

TABLE DES MATIÈRES

Liste des figures et tableaux	5
Liste des annexes	7
INTRODUCTION	9
I. ÉTUDE DE L'AGENT PATHOGÈNE : LE VIRUS DE L'HÉPATITE E	14
1. Taxonomie du VHE	14
2. Structure et organisation génétique	16
a. Données générales	16
b. Le génome viral	19
c. Les protéines virales : nature et fonctions	20
a. Protéines codées par l'ORF1	19
b. Protéines codée par l'ORF2	20
c. Protéines codée par l'ORF3	21
3. Cycle viral	24
4. Variabilité génétique du VHE	27
a. Notions de base	27
b. De nombreuses souches, mais quels liens, quelle proximité génétique ?	28
c. Stratégies évolutives	34
5. Propriétés physico-chimiques	36
6. Quels modèles pour la culture cellulaire <i>in vitro</i> ?	37
II. L'HÉPATITE E – ENTITÉ CLINIQUE ET DIAGNOSTIC	42
1. Physiopathogénie	42
2. Pouvoir pathogène du VHE : symptômes et lésions	44
a. Hépatite E chez l'Homme : une expression typique des virus hépatiques entérotransmissibles	44
a. Symptômes	41
b. Lésions histopathologiques	44
b. Une symptomatologie différente chez l'animal	48

3. Evolution des marqueurs biologiques : analyses comparées Homme/Animal	51
a. Marqueurs des fonctions hépatiques	51
b. Chronologie et profil de la réponse immunitaire	55
4. Modalités de diagnostic et de dépistage	59
a. Examens d'orientation	59
b. Mise en évidence des marqueurs sérologiques de l'hépatite E	61
c. Recherche du virus	63
d. En résumé : application chez l'Homme et chez l'animal	64
a. Chez l'Homme	60
b. Chez l'animal	62
III. ÉPIDEMIOLOGIE DE L'HÉPATITE E	69
1. Approche descriptive	69
a. Quels espèces atteintes ?	69
b. Distribution du VHE	73
c. Fréquence de l'infection	77
a. Chez l'Homme: une situation hétérogène	71
b. Chez l'animal: un constat simple: le VHE est omniprésent dans le monde	73
(1) Vue d'ensemble de l'infection animale	73
(2) L'infection porcine en détail	75
2. Approche analytique	84
a. Quels modes de transmission pour le VHE ?	84
a. Le point chez l'Homme	77
b. La situation chez le porc	80
b. L'hépatite E, maladie émergente?	89
IV. L'HÉPATITE E AUTOCHTONE ZOONOTIQUE, UNE RÉALITE?	93
1. Une composante zoonotique désormais reconnue	93
a. Proximité génétique des souches virales humaines et porcines de génotypes 3 et 4	93
b. Notion de barrière d'espèce	97
c. Cas de transmission zoonotique documentés	100
a. Cas scientifiquement confirmés: peu de preuves	91
b. Cas considérés comme avérés	92

γ. Cas de transmission zoonotique suspectés	94
2. VHE zoonotique : de nombreuses inconnues	104
a. Quelle importance accorder au risque zoonotique ?	104
b. Quels enjeux pour l'avenir ?	108
a. Les enjeux de la recherche	99
b. Importance des réseaux nationaux et internationaux de surveillance	101
CONCLUSION	115
Bibliographie	107
Annexes	141

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

<u>Figure 1</u> : Morphologie du VHE obtenue par reconstitution informatique	16
<u>Figure 2</u> : Image en microscopie électronique du VHE chez un patient humain	16
<u>Figure 3</u> : Organisation du génome viral	18
<u>Figure 4</u> : Cycle de réplication hypothétique du VHE dans l'hépatocyte	24
<u>Figure 5</u> : Arbre phylogénétique construit à partir de l'analyse combinée de l'ORF1 et de l'ORF2 de 275 séquences de VHE	29
<u>Figure 6</u> : Arbre phylogénétique obtenu par analyse comparée de 77 génomes complets ou quasi-complets	30
<u>Figure 7</u> : Arbre phylogénétique construit à partir de la comparaison de séquences complètes du variant aviaire du VHE et de 29 souches humaines et porcines	31
<u>Figure 8</u> : Coupe histologique d'un foie de porc infecté par un variant humain du VHE	46
<u>Figure 9</u> : Coupe histologique de foie du même porc que dans la figure 8	47
<u>Figure 10</u> : Profil biologique de l'infection par le VHE chez le singe cynomolgus	51
<u>Figure 11</u> : Chronologie de la présence du VHE et de la réponse immunitaire chez l'hôte	54
<u>Figure 12</u> : Profil de la réponse immunitaire et présence du virus chez l'Homme	54
<u>Figure 13</u> : Stratégie diagnostique employée en France dans un contexte clinique d'hépatite aiguë et de suspicion d'une hépatite E	61
<u>Figure 14</u> : Photos des réservoirs animaux potentiels du VHE	65
<u>Figure 15</u> : Distribution géographique des différents génotypes de VHE rencontrés	

Figure 16 : Distribution géographique des génotypes 3 et 4 du VHE rencontrés

chez le porc en 2008

70

Figure 17 : Séroprévalence mondiale des anticorps anti-VHE chez l'Homme

72

Figure 18 : Arbres phylogénétiques obtenus par analyse comparée de 81 séquences

de VHE de génotype 3 d'origine humaine ou animale

87

Tableau 1 : Comparaison des caractéristiques taxonomiques et moléculaires du virus

de l'hépatite A (VHA) et du virus de l'hépatite E (VHE)

15

Tableau 2 : Détection des brins d'ARN de polarité négative dans les différents

organes chez le porc suite à une inoculation IV de VHE d'origine porcine ou humaine 40

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Diversité génétique du Virus de l'Hépatite E selon Lu L., Li C. et Hagedorn C.H. Rev. Med. Virol., 2006, 16, 5-36	141
Annexe 2 : Fiche de demande d'analyse VHE du Centre National de Référence des Virus des Hépatites entéro-transmissibles, France	153
Annexe 3 : Questionnaire d'investigation des cas d'hépatite E autochtones en France élaboré par le CNR, 2006	155
Annexe 4 : Sites internet officiels des organismes de santé nationaux et internationaux en rapport avec l'Hépatite E	163

INTRODUCTION

Les hépatites aiguës, qui désignent une inflammation du foie, sont des affections humaines très fréquentes dans le monde. Elles sont principalement provoquées par des virus appartenant à des familles et des genres différents : les virus des hépatites A, B, C, D, et E. Très répandus dans les pays à faible niveau d'hygiène, ces virus sont régulièrement responsables d'importantes épidémies [163, 168].

Historiquement, les hépatites aiguës ont été classifiées au milieu du 20^{ème} siècle selon deux modes de transmission distincts avec d'un côté les hépatites dites « infectieuses » à transmission fécale-orale et de l'autre les hépatites dites « sériques » à transmission parentérale [149]. Les progrès de la recherche ont ensuite permis d'identifier les principaux agents pathogènes en cause lors de ces deux types d'hépatites ; il s'avéra ainsi que les épidémies d'hépatites « infectieuses » et « sériques » étaient essentiellement dues à deux virus différents, respectivement le virus de l'Hépatite A (VHA) [60] et le virus de l'Hépatite B (VHB) [12]. Plus rarement, le virus de l'Hépatite C (VHC) était, lui aussi, responsable d'hépatites « sériques » aiguës.

Cependant, parmi les patients présentant des signes cliniques caractéristiques d'une hépatite virale, certains ne possédaient aucun marqueur sérologique du VHA, du VHB ou du VHC. Il a de ce fait été évoqué l'existence possible d'un autre agent infectieux alors décrit comme « virus responsable d'hépatites non-A, non-B, non-C » [145, 239]. Par la suite, plusieurs études rétrospectives [107, 108], notamment sur l'épidémie d'hépatites virales liées à la contamination du réseau hydrique lors de la crue de la rivière Yamuna en Inde durant les années 1955-1956 [234], ont conforté l'existence d'un agent étiologique distinct mais il a fallu attendre les années 1980 pour apporter la preuve expérimentale de ce « nouvel » agent.

Ce n'est en effet qu'en 1983 que Balayan, un virologue russe, a mis en évidence le caractère filtrable et transmissible de cet agent infectieux distinct du VHA, du VHB et du VHC [8]. Cette découverte a été réalisée en ingérant lui-même une suspension de fèces de patients asiatiques atteints d'une hépatite non-A, non-B, non-C et en collectant ses propres fèces lors de la période d'incubation. Balayan a identifié l'agent infectieux dans ses selles par microscopie immuno-électronique puis l'a transmis avec succès à des singes cynomolgus

(*Macaca fascicularis*). La seconde grande découverte concernant le Virus de l’Hépatite E (VHE en français dans la suite du texte ou HEV pour Hepatitis E Virus en anglais), découverte qui d’ailleurs lui donna ce nom, date de 1991 avec les travaux de Tam et son équipe qui ont réussi le clonage et le séquençage du génome viral [213].

Aujourd’hui, le virus de l’Hépatite E est reconnu comme l’agent principal d’hépatites aiguës dans les pays à faible niveau d’hygiène et évolue selon un mode endémoépidémique dans ces régions. Dans les pays dits « industrialisés », les cas d’hépatite E étaient essentiellement liés à un séjour dans une zone d’endémie [16, 226], avec notamment des nombreux militaires atteints [40]. Néanmoins, la description dès 1997 aux Etats-Unis de cas d’hépatite E autochtones chez des patients sans historique de séjour en zone d’endémie [123] a révélé l’existence d’un nouveau schéma infectieux pour le VHE et soulevé la problématique de l’origine de ces cas autochtones.

La découverte d’infections naturelles au VHE chez les primates et les porcs a suggéré une exposition au virus et une possible transmission interspécifique [23]. L’hypothèse d’une origine zoonotique des cas autochtones, c’est-à-dire d’une transmission à l’Homme par l’animal, a été évoquée en 1997 après l’identification par Meng *et al.* aux Etats-Unis d’un variant porcin du VHE (appelé Swine HEV) génétiquement très proche des variants humains issus de cas autochtones découverts à la même période [156]. Depuis, de nombreux variants du VHE ont été isolés de part le monde à la fois chez l’Homme et chez l’animal avec régulièrement une grande proximité génétique renforçant l’hypothèse de zoonose. La preuve d’une composante zoonotique dans le cas du VHE a été finalement apportée par plusieurs cas de transmission du virus par voie alimentaire à partir de viande contaminée, depuis 2003 au Japon [129, 222].

Depuis plus de 20 ans maintenant, l’hépatite E est un sujet d’actualité en perpétuel mouvement. Il a fait et fait toujours l’objet de nombreuses parutions. Cependant, de nombreuses questions restent en suspens.

Afin de mieux comprendre les différentes problématiques liées à l’hépatite E en tant que zoonose, nous nous intéresserons dans un premier temps à la biologie du virus de l’Hépatite E. Nous étudierons ainsi sa structure virale, son organisation génétique ainsi que

ses propriétés biologiques et physicochimiques. L’Hépatite E est, en outre, une maladie peu connue. Il conviendra alors dans un second temps de définir cette maladie en tant qu’entité clinique avec sa pathogénie, ses aspects cliniques et lésionnels. Nous nous pencherons également sur les examens de laboratoire nécessaires au diagnostic dans le cas des hépatites aiguës virales. Nous établirons ensuite l’épidémiologie de cette infection tout d’abord d’un point de vue descriptif, en définissant la distribution géographique du VHE chez l’Homme et chez l’animal. Puis nous analyserons les modes de transmission du virus. Enfin nous approfondirons la notion de zoonose dans le cadre de l’hépatite E afin d’en cerner les problématiques actuelles et à venir et d’identifier quel rôle le vétérinaire peut avoir à tenir face à cette infection.

I. ÉTUDE DE L'AGENT PATHOGÈNE : LE VIRUS DE L'HÉPATITE E

1. Taxonomie du VHE

La classification d'un virus nouvellement identifié est basée sur de nombreux paramètres tels que les caractéristiques génomiques, les liens phylogénétiques ou encore les modalités évolutives propres à chaque virus. Ces données évoluent régulièrement au gré des découvertes scientifiques. Dans le but de regrouper, d'affiner la taxonomie des virus et d'informer la communauté scientifique internationale, l'Union Nationale des Sociétés de Microbiologie ou IUMS (pour International Union of Microbiological Societies) a créé le Comité International de Taxonomie Virale ou ICTV (pour International Committee on Taxonomy of Viruses) dont les rapports officiels, tous les 3 ans environ, et la base de données (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/index.htm>) fixent les dernières décisions en matière de taxonomie virale.

Dans le cas du Virus de l'Hépatite E (VHE), la classification a suscité depuis toujours de nombreuses controverses et discussions.

Lors de sa découverte en 1983, Balayan a présumé que le VHE, alors encore appelé « agent responsable d'hépatites non-A, non-B, non-C », était un virus à ARN, tout comme le Virus de l'Hépatite A (VHA) [8]. Pour cette raison, le VHE a dans un premier temps été placé au sein de la famille des *Picornaviridae* mais les recherches concernant les propriétés antigéniques et physico-chimiques du virus ont rapidement abouti à l'éloigner de cette famille.

Puis l'analyse comparée de séquences partielles codantes pour les ARN polymérases de différents virus à ARN de polarité positive a suggéré un rapprochement avec la famille des *Togaviridae* comprenant les genres *Rubivirus* et *Alphavirus* représentés respectivement par le virus de la Rubéole et le virus Sindbis [112].

Ensuite, le VHE a été placé provisoirement dans la famille des *Caliciviridae* sous un genre à part, le genre *Hepevirus* [159]. En effet, il présente des caractéristiques communes avec les *Caliciviridae* telles qu'une molécule d'ARN simple brin de polarité positive ou encore 3 phases ouvertes de lecture (ORF pour Open Reading Frame) comme nous le détaillerons plus tard.

Néanmoins, plusieurs études ont identifié par la suite des divergences majeures avec toutes ces familles. Ainsi, l'organisation virale diffère entre VHE et les membres des *Caliciviridae* ; la région ORF3 étant notamment située entre les deux autres régions chez le VHE alors qu'elle se trouve en position 3' chez les *Caliciviridae* tels que le virus Norwalk [94]. Une autre différence essentielle a été mise à jour par Kabrane-Lazizi *et al.* en 1999 puis confirmée par Zhang *et al.* en 2001 [98, 254]. Ils ont démontré la présence d'une coiffe au niveau de l'extrémité 5', structure absente chez les *Caliciviridae*. Enfin, en 2000, Berke et Matson ont publié une étude phylogénétique basée sur la comparaison de deux régions, alors présumées codantes pour une hélicase et une polymérase, entre différentes souches de *Caliciviridae* (7 souches), de *Picornaviridae* (5 souches), de *Togaviridae* (2 souches) et 4 souches de VHE (les souches HEV-Mexico, Swine HEV, HEV-Burma et HEV Sar-55) [10]. Cette comparaison a permis de démontrer que la distance génétique entre les *Picorna*-, les *Calici*- et les *Togaviridae* était semblable à la distance génétique séparant les souches du VHE de chacune de ces familles. Toutes ces découvertes et notamment l'étude de Berke et Matson ont abouti à l'exclusion du VHE de la famille des *Caliciviridae* lors du 7^{ème} ICTV, son statut restant alors non assigné [10, 73].

Enfin, lors du 8^{ème} ICTV en 2005, la communauté des virologues a proposé la création de la famille des *Hepeviridae* dont le VHE est, à ce jour, le seul représentant sous le genre *Hepevirus* [55].

2. Structure et organisation génétique

a. Données générales

Le Virus de l’Hépatite E est un virus non enveloppé de petite taille, environ 30 nm de diamètre. Il contient une molécule d’ARN simple brin de polarité positive et la taille de son génome varie de 7,2 à 7,5 kb [213]. Par ces caractéristiques, le VHE se rapproche du Virus de l’Hépatite A (VHA), comme le montre le tableau comparatif 1.

Tableau 1 : Comparaison des caractéristiques taxonomiques et moléculaires du virus de l’hépatite A (VHA) et du virus de l’hépatite E (VHE) d’après Purcell et Emerson [183].

