
- [38] Guan Q, Gu J, Zhang H, Ren W, Ji W, Fan Y. Correlation between vascular endothelial growth factor levels and prognosis of hepatocellular carcinoma patients receiving radiofrequency ablation. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2015; 29(1): 119-123.
- [39] El-Sherif WT, Makhlof NA, El-Gendi SS, Herdan OM. Evaluation of Transforming Growth Factor Alpha and Vascular Endothelial Growth Factor in Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. 2012; 13.
- [40] Alzamzamy A, Elsayed H, Elraouf MA, Eltoukhy H, Megahed T, Aboubakr A. Serum vascular endothelial growth factor as a tumor marker for hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-related cirrhotic patients. *WJGO*. 2021; 13(6): 600-611.
- [41] Mukozu T, Nagai H, Matsui D, Kanekawa T, Sumino Y. Serum VEGF as a Tumor Marker in Patients with HCV-related Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma. *ANTICANCER RESEARCH*. 2013; 9.
- [42] Sadik NA, Ahmed NR, Mohamed MF, Ashoush OA. Serum Vascular Endothelial Growth Factor in Patients with Hepatocellular Carcinoma and its Validity as a Tumor Biomarker. *The Open Biomarkers Journal*. 2019; 9(1): 84-94.
- [43] Yamamoto EY, Ferreira RF, Nogueira V, Pinhel MAS, Tenani GD, Andrade JGSC, et al. Influence of vascular endothelial growth factor and alpha-fetoprotein on hepatocellular carcinoma. *Genet Mol Res*. 2015; 14(4): 17453-17462.



© The Author(s) 2023. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).