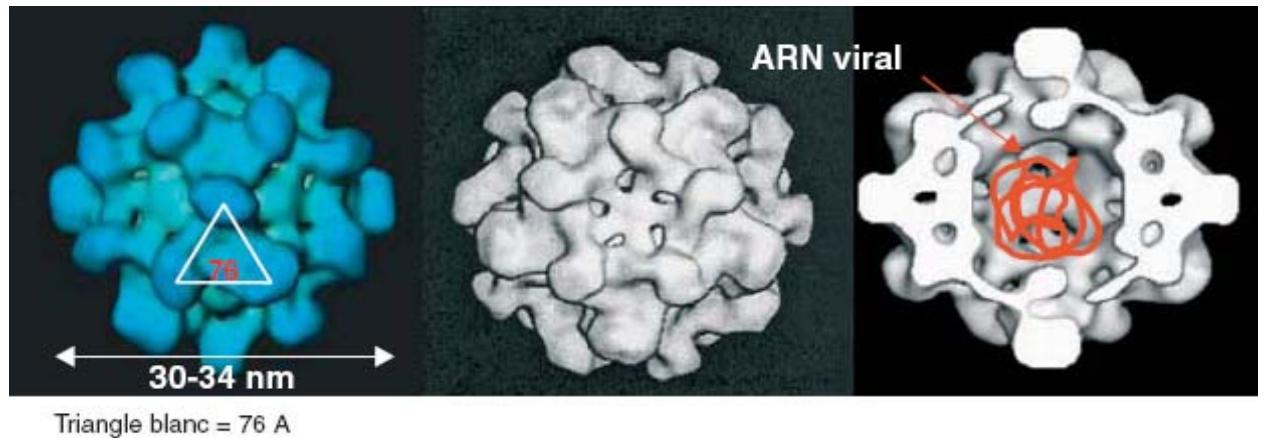
	VHA	VHE
Famille	<i>Picornaviridae</i>	<i>Hepeviridae</i>
Genre	<i>Hepadivirus</i>	<i>Hepevirus</i>
Génotypes	Six (1, 2, 3 : humains ; 4, 5, 6 : simiens)	Quatre (1, 2 : humains ; 3, 4 : humains, animaux (suidés ++))
Sérotypes	Un seul	Un seul
Taille de la particule virale (mm)	28	32-34
Génome	1 brin d’ARN de polarité positive	1 brin d’ARN de polarité positive
Taille du génome (kb)	7,5	7,2 – 7,5
Région 5’ non codante	Complexe	Simple, munie d’une coiffe
Phases ouvertes de lecture (ORF)	1 (polyprotéine)	3
Région 3’ non codante	Queue poly-A	Queue poly-A

En outre, le VHE possède une capsidé de symétrie icosaédrique constituée d’une seule protéine codée par l’ORF2. Les figures 1 et 2 illustrent la morphologie du virus. Enfin le VHE se présente sous 4 génotypes mais un seul sérotype. Nous développerons ce sujet et notamment l’existence d’un « 5^{ème} génotype aviaire », au cours de la partie sur la diversité

génétique du virus.

Rapport.Gratuit.Com

Figure 1 : Morphologie du VHE obtenue par reconstitution informatique, d'après Li *et al.* [131], Xing *et al.* [243] et Pavio *et al.* [176].



Triangle blanc = 76 Å

Figure 2 : Image en microscopie électronique du VHE chez un patient humain. Photographie issue du Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Etats-Unis, (<http://www.cdc.gov/hepatitis/index.htm>).



b. Le génome viral

Comme nous venons de l'évoquer, le génome viral du VHE consiste en une molécule d'ARN de 7,2 à 7,5 kb.

Les travaux de Kabrane-Lazizi *et al.* [98] et de Zhang *et al.* [254] ont montré la présence d'une coiffe en regard de l'extrémité 5'. Le génome du VHE présente ensuite une région non codante (RNC ou NCR pour Non-Coding Region) de taille réduite, de 27 à 35 nucléotides [48].

Derrière ces nucléotides non codants, on trouve la première et la plus importante des trois phases ouvertes de lecture : l'ORF1. Sa taille est d'environ 5078 nucléotides. Cet ORF correspond aux protéines non structurales. Notons qu'un article de Tsarev *et al.* en 1992 a révélé l'existence d'une région hypervariable de près de 300 nucléotides au sein de l'ORF1 [228].

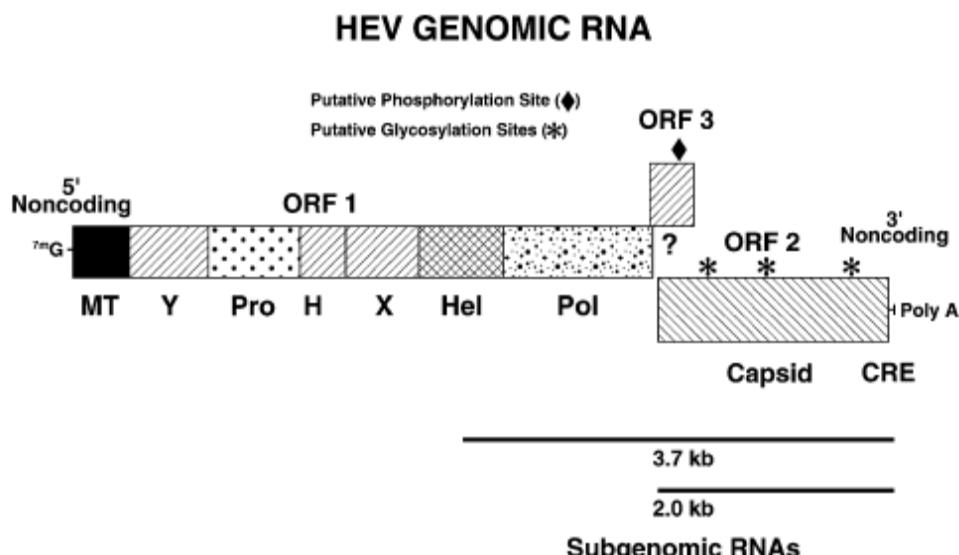
Le second ORF, l'ORF2, code pour une protéine de capsid de 660 acides aminés, soit un poids moléculaire d'environ 88 kDa. D'un point de vue nucléotidique, l'ORF2 s'étend sur un peu moins de 1980 nucléotides.

La troisième et dernière phase ouverte de lecture, ORF3, présente, quant à elle, une taille beaucoup plus réduite avec seulement 369 nucléotides. Cet ORF est toutefois particulier puisqu'il couvre partiellement l'ORF2 et qu'il code pour une petite phosphoprotéine de 123 acides aminés dont la fonction est encore inconnue.

A la suite de ces phases ouvertes de lecture, on retrouve, en 3', une région non codante dont la taille varie de 65 à 74 nucléotides [48]. Enfin, le génome viral s'achève au niveau de son extrémité 3' par une queue polyadénylée de taille variable.

La figure 3 ci-après illustre ainsi l'organisation générale du génome.

Figure 3 : Organisation du génome viral d'après Purcell *et al.* [183]



Avec :

avec :

MT : Methyltriazine
Y : Domaine Y

1. Domaine 1

FIG. : système
H : Domaine H

II : Domaine II

x : Domaine x
Heli : Hélicase

Hel : Hélicase
Pol : ARN polymerase ARN-dépendante

Pol : ARN polymé
Capsid : Capside

Capsid : Capside

c. Les protéines virales : nature et fonctions

Les différentes phases ouvertes de lecture codent pour plusieurs protéines, dont la localisation au sein du génome viral est visible sur la figure 3, et dont l'identité et la fonction sont connues pour certaines mais non pour d'autres. Nous allons ici détailler les informations concernant ces protéines.

a. Protéines non structurales codées par l'ORF1

Les protéines non structurales codées par l'ORF1 se présentent initialement sous la forme d'une polyprotéine d'environ 1700 nucléotides. Toutefois, il n'est pas encore établi si le clivage de cette polyprotéine est autocatalytique ou réalisé par des protéases cellulaires. Dans le sens 5' vers 3', on trouve ainsi les protéines suivantes :

- ***Méthyl transférase***

Cette fonction enzymatique a été proposée en 1992 par Koonin *et al.* [113]. Plus tard, l'identification de la coiffe 7-méthyl-guanosine (m7G) à l'extrémité 5' du brin d'ARN viral a confirmé ce rôle [98]. D'ailleurs, *in vitro*, une protéine composée des acides aminés 1 à 979 de l'ORF1 (soit une partie de la séquence codant pour la méthyl transférase), catalyse le transfert d'un groupe méthyl depuis une S-adénosylméthionine sur un GTP ou GDP pour former un groupement m7GTP ou m7GDP [137].

- ***Domaine Y***

Le domaine Y chevauche le motif conservé de l'extrémité 3' de la méthyl transférase [113]. Ce domaine présente une forte similarité sur environ 200 acides aminés entre le VHE, le virus de la rubéole (*Rubella Virus*, *Rubivirus*) et le Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV, *Furovirus*) responsable de la rhizomanie de la betterave. A ce jour aucune fonction n'a été attribuée à ce domaine.

- ***Protéase cystéine papaïne-like***

L'existence d'un domaine X très conservé en association avec cette protéase suggère un lien avec d'autres virus à ARN positif comme les *Alphavirus* ou le virus de la rubéole (*Rubella virus*, *Rubivirus*). Or chez ces virus, il semblerait que la protéase papaïne-like soit impliquée dans le clivage de la polyprotéine virale [67, 69]. Par analogie, on peut donc supposer que la protéase cystéine papaïne-like du VHE soit responsable du clivage de la polyprotéine pORF1 en plusieurs protéines non structurales même si les sites exacts de clivage sont encore inconnus.

- **Hélicase**

Tout comme le domaine Y, l'hélicase du VHE présente une grande proximité avec celles du virus de la rubéole (Rubella Virus, *Rubivirus*) et du Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV, *Furovirus*). Elles font ainsi partie de la superfamille des hélicases I [66, 68]. Or ces hélicases sont indispensables à la réplication, la recombinaison, les réparations ou encore la transcription. L'hélicase du VHE est donc une protéine non-structurale essentielle au cycle de réplication du virus.

- **ARN polymérase ARN-dépendante**

Cette enzyme est également proche des ARN polymérases ARN-dépendantes (ou RdRp pour RNA-dependent RNA polymerase) du virus de la rubéole (Rubella Virus, *Rubivirus*) et du Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV, *Furovirus*) [61, 112]. Elle est indispensable à la réplication virale. Ainsi l'étude de Graff *et al.* en 2005 montre qu'une mutation introduite dans la séquence codante pour la RdRp, à savoir le remplacement d'un motif GDD par un motif GAD, génère un réplicon incapable de se répliquer ou se répliquant partiellement [71]. D'ailleurs, *in vivo*, l'inoculation intrahépatique de ce réplicon chez des singes rhésus n'a déclenché aucun signe d'infection. En outre, les erreurs de cette enzyme lors de la réplication sont à l'origine de la grande variabilité du VHE, comme nous l'aborderons dans la partie sur la diversité génétique de ce virus.

β. Protéine structurale codée par l'ORF2

L'ORF2 code pour la protéine structurale de capsid. L'analyse morphologique de la séquence de cette protéine de 660 acides aminés montre la présence d'un large domaine hydrophobe à l'extrémité amino-terminale suivie d'une région riche en acides aminés basiques [213]. En outre, il semblerait que la protéine de capsid possède 3 sites de glycosylation, désignés par le symbole * sur la figure 3 [252]. D'ailleurs, cette protéine possède une séquence signal d'adresse au réticulum endoplasmique et, lorsqu'elle est exprimée *in vitro*, elle est retrouvée glycosylée dans le cytoplasme et à la surface des cellules.

Concernant son rôle, la protéine de capsidé a tout d'abord un rôle protecteur car elle entoure l'ARN. En plus de cette protection de l'ARN viral, la capsidé interagit avec l'ARN. Les travaux de Surjit *et al.* en 2004 montrent effectivement une liaison entre les 111 acides aminés de l'extrémité NH₂ de la protéine de capsidé et une région de 76 nucléotides de l'extrémité 5' du génome viral et suggèrent que cette interaction participe à l'encapsidation du virus [206]. Autre interaction, la protéine de capsidé est à l'origine de la liaison avec la cellule cible permettant l'entrée du virus dans cette cellule [50, 78]. Enfin, selon une étude de Li *et al.* en 2005, une protéine tronquée constituée des 111 premiers acides aminés de l'extrémité NH₂ de la protéine de capsidé a la particularité de s'auto-assembler pour former des particules *virus-like* (appelées VLP) [131]. Ces VLP sont d'une taille inférieure aux particules natives (23-24 nm de diamètre). Cependant elles présentent des propriétés immunogéniques identiques aux particules natives [243]. En effet les épitopes majeurs à l'origine de la production d'anticorps circulants par l'organisme hôte semblent se situer à l'extrémité NH₂ de l'ORF2 et de l'ORF3 [256]. Concernant les caractéristiques de ces anticorps, l'étude de Ghabrah *et al.* sur les différents anticorps montre que les tests basés sur les anticorps dirigés contre la protéine de capsidé sont les tests les plus sensibles pour la détection d'une infection par le VHE [64].

γ. Protéine codée par l'ORF3

La protéine codée par l'ORF3 est une phosphoprotéine de petite taille, 123 acides aminés. Sa fonction n'est toujours pas connue à ce jour. Néanmoins, l'étude de Graff *et al.* rapporte que cette protéine contient des éléments nécessaires à la multiplication du VHE chez le macaque cynomolgue (*Macaca fascicularis*) [71]. Par ailleurs, Zafrullah *et al.* ont démontré, grâce à un système d'expression *in vitro*, que les protéines pORF2 et pORF3 interagissent [253]. On peut donc supposer que la protéine codée par l'ORF3 possède, elle aussi, un rôle dans l'assemblage des particules virales néoformées. En outre, d'après cette même étude, la pORF3 semble associée au cytosquelette. Enfin, la protéine de l'ORF3 possède également des propriétés immunogéniques. Ainsi, Yarbough *et al.* en 1991 rapportent la détection d'anticorps dirigés contre la protéine codée par l'ORF3 chez des singes cynomolgue ayant reçu par inoculation intraveineuse du VHE [247].

3.Cycle viral

Le cycle de multiplication du VHE est toujours largement méconnu. Excepté le fait que l'hépatocyte soit la cible privilégiée du virus, ce cycle reste à l'heure d'aujourd'hui encore hypothétique. Quelques études ont toutefois émis des hypothèses intéressantes concernant les modalités de réPLICATION du VHE.

Tout d'abord, les recherches d'Emerson *et al.* en 2001 ont mis en évidence l'importance de la coiffe pour l'infectivité des particules virales [50]. A partir d'un cDNA de la souche pakistanaise Sar-55 (génotype 1), l'équipe d'Emerson a construit 2 variants et ensuite obtenu leur transcription *in vitro*. Ils ont ensuite élaboré des transcrits coiffés et non coiffés puis leur potentiel infectieux a été testé par inoculation intrahépatique à des chimpanzés (*Pan troglodytes*). Le sérum de ces animaux a alors été prélevé hebdomadairement pour vérifier les paramètres hépatiques que sont l'alanine aminotransférase (ALAT) et l'isocitrate déshydrogénase (ICD). Des valeurs 2 fois supérieures aux valeurs pré-infection étaient considérées comme augmentées et donc indicatrices d'une hépatite. Au bout de 20 semaines d'expérimentation, seuls les chimpanzés ayant reçu les transcrits coiffés ont développé des signes d'hépatite, suggérant de ce fait le rôle essentiel de la coiffe de l'ARN dans l'infectivité du VHE.

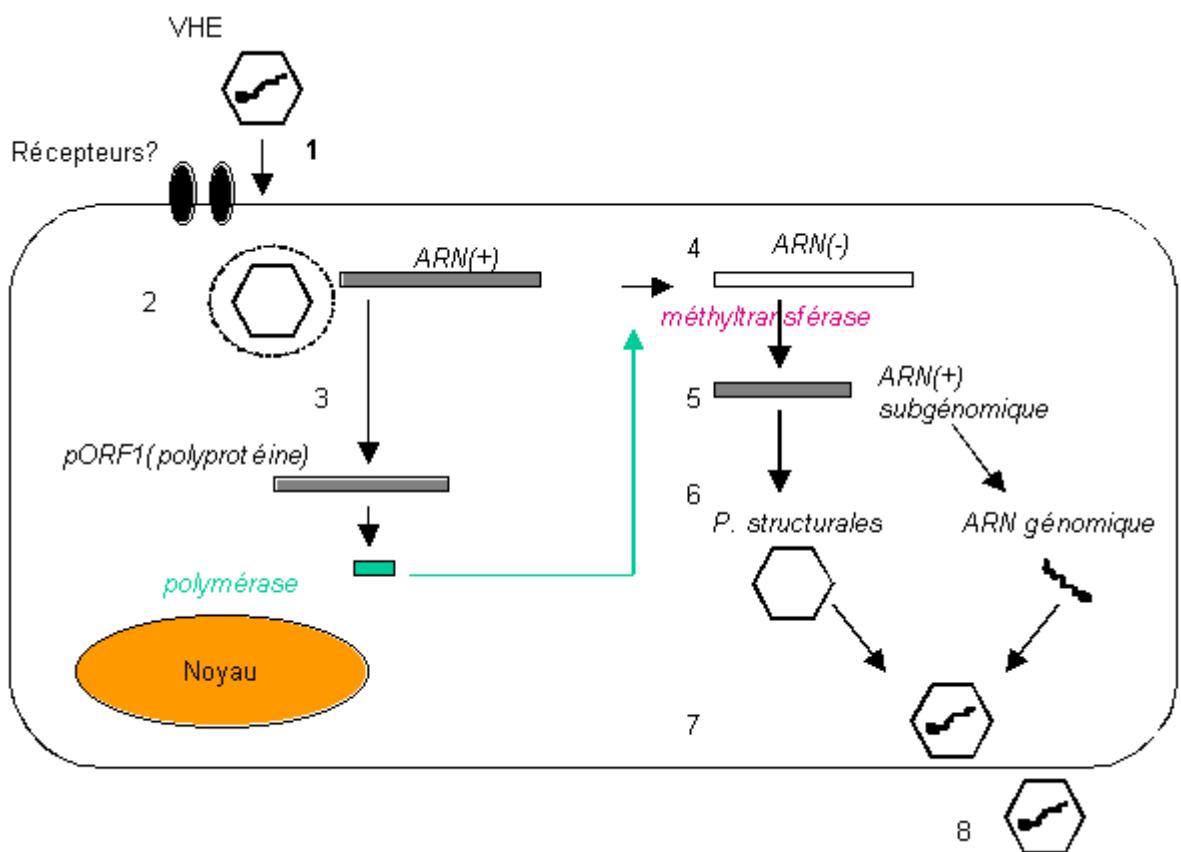
Plus tard, He *et al.* ont proposé l'existence d'une liaison entre un peptide de la capsidE et un récepteur cellulaire putatif [78]. Ce peptide, nommé p239 et constitué des acides aminés 368 à 606 de la protéine structurale, se composerait de deux domaines, l'un monomérique et l'autre dimérique. De plus, il semblerait qu'une mutation sur le domaine dimérique affecte la capacité de liaison du virus au récepteur cellulaire potentiel.

D'autre part, une étude indienne menée par Rehman *et al.* a récemment précisé la localisation de l'ARN polymérase aussi appelée réplicase, enzyme indispensable au cycle de multiplication [186]. L'ARN polymérase a été identifiée dans le réticulum endoplasmique principalement, à la fois par microscopie confocale et microscopie immuno-électronique.

Par analogie avec le cycle de multiplication des *Alphavirus* et en ajoutant les quelques informations précédentes, la réPLICATION du VHE est supposée être la suivante : grâce à la présence d'un ou plusieurs sites de liaison entre la capsid et la cellule cible, ici l'hépatocyte, le virus pénétrerait dans la cellule. Le virus serait ensuite décapsidé, libérant ainsi la molécule d'ARN simple brin de polarité positive. La traduction de la polyprotéine pORF1 aboutirait à la libération de l'ARN polymérase, à priori dans le réticulum endoplasmique. Cette polymérase permettrait la synthèse d'un brin d'ARN de polarité négative. Ce même brin, grâce à l'action de la méthyl transférase, donnerait alors naissance à l'ARN subgénomique de polarité positive. A partir de cet ARN subgénomique, les protéines structurales d'une part et l'ARN génomique d'autre part seraient ensuite synthétisés. Les dernières étapes de ce cycle correspondraient à l'assemblage du provirion puis au relargage des particules virales néoformées hors de la cellule. Les recherches n'ont pas encore pu déterminer par quelle voie le virus sort de la cellule. Il existe pour cela deux hypothèses principales à savoir une excrétion par les voies naturelles de sécrétion cellulaire via le réticulum et l'appareil de Golgi, ou une libération par lyse cellulaire. La figure 4, page suivante, illustre ce cycle hypothétique.

Pour achever le cycle viral du VHE, il semblerait que les particules néoformées soient excrétées dans la bile et de là rejoignent le tube digestif pour être enfin éliminées dans l'environnement par les fèces. La présence massive de virus dans la bile et les fèces est confirmée par différents travaux [34, 76, 115].

Figure 4 : Cycle de réplication hypothétique du VHE dans l'hépatocyte d'après le Centre National de Recherche (CNR) sur les virus de l'hépatite E et de l'hépatite A (<http://www.cnr.vha-vhe.aphp.fr/>)



Étapes du cycle :

- 1 : Entrée dans l'hépatocyte
- 2 : Décapsidation
- 3 : Traduction de l'ORF1
- 4 : Synthèse du brin d'ARN de polarité négative
- 5 : Synthèse d'ARN positif subgénomique
- 6 : Synthèse des protéines structurales
- 7 : Assemblage du provirion
- 8 : Relargage du virus hors de l'hépatocyte

4. Variabilité génétique du VHE

a. Notions de base

Le virus de l'hépatite E est un virus à ARN, tout comme les coronavirus, les picornavirus, les virus grippaux ou influenza virus. Or ce type de virus est connu pour présenter un taux de mutation très élevé et de ce fait les virus à ARN présentent une forte diversité génétique [230].

Revenons en quelques mots sur ces processus. Le cycle de réPLICATION d'un virus comporte, très schématiquement, plusieurs phases successives : l'attachement au récepteur de la cellule cible via une protéine de surface, la pénétration dans le cytoplasme (et/ou le noyau), la réPLICATION du génome, l'élaboration des différentes protéines virales en détournant une partie du métabolisme cellulaire au profit du virus, l'assemblage des protéines virales et enfin la sortie des virus néoformées de la cellule. Dans le cas des virus à ARN, la réPLICATION fait appel à des enzymes propres à ces virus, les ARN polymérases ARN-dépendantes. Toutefois, ces enzymes sont dites « peu fidèles ». En effet, elles ne possèdent pas de système de relecture leur permettant de corriger les multiples erreurs survenant lors de la copie du génome. Dès lors, à chaque cycle de réPLICATION virale, un certain nombre de mutations sont introduites dans la population virale et aboutissent à l'augmentation de la diversité génétique de ces virus. Dans le cas de notre virus, l'étude phylogénétique de Tanaka *et al.* a permis d'estimer le taux d'erreur de l'ARN polymérase à $0,8 \times 10^3$ substitutions par site et par an [220].

Dans le cas du VHE, on dénombrait début 2008, 1966 séquences virales, dont 1394 d'origine humaine, disponibles dans la base de données GenBank [169]. GenBank est, comme son nom l'indique, une banque de séquences américaine. Elle donne libre accès à toutes les séquences de nucléotides publiquement disponibles, c'est-à-dire déposées par les laboratoires, et à leur traduction en protéines (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>). Cette base de données, créée dès les années 1970 au sein du Centre National pour l'Information biotechnologique (NCBI), secteur appartenant à l'Institut National de la Santé (NIH), est partie intégrante de la Collaboration Internationale sur le Séquençage des Nucléotides

(INSDC). L'INSDC regroupe les bases de données de plusieurs continents : pour l'Asie la Base de données ADN du Japon (DNA Databank of Japan), pour l'Europe le Laboratoire Européen de Biologie Moléculaire (EMBL) et GenBank donc pour le continent américain [54]. Outre les 1966 séquences de VHE disponibles, GenBank donne également accès à 94 génomes complets du virus, dont 36 d'origine humaine.

b. De nombreuses souches, mais quels liens, quelle proximité génétique ?

Les 1966 isolats de VHE disponibles sont le reflet de l'importante variabilité génétique de ce virus. Dans le but de comprendre les liens entre les souches, de nombreuses études phylogénétiques ont été menées depuis la découverte du virus. Il existe ainsi un nombre incalculable d'arbres phylogénétiques disponibles dans la littérature. Le principal problème est la comparaison entre ces arbres car toutes les équipes de chercheurs n'utilisent par les mêmes régions du génome viral.

D'un côté, certaines équipes ont fait appel à l'ORF1 pour comparer les séquences virales [194, 195, 196]. Or cette phase ouverte de lecture, qui code les protéines non structurales, apparaît comme une des régions les plus conservées du génome du VHE. Il résulte de ce constat que la diversité génétique déterminée à partir de cet ORF se révèle moins importante que la variabilité réelle du virus, ceci bien évidemment à l'exception de la région hypervariable de l'ORF1 que nous avons mentionnée plus tôt.

Afin d'élargir le champ d'analyse phylogénétique, l'ORF2 est souvent préféré à l'ORF1 [17, 53, 72, 83, 99, 168, 178, 228, 236, 240, 245]. Rappelons que l'ORF2 code pour une protéine structurale, la protéine de capsid. A l'inverse de l'ORF1, la seconde phase ouverte de lecture est, elle, d'évolution très rapide et de ce fait très variable. En effet, la capsid est le principal élément antigénique cible de la réponse immunitaire de l'hôte ; une

évolution rapide au gré des mutations constitue alors une des stratégies d'échappement à la réponse immunitaire. Pour cette raison, les arbres obtenus en se basant sur l'ORF2 deviennent rapidement très complexes car les séquences comparées divergent par quelques nucléotides sur cette portion du génome (jusqu'à plusieurs pour cent de divergence selon les études). La diversité observée est telle qu'on la retrouve même au plan intra-individuel. L'étude rétrospective franco-algérienne menée en 2004 par Grandadam *et al.* sur l'épidémie d'hépatites E survenue à Tanefdour, en Algérie, en 1986-1987, en est un exemple [72]. A partir de 12 isolats, l'équipe de Grandadam a opéré une analyse par polymorphisme de longueur de fragments de restriction (ou RFLP pour Restriction Fragment Length Polymorphism). Les résultats ont montré que 3 isolats étaient hautement conservés avec une diversité moyenne de 0,08% alors que pour les 9 isolats restants, l'hétérogénéité variait de 0,11 à 3,4%. Cette étude notamment a alors permis d'évoquer la notion de quasi espèce virale pour le VHE, c'est-à-dire l'existence chez un même individu d'une population virale hétérogène d'un même virus. Le fait que le VHE évolue sous forme d'une quasi espèce virale est ainsi source d'une grande variabilité génétique à l'intérieur de laquelle les relations phylogénétiques sont parfois difficiles à établir.

L'idéal pour obtenir un panorama le plus proche de la diversité génétique réelle du VHE serait finalement de comparer les séquences complètes de génome. Cette technique a été utilisée dans quelques articles [52, 135, 200, 208, 231, 242]. L'analyse comparée de génomes complets est toutefois limitée par le nombre de séquences utilisées dans ces études, le maximum étant de 77 séquences complètes ou quasi-complètes dans l'étude de Lorenzo *et al.* [135] (voir figure 6). Début 2008, 94 génomes complets de VHE étaient disponibles sur GenBank. De nouvelles analyses phylogénétiques sont alors à envisager.

Dans l'attente d'une classification « idéale » basée sur les génomes complets, les chercheurs ont souvent recours à la combinaison entre comparaisons réalisées à partir de l'ORF1 et de l'ORF2. La plus importante étude phylogénétique de ce type a été menée par Lu *et al.* en 2004 [136]. Cette étude comparative, portant sur 421 isolats, a abouti à la classification actuelle du VHE.

Il est tout d'abord reconnu que le VHE ne présente qu'un seul sérotype. On distingue ensuite 4 génotypes majeurs et 1 génotype aviaire, chaque génotype étant lui-même divisé en sous types.

Le génotype 1 regroupe des souches humaines de VHE, toutes isolées lors d'épidémies dans des pays d'Afrique et d'Asie. La souche prototype de ce génotype est la souche Burma. En outre, le génotype 1 se divise en 5 sous types : 1a, 1b, 1c, 1d et 1e.

La diversité génétique du génotype 2 est beaucoup plus restreinte. On ne distingue que 2 sous types, 2a et 2b, comprenant respectivement la souche de référence, souche Mexico, et quelques souches africaines.

Le niveau de diversité génétique augmente fortement avec le génotype 3. Les souches formant ce génotype sont, pour l'essentiel, issues de pays industrialisés et sont aussi bien humaines qu'animales. La diversité génétique se caractérise par 10 sous types : 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 3g, 3h, 3i et 3j. Ce génotype comprend notamment les souches humaines US-1 et US-2, premières souches humaines isolées en zone non endémique, ainsi que la souche Swine US, première souche porcine identifiée.

Le génotype 4, quant à lui, est un génotype principalement retrouvé en Asie du Sud est. Il est à la fois humain et animal et se divise en 7 sous types : 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4f et 4g.

Globalement, les quatre génotypes qui viennent d'être décrits sont définis par 23 à 25% de différence sur le plan nucléotidique. Au sein d'un génotype, la divergence entre les sous types est de l'ordre de 12 à 15%. Enfin, dans un même sous type, les isolats diffèrent de 5 à 10% sur le plan nucléotidique.

La figure 5 présente l'organisation phylogénétique du VHE selon l'étude de Lu *et al.* [136], c'est-à-dire par analyse combinée de l'ORF1 et de l'OR2. La figure 6, quant à elle, montre l'arbre phylogénétique obtenu par Lorenzo *et al.* [135] dans leur étude portant sur 77 génomes complets. De plus ces deux figures illustrent deux représentations possibles d'un arbre phylogénétique.

Figure 5 : Arbre phylogénétique construit à partir de l'analyse combinée de l'ORF1 et de l'ORF2 de 275 séquences de VHE illustrant la répartition des isolats par génotypes et sous types d'après Lu *et al.* [136].

Ce type d'arbre est appelé Minimum Spanning Tree.

A : Dendrogramme précisant le sous-type 1a

B : Dendrogramme précisant le sous-type 4c

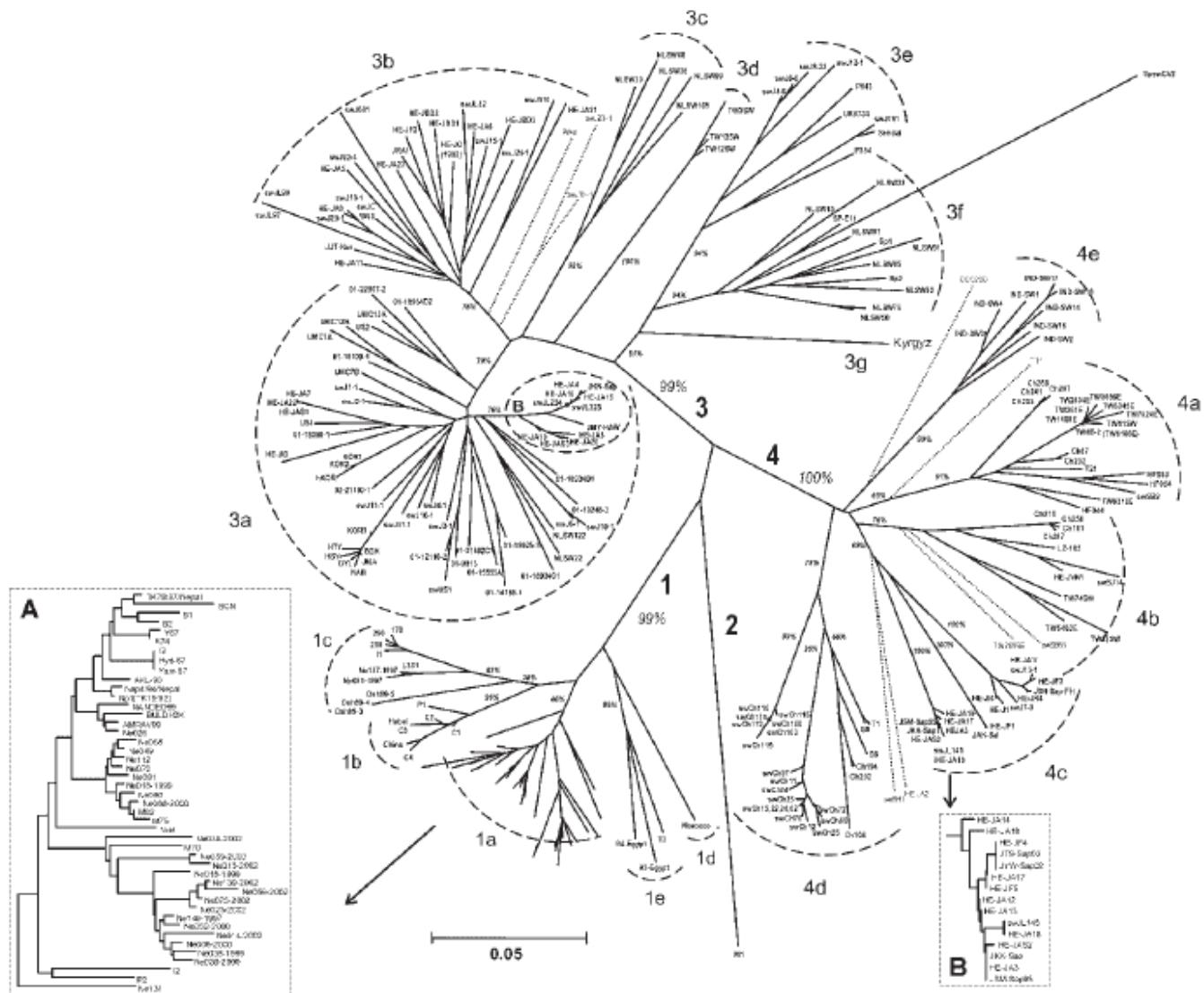
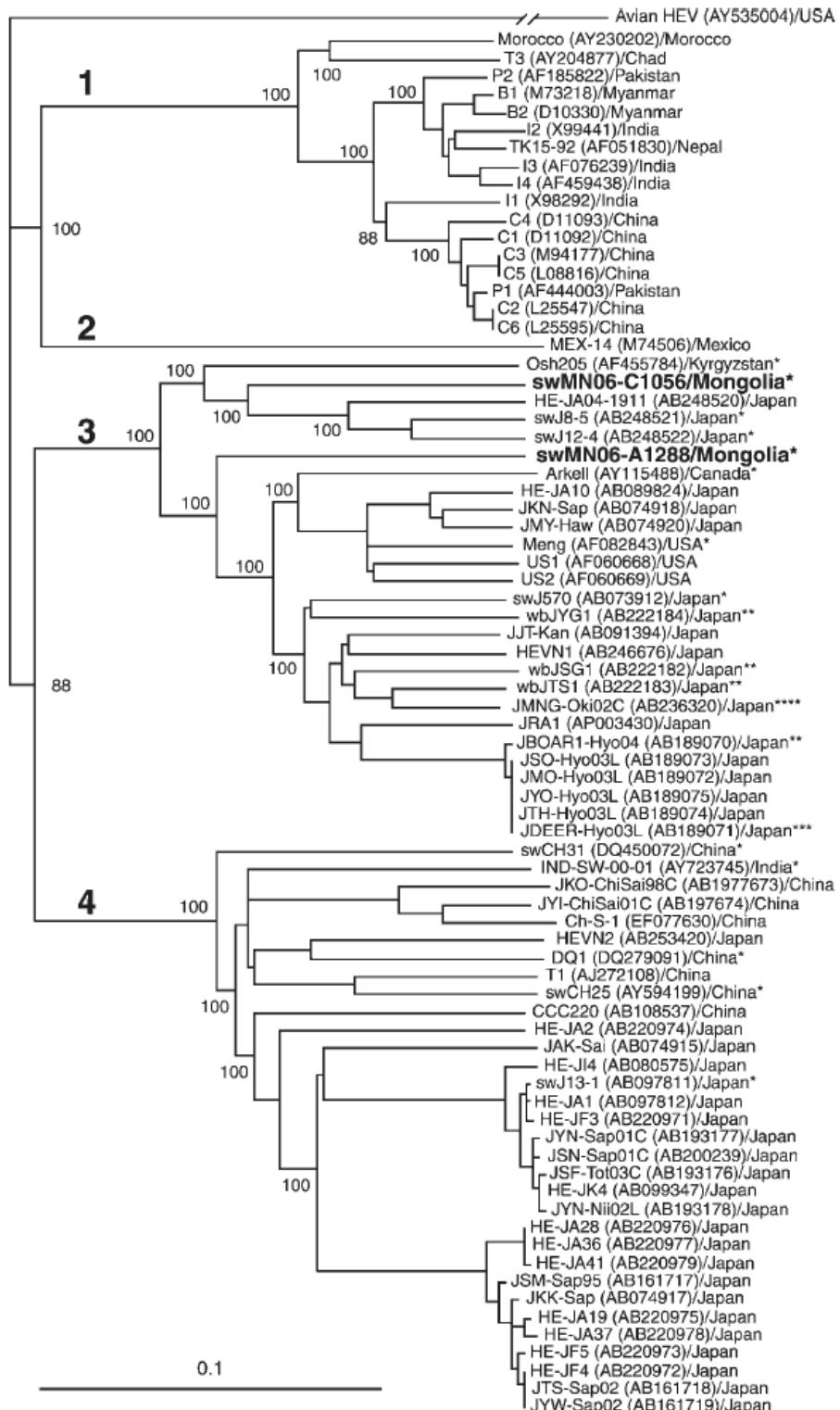
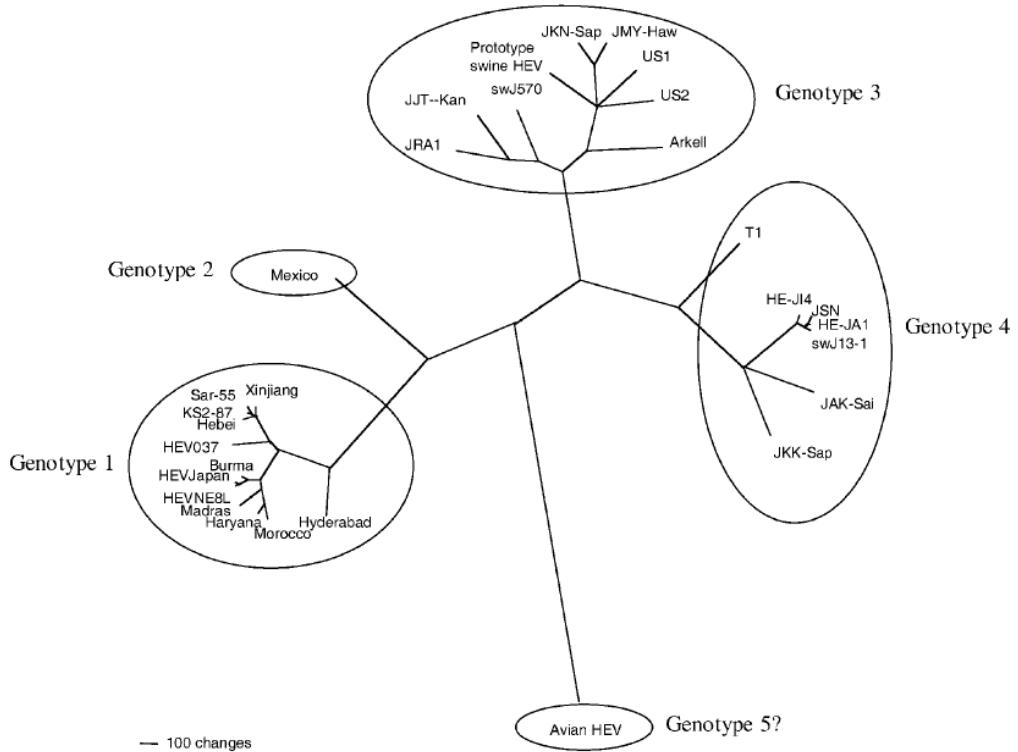


Figure 6 : Arbre phylogénétique obtenu par analyse comparée de 77 génomes complets ou quasi-complets, d'après Lorenzo *et al.* [135].



Enfin, un variant du VHE a été isolé chez des poulets présentant un syndrome hépatite-splénomégalie en 2001 aux Etats-Unis [77]. Afin de situer ce variant parmi la multitude de souches répertoriées, une étude phylogénétique a été menée en 2004 par Huang *et al.* [86]. Les analyses ont montré qu'au niveau nucléotidique, l'homologie entre cette souche aviaire et les souches humaines et porcines n'est que de 50% si on considère le génome entier. Elle est de 48-51% sur l'ORF1, de 46-48% sur l'ORF2 et de 29-34% sur l'ORF3. De plus, la virulence de cette souche aviaire chez les primates non humains a été testée par inoculation intraveineuse du virus à 2 singes rhésus (*Macaca mulatta*). Ce test s'est soldé par un échec ; aucun des animaux ne présentant ni séroconversion, ni virémie, ni excrétion fécale ou encore élévation des enzymes hépatiques. Pour toutes ces raisons, la création d'un nouveau génotype, le génotype 5, a été proposée. La figure 7 met en évidence cette divergence entre la souche aviaire et les autres souches de VHE. Ce génotype étant, à ce jour, strictement aviaire et plus éloigné génétiquement, nous ne reviendrons plus dessus au cours de cette thèse.

Figure 7 : Arbre phylogénétique construit à partir de la comparaison de séquences complètes du variant aviaire du VHE et de 29 souches humaines et porcines d'après Huang *et al.* [86].



La classification proposée par Lu *et al.* est une classification basée sur la synthèse des différentes approches phylogénétiques disponibles. En l'absence d'une phylogénie générale élaborée à partir des génomes complets, elle est considérée comme la classification par défaut. Elle est d'ailleurs très discutée au sein de la communauté scientifique et il n'existe à l'heure actuelle aucun consensus sur le nombre de sous types et la répartition des souches. Nous l'utiliserons toutefois pour la suite de cet exposé car bien que non officielle, cette classification est communément utilisée dans les travaux et les publications.

c. Stratégies évolutives

Pour persister, un virus tel que le VHE doit constamment évoluer. Nous venons d'aborder la notion de quasi espèce virale pour le VHE. Comme tout virus à ARN, la réplication du VHE se caractérise par une absence d'activité de correction de l'ARN polymérase ARN-dépendante. A chaque cycle s'accumulent des erreurs d'incorporation de

nucléotides. Rappelons que pour le VHE, le taux d'erreur de l'ARN polymérase est estimé à $0,8 \times 10^3$ substitutions par site et par an [220].

Outre les mutations induites par les erreurs de l'ARN polymérase, les virus à ARN ont un potentiel de recombinaison certain. Pour le VHE, ce potentiel a été suggéré en 2002 par Takahashi *et al.* au Japon [210]. Ainsi, deux isolats de génotypes différents ont été découverts chez un même patient, un homme de 45 ans présentant une hépatite aigue. A partir d'échantillons de sérum, une souche de génotype 3 et une souche de génotype 4 ont été isolées. L'homologie entre ces souches était de 79,3-81,4%. Malgré cette distance génétique, l'infection d'un même individu par différentes souches soulève la question des recombinaisons possibles inter- et intra-génotypes. Notons quand même qu'à ce jour, aucune co-infection avec des souches de génotypes différents n'a été rapportée pour les génotypes 1 et 2.

La première preuve de l'existence de recombinaisons pour le VHE est apportée en 2005 par Van Cuyck *et al.* [230]. L'étude de 32 séquences génomiques complètes a permis l'identification d'au moins 2 souches recombinantes de génotype 1 : les souches China D (isolée en Chine dans la province de Xinjiang en 1987) et Nepal TK15 (isolée au Népal dans la région de Katmandou en 1992). Dans ce cas, il s'agit de recombinaisons intra-génotypes.

Qu'il s'agisse de co-infection ou de super-infection, le risque de recombinaisons est donc réel pour le VHE et ne doit pas être négligé car ce virus atteint l'Homme et l'animal. Dans l'avenir, on ne peut alors pas exclure une sélection, par recombinaisons, de variants mieux adaptés et plus virulents pour l'Homme, phénomène bien connu chez d'autres virus à ARN tels que les entérovirus.

5. Propriétés physico-chimiques

Les données concernant les propriétés physico-chimiques du VHE sont limitées. Ceci est en partie dû au manque de modèles d'étude *in vitro* comme nous le verrons dans la partie suivante.

D'abord, le VHE est un virus non enveloppé. Or ce type de virus est généralement plus résistant dans l'environnement notamment face à l'action des détergents ou à la dessiccation. On peut donc supposer que le VHE présente ces mêmes caractéristiques.

En outre, il est raisonnable de penser que le VHE tolère bien les variations de pH d'amplitude moyenne afin de survivre dans le milieu gastro-intestinal. D'ailleurs l'étude de Zafrullah *et al.* en 2004 menée sur la protéine ORF2 et des formes tronquées de cette protéine, exprimées dans des cellules d'insecte, montre qu'une baisse du pH renforce la structure secondaire et la stabilité de la capsidé [251].

La stabilité thermique du VHE a, quant à elle, été étudiée par l'équipe d'Emerson *et al.* en 2005 [45]. Plus précisément, dans cette étude, les chercheurs ont comparé la stabilité de l'infectivité du VHE face aux variations de chaleur. Pour ce faire, des suspensions fécales contenant du VHE ont été chauffées à différentes températures allant de 45 à 70°C puis l'infectivité résiduelle a été testée *in vitro* sur un des rares modèles cellulaires disponibles, en l'occurrence la lignée cellulaire HepG2/C3A (voir partie suivante). Les souches de VHE utilisées dans cet article étaient 3 souches humaines : Akluj (génotype 1), Sar-55 (génotype 1) et Mex 14 (génotype 2). Les résultats obtenus ont indiqué que parmi les 3 souches de VHE, les souches Sar-55 et Akluj étaient inactivées entièrement à 60°C alors que la souche Mex 14 résistait légèrement plus à la chaleur (jusqu'à 70°C environ). A 56°C, quasiment toutes les souches restent virulentes. Or la température de 56° C est considérée comme la température minimale de cuisson. De ce fait, cette notion de résistance relative à la chaleur est essentielle face à un virus potentiellement zoonotique par voie alimentaire.

De manière générale, il semblerait donc que le VHE soit un virus relativement résistant dans l'environnement, à une baisse de pH et des variations de température. Ces informations seront donc à prendre en compte dans la prévention du risque zoonotique.

6. Quels modèles pour la culture cellulaire *in vitro* ?

L'essentiel de la recherche concernant le virus de l'hépatite E a été réalisé sur des modèles animaux *in vivo*. Ainsi, les primates non humains [223, 232], macaques et chimpanzés, le porc [76], ou plus rarement le rat [139], ont servi et servent encore actuellement de modèle. Ils ont notamment permis d'étudier la symptomatologie de l'infection, la réponse immunitaire chez l'hôte... Tous ces points feront l'objet du prochain chapitre, nous ne les aborderons donc pas ici. Ces modèles animaux sont d'autant plus importants face à l'absence d'un réel modèle cellulaire permettant l'étude *in vitro* du virus.

Pourtant, depuis la découverte du virus, de nombreuses tentatives pour générer un modèle cellulaire efficace ont été menées, avec parfois l'obtention de résultats encourageants.

Dans un premier temps, des cellules non hépatocytaires ont été utilisées. Par exemple, en 1992, Huang *et al.* ont testé des cellules pulmonaires embryonnaires humaines (2BS) : ces cellules étaient infectables mais n'excrétaient pas de virus dans le milieu extracellulaire et ne présentaient pas de signes de cytotoxicité [88] ; *elles étaient surtout utilisées comme inoculum pour infecter des singes rhésus*. Les premiers résultats concrets *in vitro* ont été obtenus en 1996 par l'équipe de Tam *et al.* aux Etats-Unis [214]. Après inoculation de primates non humains par un inoculum composé de virus de génotype 1 (souche Burma), des hépatocytes ont été isolés à partir d'un fragment de foie obtenu lors d'une biopsie de contrôle. Cette équipe a mis en évidence une réplication virale dans ces cellules grâce à l'amplification de l'intermédiaire de réplication par une technique de RT-PCR très sensible et très spécifique. La présence de l'ARN viral dans le milieu de culture a été démontrée, suggérant ainsi la possible excrétion de « virus like particles » (VLP), confirmée par la mise en évidence par microscopie électronique de formation d'agrégats de ces VLPs en présence de sérums immuns anti-VHE. Par la suite, cette même équipe a utilisé ces cellules pour étudier la présence d'anticorps

neutralisants dirigés contre la protéine de capside (pORF2) [215]. Néanmoins, le recours à des primates dont l'utilisation est très strictement réglementée est un facteur limitant à ce type de modèle cellulaire.

Pour pallier cela, les scientifiques ont fait appel à des lignées cellulaires. Parmi les lignées testées, on notera une tentative sur les cellules A549, cellules de carcinome pulmonaire humain [87, 88]. L'équipe chinoise qui a effectué cette étude rapporte la réplication du virus avec excrétion dans le milieu cellulaire et effet cytopathique sur les cellules. Néanmoins cette étude n'a jamais été reproduite et ne peut donc être considérée comme un modèle valable. Quelques années plus tard, Emerson *et al.* aux Etats-Unis ont prouvé l'infection et la réplication du VHE chez 2 lignées cellulaires issues d'hépatocarcinomes humains : les lignées Huh7 et PLC/PRF/5 [47]. Ces deux lignées ont été transfectées avec des ARNs coiffés transcrits à partir de réplicon infectieux du VHE construit à partir d'un virus d'origine porcine. Après transfection les cellules produisaient bien des particules infectieuses. La lignée PLC/PRF/5 a par la suite été reprise par l'équipe de Tanaka *et al.* au Japon afin d'améliorer ce modèle cellulaire [219]. Ces cellules ont été infectées par un inoculum obtenu à partir de fèces humaines infectées. Elles ont alors pu être maintenues infectées pendant 5 passages successifs. Récemment, une autre lignée cellulaire a permis de générer un second modèle cellulaire performant, la lignée HepG2/C3A [46].

Les lignées PLC/PRF/5 et HepG2/C3A constituent aujourd'hui les principaux modèles *in vitro* disponibles pour l'étude du VHE. Cependant, il existe certains facteurs limitants à ces modèles. Les lignées sont des cellules transformées issues de tumeurs, ce sont donc des cellules « malades » qui ne se comportent probablement pas comme des cellules saines. Les conclusions des études réalisées sur ces modèles ne peuvent donc être intégralement transposées à une situation *in-vivo*. En outre, ces lignées nécessitent des titres viraux élevés pour que l'infection ait lieu. Enfin, dans les deux cas, les lignées sont d'origine humaine et l'infection a été réalisée avec des souches virales humaines. Contrairement aux autres virus des hépatites, l'homme n'est pas le seul hôte naturel de ce virus qui est présent chez de nombreuses espèces animales et particulièrement chez le porc. Actuellement, mis à part les modèles d'infections expérimentales *in vivo* chez le porc ou les primates, il n'existe pas de modèle d'étude porcin du VHE *in vitro*. De ce fait, aucune conclusion certaine sur le comportement des souches porcines et/ou des cellules d'origine porcine ne peut être tirée des

études sur ces modèles. Le développement d'un tel modèle permettrait d'étudier le cycle de multiplication du virus qui est encore peu connu, d'identifier des déterminants de passage de barrière d'espèce et de déterminer si la présence de l'ARN du VHE dans certains aliments ou l'environnement est corrélée à la présence de virus infectieux.

Pour répondre à cette attente, une équipe française de l'Unité de Recherche Mixte (UMR) 1161 de Virologie INRA-AFSSA-ENVA travaille actuellement sur l'élaboration d'un tel modèle : ils mettent au point un modèle d'infection d'hépatocytes primaires de porc nouveau-né par le VHE (*résultats non encore publiés*). Ce modèle pourrait constituer une alternative au modèle d'infection expérimentale chez le porc. Pour ce faire, des foies de porcelets nouveaux nés sont perfusés à la collagénase. Les hépatocytes sont ensuite récupérés puis mis en culture dans un milieu complet (avec facteurs de croissance). Une fois mis en culture, les hépatocytes sont mis en présence d'une suspension de VHE constituée de fèces de porcs infectées. La multiplication virale est ensuite suivie par une technique de RT PCR quantitative, basée sur l'amplification d'une partie de l'ORF3 du virus. La baisse suivie de l'élévation du titre en ARN viral des cellules infectées suggère fortement une réplication virale. D'ailleurs, la mise en évidence de la protéine ORF2 par immunoblot dans les hépatocytes infectés tend à confirmer l'élaboration de particules virales néoformées. Néanmoins, l'absence d'ARN viral dans le surnageant suggère que l'infection n'est pas productive.

Afin de s'assurer de la validité de ce modèle hépatique, la recherche par amplification de messagers tissus spécifiques des hépatocytes comme l'alphafoetoprotéine ou la transferrine a permis de démontrer que durant le temps de l'expérience les hépatocytes primaires expriment les marqueurs des hépatocytes et ne se dédifférencient pas. Les premiers résultats de cette étude sont donc relativement convaincants et ce modèle semble prometteur.

En conclusion, les modèles cellulaires *in vitro* du VHE sont encore peu nombreux bien que la recherche dans ce domaine avance. De ce fait, les modèles animaux demeurent à ce jour les modèles principaux d'étude de ce virus et ont notamment aidé à comprendre la clinique de cette infection.

II. L'HÉPATITE E – ENTITÉ CLINIQUE ET DIAGNOSTIC

1. Physiopathogénie

Le cycle intrahépatique présenté dans le chapitre précédent est aujourd’hui reconnu comme le cycle de réplication principal du VHE. Toutefois, l’hypothèse de sites de réplication extrahépatiques a été évoquée depuis une dizaine d’années. En 2001, Williams *et al.* ont mis en évidence quelques uns de ces sites chez le porc [238]. Lors de la phase virémique de l’infection, l’ARN viral est logiquement détecté dans de nombreux tissus autres que le foie. Pourtant certains de ces tissus demeurent positifs pour la présence du VHE après la période de virémie, suggérant une réplication extrahépatique. Afin de vérifier cette hypothèse, l’équipe de Williams a créé une sonde PCR spécifiquement dirigée contre l’ARN viral de polarité négative. Avec cet outil moléculaire, des brins d’ARN de polarité négative ont été identifiés dans les amygdales, les noeuds lymphatiques (principalement le nœud lymphatique mésentérique), l’intestin grêle et le colon. Des brins d’ARN de polarité négative ont également été détectés dans les reins, la rate et les glandes salivaires, mais de façon beaucoup plus fugace. Le tableau 2 présente la cinétique de détection des ARN de polarité négative dans les différents organes durant les 4 semaines de cette expérience. L’existence de ces sites secondaires de réplication a été récemment confirmée par les travaux de Lee *et al.* [126]. Par ailleurs, ces derniers ont également identifié la présence d’ARN viral au sein des cellules mononucléées qui se trouvent dans les tissus extrahépatiques. Dans leur étude, Lee *et al.* proposent ainsi que l’atteinte de ces organes se fasse via les monocytes circulants, hypothèse qui reste cependant à confirmer.

Tableau 2 : Détection des brins d'ARN de polarité négative dans les différents organes chez le porc suite à une inoculation IV de VHE d'origine porcine ou humaine, d'après Williams *et al.* [238].

Organes	Détection de brins d'ARN de polarité négative dans les différents organes en fonction des jours post-infection				
	3	7	14	20	27
<i>Inocula d'origine porcine</i>					
Foie	-	+	+	+	-
Nœuds lymphatiques	-	+	+	-	-
Côlon	NT	+	+	+	+
Intestin grêle	NT	+	+	-	
Rate	NT	-	-	+	NT
Reins	NT	NT	NT	NT	-
Amygdales	NT	NT	NT	NT	-
Glandes salivaires	NT	NT	NT	NT	-
<i>Inocula d'origine humaine</i>					
Foie	-	+	+	+	+
Nœuds lymphatiques	-	+	+	+	-
Côlon	+	+	-	-	-
Intestin grêle	+	+	NT	NT	NT
Rate	-	+	+	+	-
Reins	-	+	NT	NT	NT
Amygdales	+	NT	+	-	-
Glandes salivaires	NT	+	-	NT	NT

Avec

+ = ARNs de polarité négatives présents

- = ARNs de polarité négative absents

NT = non testé

2. Pouvoir pathogène du VHE : symptômes et lésions

a. Hépatite E chez l'Homme : une expression typique des virus hépatiques entérotransmissibles

a. Symptômes

L'hépatite E est une hépatite à transmission essentiellement fécale-orale survenant le plus souvent dans le cadre d'une contamination digestive. Elle peut se présenter sous plusieurs formes cliniques.

Les formes les plus fréquentes sont les formes asymptomatiques ou subcliniques. Les différentes études de séroprévalence menées à travers le monde montrent une prévalence conséquente dans les zones d'endémie, de 5 à 90% de la population générale [7, 128, 197, 259]. Dans les régions non endémiques, c'est-à-dire les pays industrialisés, ces études ont révélé que le taux de séroprévalence oscille généralement entre 0,4 et 6% de la population mais peut atteindre des valeurs bien plus importantes, jusqu'à 23%, comme nous le détaillerons dans le chapitre suivant [18, 31, 38, 223, 250]. Or toutes les personnes présentant une séropositivité pour les anticorps anti-VHE n'ont pas développé une hépatite E aiguë, ce qui témoigne d'un contact le plus souvent asymptomatique avec le virus.

Lorsque l'hépatite E est clinique, elle se rapproche de l'hépatite A par de nombreux aspects.

La durée de l'incubation de l'hépatite E se situe entre 3 et 8 semaines avec une moyenne de 40 jours ; soit une dizaine de jours en plus que pour l'hépatite A (moyenne 30 jours) [181, 183]. Cette approximation est basée sur les résultats de l'infection de 2 volontaires [183] ainsi que sur les nombreuses expérimentations sur des singes cynomolgus [182].

La phase prodromique de la maladie est parfois absente, parfois brève ou peut persister quelquefois jusqu'à 2 semaines. Le tableau clinique est ensuite semblable à celui de l'hépatite

A [65, 176, 183, 226]. Ce tableau associe le plus fréquemment une asthénie, un ictère cutanéomuqueux et une hépatomégalie. Nous détaillerons les variations des paramètres hépatiques quelques lignes plus bas. S'ajoutent divers signes cliniques digestifs tels que des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales et une anorexie. Certains patients présentent également une hyperthermie, généralement modérée. Enfin quelques études rapportent des symptômes plus atypiques comme une diarrhée, du prurit ou bien une arthralgie [226].

L'évolution de cette maladie est le plus souvent bénigne. Avec un soutien médical adapté, une hépatite E guérit généralement spontanément et sans séquelles, après 2 à 4 semaines d'évolution.

Occasionnellement toutefois (1 à 2% des cas), l'hépatite E initialement de forme aiguë se complique d'une forme fulminante [114]. Dans ce cas, le pronostic vital du patient est en jeu car il n'existe pas de traitement spécifique, la greffe hépatique étant souvent la seule solution. La gravité de l'hépatite E semble ainsi supérieure à celle de l'hépatite A avec un taux de mortalité respectif de 0,4-4% contre 0,1-2% [175].

Il semblerait par ailleurs qu'une incidence plus importante d'hépatites fulminantes au VHE soit rapportée chez la femme enceinte dans les zones d'endémie. Aussi, plusieurs études prospectives, menées notamment en Inde, abordent la relation entre hépatite E et grossesse [95, 103, 109, 118]. Le taux d'incidence des formes fulminantes est considérablement augmenté chez la femme enceinte au cours du troisième trimestre de grossesse, atteignant jusqu'à 20%. Dès lors, le taux de mortalité est lui aussi revu à la hausse avec une valeur supérieure à 20% également. Outre les cas de mortalité périnatale, il semblerait que le VHE induise des complications telles que des avortements, des accouchements prématurés ou encore des rétentions placentaires [118]. De surcroît, il s'avèrerait selon l'étude de Kar *et al.* en 2008 que la charge virale en VHE soit supérieure chez les femmes enceintes présentant une hépatite fulminante par rapport aux femmes non enceintes avec une forme fulminante [103]. Les chercheurs ont avancé plusieurs hypothèses. Ils ont ainsi suggéré l'influence du taux d'hormones stéroïdiennes, en particulier les œstrogènes et la progesterone, sur la réplication virale [95]. Autre hypothèse avancée, une diminution de la réponse immunitaire à médiation cellulaire Th1 avec augmentation de la réponse Th2 pourrait expliquer la gravité de l'infection chez la femme enceinte [174]; mais aucune étude n'a encore confirmé ces hypothèses. Il est

toutefois important de noter que ces données et ces chiffres sont issus de pays où l'infection par le VHE est considérée comme endémique, où les conditions sanitaires sont souvent insuffisantes et concernent des cas d'infection par le génotype 1 et non par les génotypes 3 ou 4 ; ces informations ne peuvent donc être appliquées à l'hépatite E autochtone. Au demeurant très peu de cas d'hépatite E fulminante autochtone ont été rapportés, et cela est d'autant plus rare chez la femme enceinte [158, 207]. Les seuls cas d'hépatite E fulminante chez la femme enceinte en zone non endémique que l'on retrouve dans la littérature se sont d'ailleurs produits suite à un séjour en zone d'endémie, dans leur cas l'Inde [90].

Quelque soit la forme clinique, aiguë ou fulminante, les scientifiques sont arrivés à un consensus sur l'évolution de la maladie : ils reconnaissent que l'hépatite E n'évolue jamais vers la chronicité. Quelques nuances peuvent tout de même être apportées à ce consensus.

Tout d'abord, certains patients présentent une forme cholestatique prolongée avec persistance d'un ictere. Ainsi, Mechnik *et al.* rapportent un cas d'ictère persistant jusqu'à 6 mois chez un homme de 70 ans [152].

En outre, chez les individus immunodéprimés, notamment les personnes greffées ou sous chimiothérapie dans le cadre d'un traitement anticancéreux, il est possible de retrouver un portage de longue durée. Concernant les personnes sous chimiothérapie anticancéreuse, on ne retrouve que deux cas dans la littérature. Le premier est décrit par Péron *et al.* en France en 2006 chez un patient atteint d'un lymphome à cellules T [180]. Dans ce cas, l'excrétion virale a persisté pendant 4 mois. L'année suivante, en 2007, au Japon, Tamura *et al.* ont rapporté un second cas, là aussi chez un patient souffrant d'un lymphome à cellules T et infecté par le VHE probablement lors d'une transfusion sanguine [217]. Chez ce patient, les signes d'infection par le VHE ont persisté jusqu'à 196 jours soit environ 6 mois. Chez les individus transplantés également, plusieurs articles relatent des cas d'hépatite E avec portage de longue durée suite à une greffe. Le premier cas a été détecté en Inde par l'équipe de Sinha *et al.* en 2003 [203]. En Europe, Kamar *et al.* en 2005 [101] puis en 2008 [102] en France ainsi que Haagsma *et al.* aux Pays-Bas en 2008 [75] ont rapporté des cas d'excrétion persistante du VHE chez des individus greffés du foie, des reins ou du pancréas. Par exemple, dans l'étude de Kamar *et al.* en 2008, chez les 14 cas considérés, l'ARN viral était détectable dans les selles en moyenne pendant 15 mois (de 10 à 24 mois) après l'épisode d'hépatite aiguë [102].

Enfin, il semblerait que le VHE soit un facteur aggravant lors d'hépatopathies intercurrentes. Plusieurs articles décrivent effectivement une exacerbation de l'atteinte hépatique préexistante lors d'une surinfection par le VHE, que l'atteinte primaire soit due à l'alcool ou à un autre virus à tropisme hépatique (tels que les virus de l'hépatite B et C) [119, 161]. Cette aggravation se caractérise le plus souvent par une élévation très marquée des paramètres hépatiques et parfois même par le développement d'une encéphalopathie hépatique ou par une atteinte rénale.

Avant de nous pencher sur les lésions observées au cours d'une hépatite E, soulignons une différence singulière entre les deux formes épidémiocliniques de cette maladie. En zone d'endémie, l'hépatite E affecte principalement les enfants qui ne sont plus en bas âge et les jeunes adultes, contrairement à l'hépatite E autochtone qui touche essentiellement les adultes de plus de 50 ans. Nous reviendrons par la suite sur cette notion mais il semblait important de la signaler à ce stade de la thèse.

β. Lésions histopathologiques

Intéressons nous maintenant aux lésions, qui sont d'autres histologiques, observées chez l'Homme lors d'une hépatite E. Il existe peu d'études histologiques dans la littérature. La plupart des parutions résultent en outre d'analyses réalisées lors de grandes épidémies d'hépatite E dans les pays en voie de développement et sont bien souvent des analyses post-mortem [74]. Une étude française menée dans les Centres Hospitaliers Universitaires de Purpan et Rangueil, à Toulouse, par Péron *et al.* rapporte néanmoins des données *in vivo* [179]. Cette étude éclaire les lésions histopathologiques observées chez 11 patients originaires du Sud-ouest de la France et atteints d'une hépatite E autochtone. Dans plus de 80% des cas (9/11), les patients présentent une hépatite aiguë classique caractérisée par une activité nécrotique et inflammatoire. Plus précisément, on recense des nécroses confluentes (45% des cas), de l'anisocaryose, des agrégats de cellules de Kuppfer avec sidérose (75% des cas). L'histologie hépatique lors d'une hépatite E est également marquée

par une cholangite aigue (81% des cas) avec altération des épithéliums, infiltration des conduits biliaires par des cellules inflammatoires. A cette cholangite s'ajoute fréquemment une cholestase biliaire et hépatique (72% des cas).

Les données actuellement disponibles chez l'Homme indiquent donc que l'hépatite E est une affection potentiellement grave. Face à l'importance de cette maladie dans les pays en voie de développement et à l'augmentation constante des cas autochtones en zone non endémique, il apparaît essentiel de sensibiliser le corps médical à cette infection.

b. Une symptomatologie différente chez l'animal

Avant la découverte du premier variant porcin du virus de l'hépatite E, appelé swine HEV, par Meng *et al.* en 1997 [156], aucune preuve de l'existence d'une hépatite virale chez le porc (*Sus scrofa domesticus*) n'avait été mise en lumière. De rares articles rapportaient la présence d'anticorps contre le VHE chez le porc et les primates, mais aucune manifestation clinique n'avait été observée.

Que l'infection soit naturelle comme ce fut les cas des porcelets utilisés pour l'étude de Meng *et al.* en 1997 [156], ou provoquée avec, par exemple, l'inoculation intraveineuse de VHE chez des porcs par l'équipe de Halbur *et al.* en 2001 [76], l'hépatite E se révèle être une infection asymptomatique chez les suidés. Dans chacun de ces articles, aucun animal n'a montré de signe clinique ni même d'élévation des enzymes hépatiques en dépit d'une virémie et d'une excrétion virale. En outre, les études menées en élevage porcin ne rapportent ni retard de croissance ni perte de rendement chez les animaux ayant été en contact avec le VHE [156].

Au niveau lésionnel également, l'hépatite E est frustre dans cette espèce. Les différentes analyses histologiques réalisées chez les porcs atteints montrent, dans la plupart des cas, une hépatite lymphoplasmocytaire multifocale et périportale avec quelques foyers de nécrose hépatocellulaire dont la gravité est notée de faible à modérée [76, 125, 156]. Les figures 8 et 9 illustrent ces lésions. Il semblerait toutefois que l'origine de la souche infectante de VHE ait une importance sur la manifestation de l'infection chez le porc. Dans l'étude de

Halbur *et al.*, des porcs SPF (pour specific-pathogen-free c'est-à-dire des animaux vierges de tout agent pathogène) ont reçu par inoculation intraveineuse une suspension de VHE soit d'origine porcine, soit d'origine humaine (souche humaine US-2, génotype 3) [76]. Bien que les lésions soient, comme nous venons de l'évoquer, modérées, il ressort tout de même de cette étude que les porcs ayant reçu l'inoculum d'origine humaine présentent des lésions globalement plus sévères et plus persistantes que les porcs infectés par le virus porcin. D'autre part, au plan cellulaire, le virus est retrouvé par hybridation *in situ* dans le foie dans les hépatocytes, les cellules de Kupffer, les cellules épithéliales biliaires et les lymphocytes interstitiels. En outre il est important de noter que les cellules présentant le virus sont des cellules viables, non dégénératives [125].

En bref, chez les suidés, l'hépatite E est une infection subclinique, expliquant sûrement que l'expansion mondiale du virus soit longuement restée inaperçue.

Figure 8 : Coupe histologique d'un foie de porc infecté par un variant humain du VHE d'après Halbur *et al.* [76]: *observation d'une hépatite lymphoplasmocytaire avec gonflement des hépatocytes et dégénération vacuolaire.*

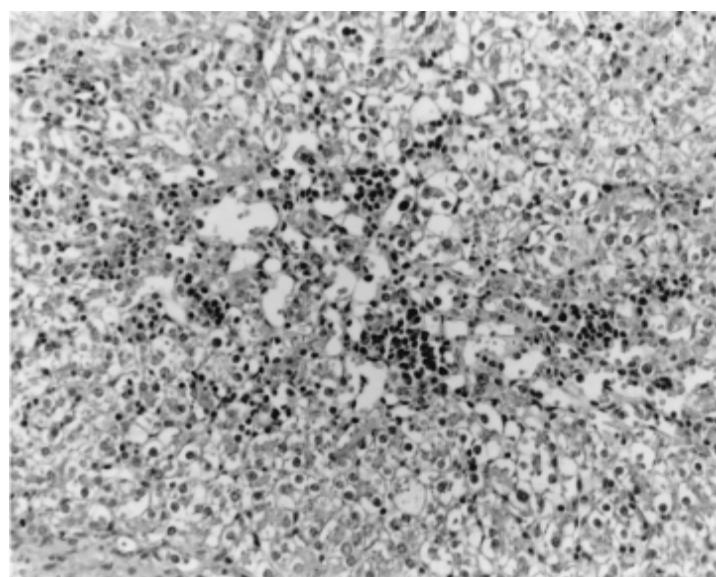
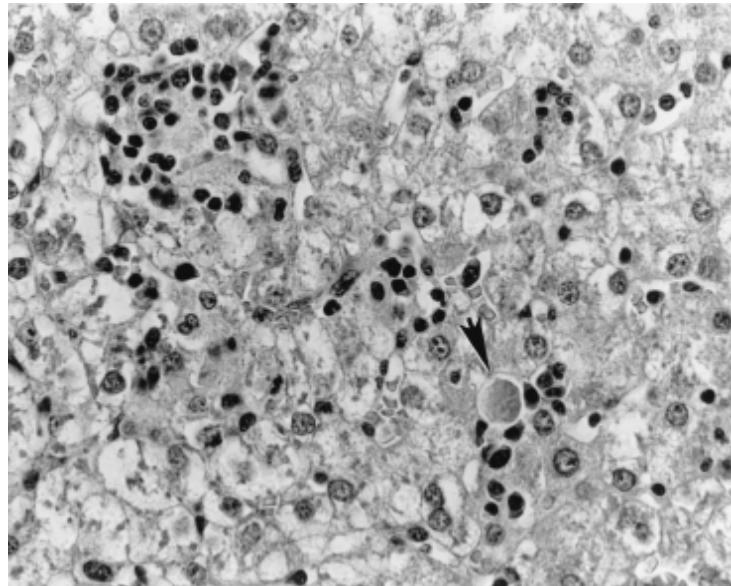


Figure 9 : Coupe histologique de foie du même porc que dans la figure 8 ; observé à plus fort grossissement, d'après Halbur *et al.* [76] : la flèche indique un hépatocyte en cours de nécrose.



Par ailleurs, dans l'optique d'étudier les effets du virus chez l'Homme, différentes recherches ont été réalisées chez les primates non humains. Les principales espèces utilisées sont les chimpanzés (*Pan troglodytes*) [150] et les singes crabiers ou macaques cynomolgus (*Macaca fascicularis*) [1].

Chez les chimpanzés, deux schémas infectieux ont été mis en évidence par les travaux de McCaustland *et al.* [150]. Cette étude a porté sur 11 chimpanzés (6 femelles et 5 mâles) ayant reçu par inoculation intraveineuse du VHE humain issu de 4 différentes épidémies (au Népal et en Ouzbékistan en 1981, au Pakistan en 1985 et au Mexique en 1986). Ainsi, chez 5 des 11 primates, l'équipe de McCaustland a relevé un épisode virémique et une excréption virale dans les selles sans élévation des enzymes hépatiques, c'est-à-dire sans signe clinique d'hépatite. Pour les 6 chimpanzés restants, le schéma a été différent ; ils ont tous présenté une augmentation des paramètres hépatiques, avec notamment un pic d'ALAT allant jusqu'à 250 UI/L, accompagnée d'une virémie et d'une excréption virale. L'infection par le VHE chez les chimpanzés semble alors refléter les schémas identifiés chez l'Homme, allant ainsi de l'infection asymptomatique à l'atteinte hépatique apparente.

En résumé, l'expression clinique de l'infection par le VHE est multiple chez l'animal. Chez le porc, l'hépatite E est une entité subclinique, faisant de cette espèce un réservoir très probable. Chez les chimpanzés au contraire, l'issue de l'infection est comparable à celle observée chez l'Homme. La proximité génétique entre Hommes et chimpanzés ou encore la proximité entre souches virales pourraient expliquer ce phénomène.

3. Évolution des marqueurs biologiques : analyses comparées Homme/Animal

a. Marqueurs des fonctions hépatiques

Lorsque l'on s'intéresse à la fonction hépatique, plusieurs marqueurs sont à prendre en compte, quelle que soit l'espèce. D'une part, on trouve les marqueurs de la cytolysé hépatique que sont les transaminases. Celles-ci sont de deux types : les ALAT pour ALanine- AminoTransférases et les ASAT pour ASpartate-AminoTransférases. D'autre part, on distingue les marqueurs de la fonction excréto-biliaire avec notamment les PAL pour Phosphatase ALcalines, les GGT pour Gamma-Glutamyl-Transférases et la bilirubine. Ces derniers paramètres sont d'ailleurs plus précisément des marqueurs d'une cholestase. Enfin, le foie étant également un organe de synthèse, il faut prendre en considération des paramètres biologiques tels que l'albumine, les facteurs de coagulation, le glucose ou encore l'urée.

Lors d'une hépatite E clinique, on relève plusieurs anomalies des tests de laboratoire. Ces anomalies consistent essentiellement en une bilirubinurie, une augmentation variable de la bilirubinémie (avec surtout une augmentation de la valeur de bilirubine sous forme conjuguée) et une élévation très marquée des valeurs sériques d'ALAT et ASAT (ainsi que des GGT et des PAL) [175].

Chez l'Homme, l'augmentation des ALAT précède généralement le début des symptômes d'environ 10 jours et atteint un pic vers la fin de la première semaine clinique. Le pic observé peut atteindre des valeurs très importantes, jusqu'à 4100 UI/L [248], mais se situe le plus souvent autour de 700-800 UI/L. Rappelons que chez l'Homme, les valeurs de référence pour ce paramètre sont de 8 à 30 UI/L (8-25 UI/L chez la femme, 8-35 UI/L chez l'homme) et que l'on parle d'augmentation des marqueurs des fonctions hépatiques lorsque les valeurs obtenues dépassent 10 fois les normes pour ces marqueurs. En outre, plusieurs études cliniques ont montré que ce pic est monphasique et coïncide avec l'apparition de l'ictère [115, 167, 226], comme c'est le cas pour la plupart des hépatites virales. Une fois le pic atteint, les taux des transaminases et de bilirubine sériques commencent à décroître pour retrouver une valeur normale dans les 2 mois chez la majorité des patients.

Chez l'animal, nous avons vu que l'expression clinique dépend de l'espèce. Ainsi l'hépatite E est asymptomatique chez les suidés et n'engendre pas de modifications biochimiques (ou seulement minimes) alors que les primates non humains peuvent présenter une clinique proche de la clinique humaine. Chez les chimpanzés par exemple, lorsqu'il y a élévation des enzymes hépatiques, la courbe est semblable à celle observée chez l'Homme. De la même façon, on retrouve un pic d'ALAT qui se situe aux environs de 20 à 40 jours post-infection [115, 150], puis la valeur des paramètres hépatiques diminue et atteint une valeur normale en quelques semaines. Les profils biologiques de l'Homme et du chimpanzé lors d'une infection par le VHE seront résumés dans une figure commune, la figure 12 (partie suivante).

Les études menées chez les primates non humains apportent de surcroît des informations sur la notion de dose infectante. Il semblerait effectivement que la dose de VHE inoculée influe sur la modification des paramètres hépatiques. L'étude d'Aggarwal *et al.* en 2001 met bien en évidence ce phénomène [1]. Dans cette étude, 12 macaques cynomolgus ont été séparés en trois groupes : le groupe 1 a reçu un inoculum contenant 10000-100000 doses infectantes de VHE de cynomolgus (CyID) ; le groupe 2, lui, a reçu un inoculum contenant 10-100 CyID de VHE et enfin l'inoculum du groupe 3 contenait 1-10 CyID de virus. Les résultats de cette infection provoquée, que l'on peut voir sur la figure 10, montrent que seuls

les singes ayant reçu l'inoculum le plus concentré (groupe 1) ont présenté une augmentation significative des ALAT et ce, en dépit d'une virémie et d'une excrétion virale que l'on retrouve chez les 12 primates. Ces résultats amènent donc à supposer que, chez les primates, la dose infectante a des conséquences sur la gravité de l'atteinte hépatique, malheureusement le corollaire chez l'Homme n'est pas disponible à ce jour.

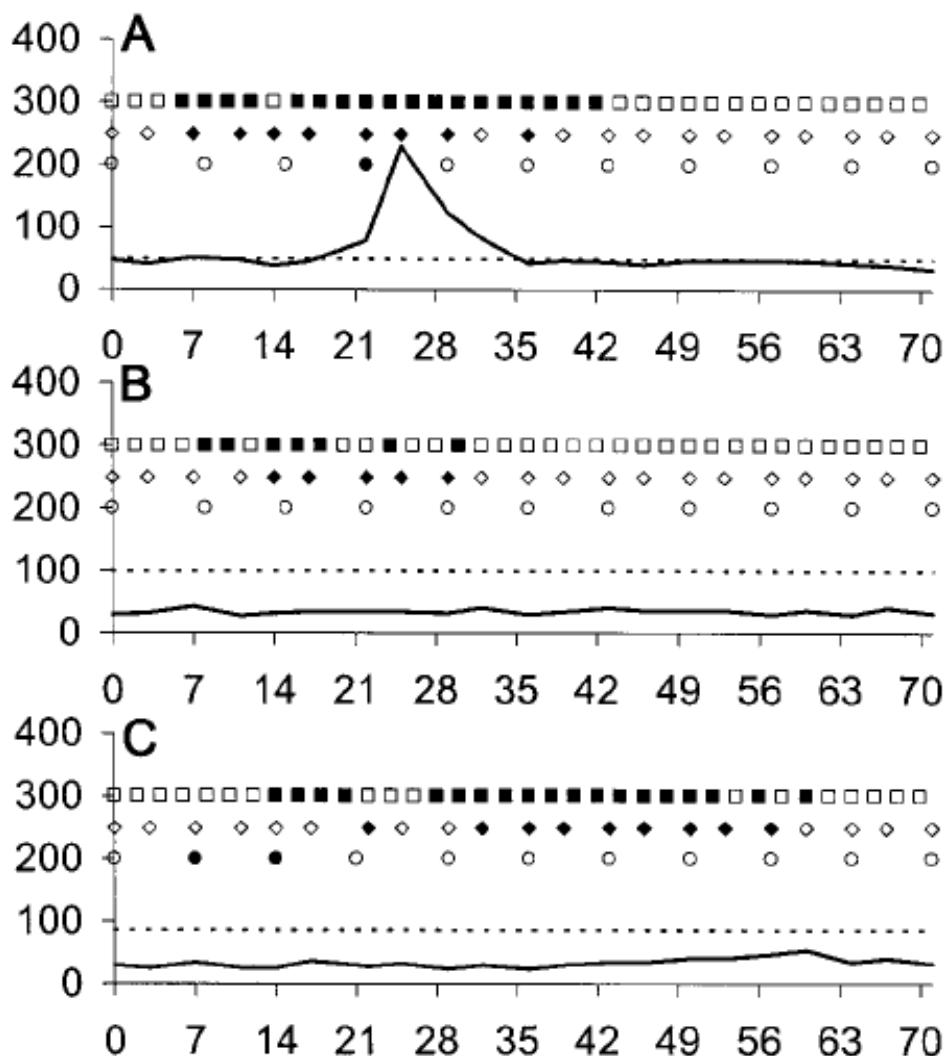
De même que la clinique de l'hépatite E est très similaire entre l'Homme et les primates non humains, les marqueurs des fonctions hépatiques suivent de manière générale une évolution semblable.

Figure 10 : Profil biologique de l'infection par le VHE chez le singe cynomolgue d'après Aggarwal *et al.* [1] suite à l'inoculation intraveineuse d'un inoculum contenant :

A : 10^4 - 10^5 doses infectantes de virus (CyID)

B : 10^1 - 10^2 CyID

C : 1-10 CyID



Avec

Abscisse : Jours après inoculation (inoculation = J0)

Ordonnée : Valeur sérique des ALAT (en UI/L)

Courbe noire : Profil sérique du taux d'ALAT en fonction de la dose inoculée

Rond noir : Présence d'antigène du VHE dans les biopsies de foie, détectés par immunofluorescence

Losange noir : Présence d'ARN du VHE dans le sérum

Carré noir : Présence d'ARN du VHE dans les selles

b. Chronologie et profil de la réponse immunitaire

Afin d'étudier la réponse immunitaire, il convient, dans un premier temps de définir les phases de la présence du pathogène dans l'organisme infecté.

Dans le cas du VHE, la voie de contamination la plus fréquente est la voie orale et donc digestive. *Les autres modes de transmission seront étudiés dans le prochain chapitre.* Le VHE passerait la barrière digestive et atteindrait dès lors le sang circulant. Chez l'Homme, la virémie est de courte durée. L'infection expérimentale d'un individu volontaire en 1993 [21] montre que l'ARN viral est détecté dans le sérum aux environs du 22^{ème} jour post-inoculation, persiste durant la phase pré-ictérique. Sa présence décroît ensuite pendant la phase ictérique pour disparaître lors du pic d'ALAT. En résumé, la virémie survient essentiellement durant la phase prodromique de l'infection et disparaît lors de l'apparition des symptômes mais ce schéma n'est pas systématique lors d'une infection naturelle par le VHE. Ainsi quelques études rapportent cependant une virémie prolongée pouvant durer de 4 à 16 semaines lors d'infections naturelles [2, 115]. Chez le porc, l'étude de Halbur *et al.* rapporte la présence d'ARN viral dans le sérum dès 7 jours post-inoculation intraveineuse et ce durant 20 à 30 jours en moyenne [76].

Le virus atteint ensuite rapidement le foie, site principal de sa réplication. Dès lors l'excrétion virale peut débuter. L'excrétion fécale du VHE commence, chez l'Homme, quelques jours avant l'apparition de l'ictère (en moyenne 5 jours avant). Elle régresse à l'apparition de l'ictère pour disparaître en quelques semaines, 2 à 3 en moyenne [2]. De même que pour la virémie, quelques articles mentionnent une excréition virale de longue durée pouvant aller jusqu'à plus de 100 jours [212]. Chez le porc, lors d'une infection expérimentale par voie parentérale, l'excrétion virale débute là aussi très rapidement après le début de la virémie [76]. De la même façon que chez l'Homme, alors que la virémie est transitoire, l'excrétion fécale peut être très longue. Les travaux de Lee *et al.* rapportent par exemple une excréition fécale jusqu'à 50 jours soit 7 semaines post-inoculation IV [125].

Dans un second temps, la réponse immunitaire de l'hôte permet de distinguer deux voies : la réponse humorale et la réponse cellulaire.

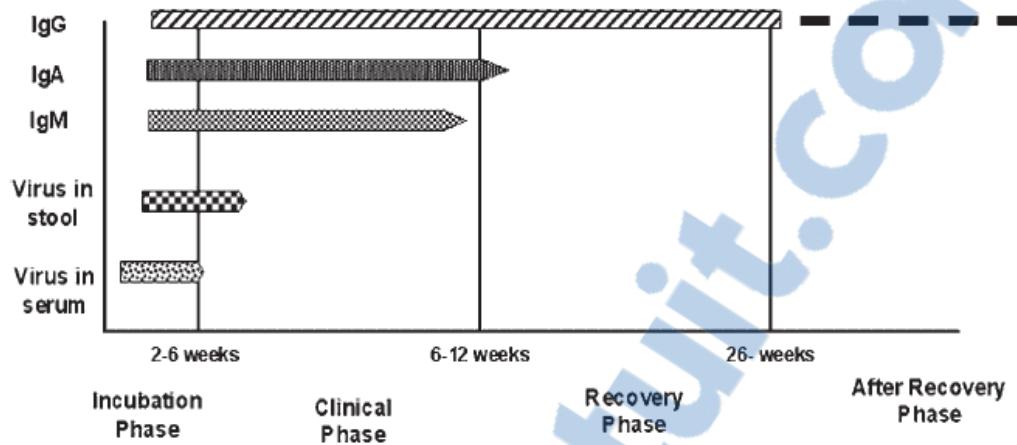
La réponse immunitaire humorale est de loin celle qui a fait l'objet du plus grand nombre de recherches dans le cadre de l'hépatite E. Les acteurs de cette réponse sont les anticorps anti-VHE et principalement les immunoglobulines (Ig) M et G. Les IgM apparaissent chez l'Homme, en moyenne, 2 à 3 semaines avant les premiers signes cliniques. Leur concentration sérique atteint un titre maximal au moment du pic d'ALAT, soit rappelons-le pendant l'ictère. Puis les IgM disparaissent progressivement dans un laps de temps allant de 2 semaines à 3 mois.

La réponse humorale fait par ailleurs appel aux IgG. La détection des IgG dans le sérum est rapprochée de celle des IgM, de l'ordre de plusieurs jours après l'apparition des IgM. Leur titre augmente en fin de phase clinique de l'hépatite E puis tend à diminuer légèrement pendant la convalescence. En l'état actuel des connaissances, nous ignorons toujours s'il se développe une immunité durable contre le VHE. Il n'est pas rare de retrouver dans la littérature des cas de patients positifs aux IgG plusieurs années post-infection. Malheureusement chez ces patients, il est souvent impossible de savoir si les IgG présentes sont le résultat d'un contact ancien avec le virus ou si l'individu a été de nouveau exposé au VHE de manière asymptomatique. De plus, la valeur du titre protecteur en IgG est encore inconnue. Nous ignorons donc si les IgG décroissent jusqu'à une valeur inférieure à ce titre protecteur ou si le taux d'IgG atteint un plateau d'une valeur supérieure au titre protecteur permettant ainsi la mise en place d'une immunité durable.

Il existe par ailleurs une autre classe d'immunoglobulines, les IgA, dont le profil immunitaire est très proche de celui des IgM, à savoir une apparition précoce et une persistance moyenne de 3 mois dans le sérum.

Afin de mettre tout ces éléments en parallèle, les figures 11 et 12 présentent respectivement la chronologie puis le profil cette réponse immunitaire chez l'Homme.

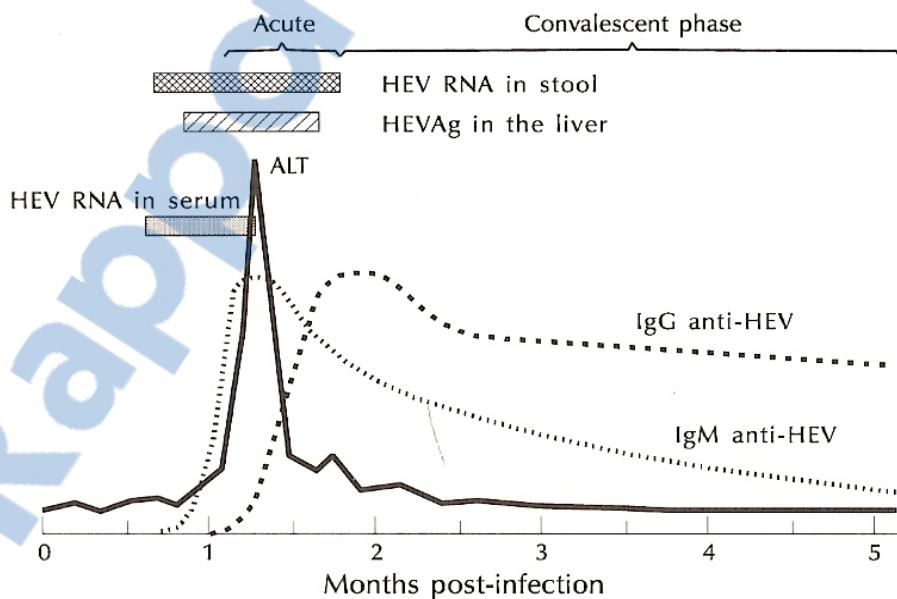
Figure 11 : Chronologie de la présence du VHE et de la réponse immunitaire chez l'hôte d'après Panda *et al.* [175].



Avec

Stool = selles ; incubation phase = période d'incubation ; clinical phase = phase clinique ; recovery phase = phase de convalescence ; after recovery phase = phase post-convalescence ; weeks = semaines

Figure 12 : Profil de la réponse immunitaire et présence du virus chez l'Homme d'après Krawczynski *et al.* [115].



Avec

en abscisse : Temps en mois

stool = fèces ; liver = foie ; acute = phase aiguë ; convalescent phase = période de convalescence

Les données cliniques et de laboratoire mettent en évidence un décalage entre le début de la réplication virale et l'apparition des perturbations biochimiques et cliniques, si elles ont lieu. De ce fait, cela sous-entend que ces perturbations ne sont pas la conséquence directe de la réplication virale. En d'autres termes, il semblerait que le virus de l'Hépatite E soit peu ou pas cytopathique. Cette hypothèse a d'ailleurs été évoquée dans plusieurs articles dont une étude de Lee *et al.* en 2008 dans laquelle le VHE était retrouvé par hybridation *in situ* dans les hépatocytes non dégénératifs [126]. Différents auteurs proposent ainsi le rôle d'une possible réponse immunitaire cellulaire spécifique à l'origine des modifications histologiques et fonctionnelles observées lors d'une hépatite E. Ce type de réponse immunitaire a été étudié par l'équipe de Srivastava *et al.* en Inde [205] chez 31 patients atteints d'une hépatite E aiguë. Dans cette étude, les chercheurs n'ont pas réussi à détecter une activation des lymphocytes T CD4+ et CD8+ dans le sang périphérique de ces patients. Ils ont par contre constaté une augmentation notable de la production d'interférons gamma (IFN γ) en dépit de l'absence des CD8+ spécifiques ; cette production semblerait donc plutôt le fruit de mécanismes non spécifiques impliquant des acteurs cellulaires tels que les cellules NK (Natural Killer). Néanmoins, cette étude souffre d'un biais méthodologique car les CD8+ spécifiques du VHE n'ont été recherchés que dans le sang périphérique et non dans le foie. On ne peut donc exclure une séquestration de ces CD8+ dans foie, ce qui expliquerait leur absence dans le sang périphérique. Au final, le VHE ne paraît pas être un pathogène cytopathique et les lésions rencontrées lors d'une hépatite E pourraient être la conséquence d'une réaction immunitaire cellulaire non spécifique. Cependant ces phénomènes restent encore largement mal connus.

En substance, les informations que nous apportent la clinique, les analyses biochimiques et les profils immunitaires sont essentielles pour établir les méthodes diagnostiques de l'hépatite E.

4. Modalités de diagnostic et de dépistage

La distinction entre diagnostic et dépistage est primordiale pour l'hépatite E. Le diagnostic est l'identification de l'étiologie d'une maladie. Cette notion va de ce fait s'appliquer chez les patients humains présentant une hépatite aiguë. Le dépistage, quant à lui, consiste à rechercher une infection chez un individu apparemment sain, ce qui est le cas du porc. Afin de bien comprendre cela, nous allons tout d'abord passer en revue les outils à disposition des cliniciens et vétérinaires. Puis nous verrons quels outils peuvent être utilisables dans le cadre du dépistage et du diagnostic.

a. Examens d'orientation

Nous conviendrons que ces examens ne s'appliquent qu'à l'Homme car l'hépatite E chez le porc est asymptomatique.

Face à un patient présentant un ictère, une hépatomégalie ainsi que des signes digestifs tels que nausées, douleurs abdominales ou vomissements, la démarche clinique consiste dans un premier temps à confirmer l'hypothèse d'une atteinte hépatique par des analyses biochimiques, auxquelles peuvent s'ajouter des examens d'imagerie. La présence d'une hépatite aiguë va être confirmée par l'augmentation des enzymes hépatiques telles que les ALAT, les ASAT ou encore la bilirubine.

Une fois le diagnostic d'hépatite posé, il convient d'en déterminer l'étiologie. Pour cela, le clinicien dispose d'une batterie de tests « de routine ». Elle comprend la recherche des marqueurs sériques du Virus de l'Hépatite A, du Virus de l'Hépatite B, du virus de l'Hépatite C, du Cytomégalovirus, de l'Herpes Virus Simplex et du Virus Epstein Barr (agent de la mononucléose infectieuse) ainsi que la recherche de composés chimiques responsables d'hépatites d'origine médicamenteuse (tels que la majorité des anti-inflammatoires non

stéroïdiens ou des antifongiques comme le kéroconazole). Si le patient est négatif pour chacun de ces paramètres, le diagnostic est alors orienté vers d'autres pathogènes, dont le VHE.

b. Mise en évidence des marqueurs sérologiques de l'hépatite E

Pendant de nombreuses années, la principale modalité diagnostique en matière d'hépatite E a résidé dans la mise en évidence d'une séroconversion.

Rappelons brièvement les informations apportées par les marqueurs sérologiques.

► **Immunoglobulines M (IgM)**

Sécrétées précocement, aux alentours de 2 semaines après l'infection, et disparaissant en 3 mois, les IgM sont le reflet d'un contact contemporain avec le virus.

► **Immunoglobulines A (IgA)**

Le profil du titrage en IgA est très proche de celui des IgM. Les informations que les IgA apportent sont alors similaires.

► **Immunoglobuline G (IgG)**

Les IgG témoignent d'un contact avec l'agent pathogène mais leur persistance pouvant être de plusieurs années dans le sang, les indications qu'elles fournissent sont relatives. Si le titre en IgG est haut, ou augmente entre 2 prises de sang, il est raisonnable de penser que le contact avec le VHE est en cours ou bien qu'il est très récent.

A l'heure actuelle, plusieurs trousseuses sérologiques existent. Elles font appel à des techniques immunoenzymatiques ou immunochromatographiques afin de rechercher les IgM, les IgG et plus rarement les IgA anti-VHE. Ces tests diffèrent par les séquences d'acides aminés des antigènes dérivés de l'ORF2 et/ou l'ORF3 ainsi que par leur mode de production : protéines recombinantes, peptides de synthèse...

Depuis quelques années, les principaux tests utilisés commercialement étaient des tests ELISA IgG et IgM basés sur les épitopes 3.2 (codé par l'ORF2 en position 619-660aa) et 4.2 (codé par l'ORF3 en position 91-123aa) dérivés des souches prototypes Burma (génotype 1) et Mexico (génotype 2) [169, 175]. Mais ils manquent de spécificité et de sensibilité.

Pour pallier ce manque, deux nouvelles trousse IgM ont été mises sur le marché il y peu : un test ELISA et un test immunochromatographique rapide (environ 15 minutes). Elles utilisent un épitope conformationnel hautement conservé dérivant de la région carboxy-terminale de l'ORF2. Cette région comprend les acides aminés entre les positions 390 et 660. Les études ont donné, pour ces tests, une sensibilité excellente de l'ordre de 96-97% ainsi qu'une très bonne spécificité (98%). En outre, un test d'avidité a été développé afin de tenter de situer dans le temps le contact avec le virus lorsqu'un individu est positif pour les IgG anti-VHE. Le principe de ce test réside dans l'élimination, chez le patient infecté, au cours du temps des IgG les moins affines pour le virus ; les IgG affines, sorte d'« IgG mémoires » persistant, elles, plus longtemps dans l'organisme. Ainsi avec ce test, plus l'index d'affinité est fort, plus le pourcentage d'IgG « mémoires » est important donc plus le contact avec le VHE est ancien [169].

Quelques articles font par ailleurs référence à l'utilisation des IgA anti-VHE [43, 79, 211]. Il ressort de ces études quelques informations originales. La première réside dans le fait que le couplage IgA/IgM dans la démarche diagnostique apporterait un léger gain de spécificité. La seconde suggère une corrélation positive entre IgA anti-VHE et virémie chez le porc. Selon les résultats de Takahashi *et al.* [211], il semblerait que, dans cette espèce, les IgA soient rencontrées de manière significativement plus fréquente chez les animaux virémiques (55% des individus virémiques positifs aux IgA) que chez les non virémiques (10% d'individus positifs) alors que pour les IgM, il n'existe pas de réelle différence (7% d'animaux virémiques positifs aux IgM contre 3% de non virémiques positifs).

Tous ces tests, bien que différents par leurs modalités et leurs performances, présentent un point commun, qui incarne d'ailleurs la critique majeure qu'on puisse leur faire. Ainsi, l'ensemble des trousse sérologiques, IgM et IgG, commercialement disponibles ont été élaborées à partir de souches virales de génotypes 1 et 2. Les génotypes 1 et 2 sont principalement rencontrés en zones d'endémie. En région non endémique, l'essentiel des cas d'hépatite E résulte d'une infection par le VHE de génotypes 3 ou 4.

Bien qu'un seul sérotype ait été décrit et que plusieurs études aient montré l'existence d'une protection croisée des anticorps anti-VHE entre les différents génotypes [89, 258], l'utilisation d'outils développés à partir de deux des 4 génotypes existants n'est sûrement pas

optimale face à la grande variabilité génétique du virus. En 2002, Engle *et al.* ont utilisé des capsides recombinantes issues de séquence de génotype 1 (SAR-55) et de génotype 3 (Swine US) afin de comparer la séroprévalence du VHE au sein de plusieurs cohortes de patients et de porcs originaires de différents pays (Canada, Etats-Unis, Thaïlande, Corée et Chine) [51]. Le but de cette étude était de valider l'utilisation d'un sérototype unique. Les résultats de cette étude ont montré que, globalement, les taux de séroprévalence obtenus pour chaque cohorte avec l'un ou l'autre des antigènes étaient similaires. Néanmoins, certains échantillons n'étaient positifs que pour l'une des deux protéines. Il est donc raisonnable de penser que les kits disponibles à l'heure actuelle ne permettent pas de détecter certains épitopes majeurs en zone non endémique. Ce constat pourrait d'ailleurs potentiellement expliquer l'existence de cas d'hépatite E aiguë autochtone confirmés par isolement d'ARN viral dans le sérum ou les selles mais sans séroconversion apparente [142].

Dans l'optique de développer un outil diagnostic fiable pour la détection des cas autochtones, une équipe française de l'UMR 1161 de Virologie INRA-AFSSA-ENVA, a générée des protéines recombinantes de génotype 3 humain (souche française) et porcin (souche Etats-Unis) qui serviront à des études comparatives de séroprévalence à venir [176].

c. Recherche du virus

L'identification de l'agent pathogène par des techniques de biologie moléculaire est aujourd'hui la méthode de référence utilisée pour le diagnostic de nombreuses infections virales dont l'hépatite E. Les techniques de biologie moléculaire en question sont les techniques de PCR ou de RT-PCR en temps réel. Les amorces auxquelles font appel ces techniques ont été développées afin d'amplifier différentes régions du génome mais c'est majoritairement l'ORF2, codant pour la capsid, qui est utilisée. Outre la mise en évidence de l'ARN viral donc d'une infection en cours, la PCR permet également le séquençage et donc le génotypage des souches. Les techniques de biologie moléculaire ont également été utilisées au cours des nombreuses études menées chez les suidés [63, 85, 162, 218]. Ainsi le meilleur

marqueur d'une infection en cours par le VHE est l'identification de son ARN dans les prélèvements, quelle que soit leur nature : sang, bile ou fèces.

d. En résumé : application chez l'Homme et chez l'animal

a. Chez l'Homme

L'approche est plus complexe chez l'Homme que chez l'animal ; elle ne prend pas uniquement en compte des facteurs cliniques. Des enjeux économiques entrent également en jeu dans le diagnostic de l'hépatite E.

Dans les zones d'endémie, le diagnostic est essentiellement sérologique. Ces zones correspondent, pour l'essentiel, à des pays en voie de développement, et bien que cela soit regrettable, force est de constater que les tests sérologiques sont beaucoup moins onéreux que les techniques de biologie moléculaire et donc beaucoup plus abordables dans ces régions.

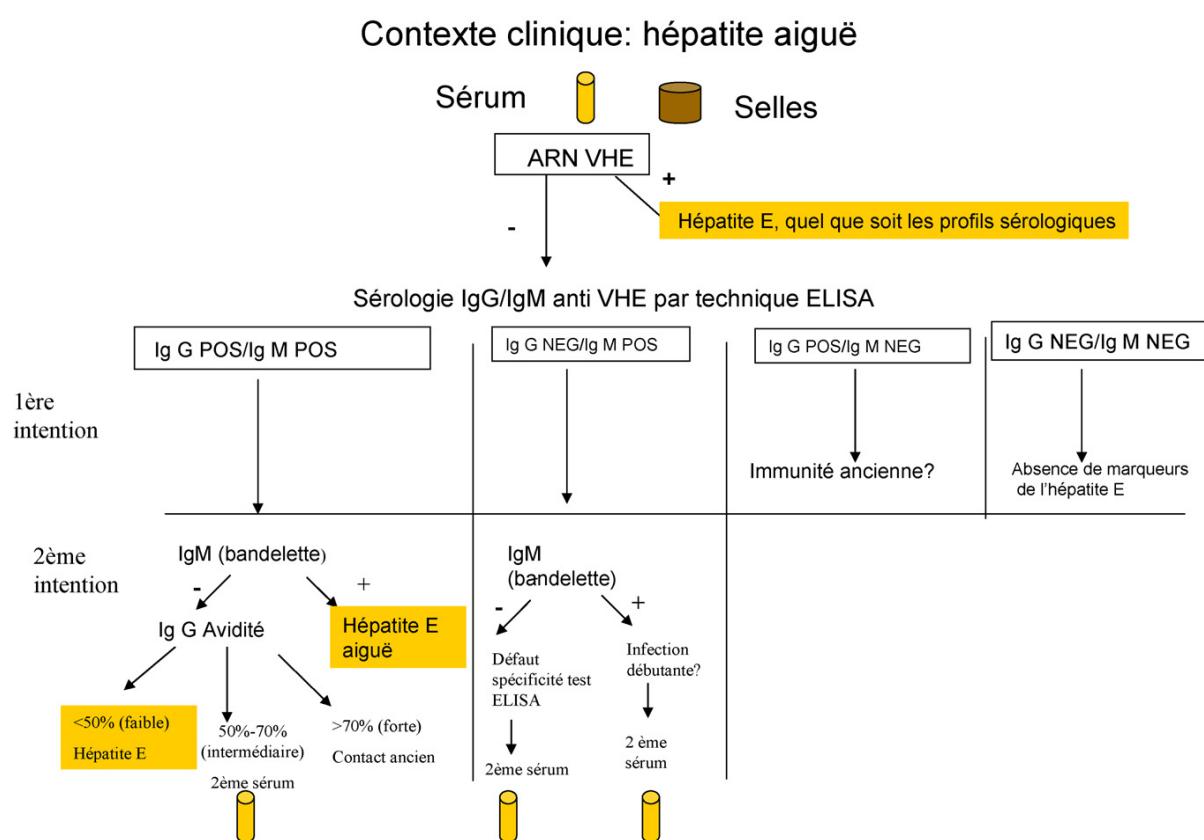
Dans les pays industrialisés, le diagnostic est souvent multimodal. Basons-nous pour illustrer cela sur la stratégie diagnostique adoptée en France par le Centre National de Référence des hépatites entérotransmissibles (CNR) et présentée par l'algorithme décisionnel en figure 13.

Les examens d'orientation vont permettre de poser le diagnostic d'hépatite aiguë et ainsi soumettre l'hypothèse d'une hépatite E. L'étape suivante est la recherche du virus dans le sérum ou les selles du patient. Dans notre pays, à l'heure actuelle, le devenir de prélèvements destinés à la recherche du VHE n'est pas réglementé. Dans l'idéal, les prélèvements sont adressés au CNR accompagnés d'une fiche de demande d'analyse spécifique comprenant la date du prélèvement, quelques données épidémiologiques et cliniques. A ce stade, si la PCR met en évidence le génome viral dans le sang ou les fèces, le diagnostic d'hépatite E est affirmé. Dans le cas contraire, c'est-à-dire une PCR négative, les tests sérologiques IgG/IgM anti-VHE sont mis en œuvre. Si les premiers tests montrent la présence d'IgM, et quel que soit le statut des IgG, de nouvelles analyses sérologiques telles

que le test d'avidité évoqué précédemment sont réalisées de manière à aboutir à un diagnostic de certitude.

Enfin pour les cas d'hépatite E autochtone confirmés, le CNR a mis en place un questionnaire épidémiologique détaillé. Ce questionnaire ainsi que le formulaire de demande d'analyse biologique sont consultables en annexes 2 et 3.

Figure 13 : Stratégie diagnostique employée en France dans un contexte clinique d'hépatite aiguë et de suspicion d'une hépatite E d'après Nicand *et al.* [169].



En France, l'hépatite E n'est pas une maladie à déclaration obligatoire comme elle peut l'être dans d'autres pays tels que l'Allemagne. Mais face à l'augmentation des cas, leur origine souvent inconnue, leur gravité potentielle et dans le cadre de la surveillance nationale de l'hépatite E, un groupe de travail constitué de nombreux spécialistes de tout le pays et coordonné par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) s'est constitué afin de demander le classement de cette infection parmi les maladies à déclaration obligatoire. Ces maladies sont à l'heure d'aujourd'hui au nombre de 30 en France ; la liste comprend notamment l'hépatite A aiguë et l'infection symptomatique aiguë par le virus de l'hépatite B (liste complète disponible sur <http://www.invs.sante.fr/surveillance/mando/dispositif.htm>). Les démarches pour demander l'entrée de l'hépatite E dans cette liste sont actuellement en cours.

β. Chez l'animal

En raison du caractère asymptomatique du VHE chez le porc, cette espèce est soumise à un dépistage plutôt qu'à un diagnostic. Dans cette optique, la recherche de marqueurs de l'infection par le VHE est essentielle pour établir une cartographie de l'endémicité chez l'animal. La recherche des IgM est quelquefois utilisée mais l'outil principal du dépistage réside dans l'amplification et la mise en évidence de l'ARN viral par les techniques de PCR conventionnelle ou en temps réel. Dans tous les cas, il n'existe pas de test spécifique aux suidés dans le commerce, les outils utilisés ayant tous été développés à partir de génotypes humains.

III. ÉPIDEMIOLOGIE DE L'HÉPATITE E

1. Approche descriptive

a. Quels espèces atteintes ?

L'hépatite E est une maladie humaine. L'Homme constitue donc naturellement la première et principale espèce cible à considérer. L'ensemble des génotypes décrits pour le VHE atteignent l'Homme mais les génotypes 1 et 2 n'ont été identifiés, à ce jour, que dans des prélèvements humains [136] (*à l'exception de 2 cas que nous allons évoquer dans quelques lignes*). En zone d'endémie, la circulation du virus se fait majoritairement par voie fécale-orale via la consommation d'eaux et/ou d'aliments souillés [3]. Toutefois dans ces régions, tous les individus ayant absorbé du virus ne développent pas une hépatite E clinique [170]. Le même constat est fait en région non endémique où, comme nous le détaillerons ci-après, la prévalence de l'infection par le VHE n'est pas nulle mais les cas peu nombreux [31, 38, 223]. L'Homme s'infecte, réplique et excrète le virus sans toutefois être systématiquement malade. Il participe de cette façon à la circulation du virus, principalement dans les pays à faible niveau d'hygiène.

L'atteinte animale du VHE est multiple donc plus complexe. Dans un premier temps, penchons-nous sur les réservoirs animaux prouvés.

Le principal réservoir animal du VHE est incarné par le porc et plus généralement les suidés. L'infection chez le porc domestique ou porc d'élevage (*Sus scrofa domesticus*) n'est pas clinique mais il réplique et excrète largement le virus. De très nombreux articles relatent l'isolement d'ARN viral chez cette espèce et cela sur tous les continents [63, 85, 96, 124, 133, 135, 171, 189, 198, 218, 246, 249, 257]. D'autres suidés sont des cibles du VHE. Ainsi, plusieurs études ont permis l'isolement du virus chez le sanglier. Dans cette espèce, le VHE est retrouvé en Europe et au Japon respectivement chez les sous-espèces *Sus scrofa scrofa* [34, 100, 143] et *Sus scrofa leucomystax* [204, 209]. Plus anecdotiquement, l'étude de Tanaka *et al.* en 2004 révèle la présence du virus chez les porcs domestiques miniatures d'origine asiatique et américaine utilisés pour les expériences médicales [218]. Dans tous les cas observés chez les suidés, il s'agit de VHE soit de génotype 3, soit de génotype 4.

Le VHE a également été mis en évidence chez d'autres espèces animales. De cette façon, au Japon, le cerf sika (*Cervus nippon nippon*) apparaît comme un réservoir pour ce virus. Dans l'étude de Sonoda *et al.* [204], le génotype isolé chez les cerfs sika était du génotype 3. Toujours au Japon, sur l'île d'Okinawa, un article paru en 2006 rapporte l'isolement d'un ARN de VHE de génotype 3 chez un autre mammifère, la mangouste [165]. La mangouste est un carnivore de la famille des *Herpestinae* dont les combats avec un serpent venimeux local, le habu, constituent une attraction touristique interdite mais très prisée sur l'île.

La figure 14 sur la page ci-contre illustre ces réservoirs animaux potentiels.

Figure 14 : Photos des réservoirs animaux potentiels du VHE



Cerf sika
(*Cervus nippon nippon*)

Sanglier (Sus scrofa scrofa)

Porc domestique
(*Sus scrofa domesticus*)

Mangoustes

Maintes autres espèces sont évoquées dans la littérature. Ainsi, la présence du VHE a été recherchée massivement chez les rongeurs sauvages du genre *Rattus* ainsi que chez les souris d'expérimentation (*Mus musculus*) aux Etats-Unis, au Japon et en Inde [5, 56, 82, 97]. En dépit d'une séroprévalence parfois importante (90% chez les rats *Rattus norvegicus* à Hawaï), de l'ARN viral n'a jamais été isolé. Nos animaux de compagnie, chiens mais surtout chats, ont également fait l'objet d'études épidémiologiques au Japon et en Chine [122, 160, 173, 255]. Prenons comme exemple l'étude d'Okamoto *et al.* au Japon en 2004 [172] qui rapportait un taux de prévalence moyen de chats séropositifs pour les anticorps anti-VHE de 33% ou celle de Zhang *et al.* [255] dans l'est de la Chine selon laquelle 17,8% des chiens

possèdent des IgM anti-VHE. Enfin, d'autres espèces domestiques tels que les caprins, les ovins, les bovins (vaches et buffles), les chevaux, les oiseaux d'élevage (pigeons, poulets, canards) ont été la cible d'études concernant le VHE [202, 255]. Chez toutes ces espèces, des anticorps anti-VHE, IgG ou IgM, auraient été retrouvés avec des taux de prévalence non négligeables tels que 24% de chèvres séropositives ou encore 16,3% de chevaux séropositifs dans les régions orientales de la Chine d'après Zhang *et al.* [255]. Toutefois, tout comme chez les rongeurs et les carnivores domestiques, de l'ARN viral n'a jamais été identifié.

Cette absence d'ARN viral exclut ces espèces des réservoirs animaux pour le VHE. En outre, il est raisonnable de s'interroger sur la véracité scientifique et la signification des taux de séroprévalence observés. De cette façon, on peut supposer que ces espèces soient des hôtes accidentels pour le VHE. L'infection serait en quelque sorte abortive et n'aboutirait pas à la réplication et à l'excrétion du virus ; ou si jamais réplication et excrétion ont lieu, elles seraient trop brèves et faibles pour permettre l'identification de l'ARN viral. La seconde hypothèse pour expliquer cette séroprévalence sans isolement viral est plus technique : les anticorps détectés chez toutes ces espèces seraient des immunoglobulines anti-HEV-like, c'est-à-dire présentant des épitopes communs aux anticorps anti-VHE, et non des immunoglobulines spécifiquement dirigées contre le VHE et issues de la réponse immunitaire.

En résumé, les espèces atteintes par le VHE sont, à ce jour :

- Pour les génotypes 1 et 2 : l'Homme uniquement
- Pour le génotype 3 : l'Homme, les suidés, les cervidés, la mangouste du Japon.
- Pour le génotype 4 : l'Homme et les suidés
- *Pour le génotype 5 : les oiseaux uniquement.*

Pour finir, nous évoquerons rapidement deux études qui relatent la présence de VHE de génotype 1 chez l'animal. La première est une étude franco-cambodgienne de 2006 selon laquelle une souche porcine de génotype 1 aurait été identifiée au Cambodge [19]. Elle partagerait une identité de plus de 94% avec la souche prototype Burma du génotype 1 contre

seulement 77% d'identité avec les souches de génotype 3 utilisées dans l'étude. La seconde étude, menée en Egypte en 2007, rapporte l'isolement d'une souche de VHE de génotype 1 chez des chevaux de travail de la région du Caire [190]. L'identité entre la souche équine et les deux souches humaines égyptiennes de l'étude serait de 97 à 100%.

Dans ces deux cas, les résultats sont à considérer avec beaucoup de recul. Au vu du caractère unique de ces études et de l'homologie tellement forte observée dans le cas égyptiens notamment, il est légitime d'envisager qu'une contamination de laboratoire des échantillons ait pu avoir lieu. Nous conviendrons alors d'attendre la confirmation des résultats.

b. Distribution du VHE

La localisation géographique du virus de l'hépatite E varie essentiellement selon le génotype pris en compte. Les figures 15 et 16, que vous trouverez en fin de cette partie, illustrent la répartition mondiale des différents génotypes, respectivement chez l'Homme et chez le porc.

Les génotypes 1 et 2 affectent uniquement l'Homme. Ils sont aujourd'hui la principale cause d'hépatites aiguës évoluant sur un mode endémoépidémique dans les régions tropicales et subtropicales où l'hygiène la plus élémentaire, c'est-à-dire l'accès à l'eau potable et aux latrines, fait encore défaut. Bien que de modalités épidémiologiques semblables, génotypes 1 et 2 se distinguent par leur répartition géographique.

Le génotype 1, dont la souche prototype est la souche Burma isolée au Myanmar (autre nom de la Birmanie) se retrouve sur les continents asiatique et africain. En Asie, le génotype 1 a été isolé en Birmanie dans un premier temps puis en Inde [6, 235], au Népal [70], au Pakistan [228, 233], en Chine [257], au Bangladesh [199], en Ouzbékistan [20] et au Kirghizstan [20]. En Afrique, on retrouve le VHE de génotype 1 en Afrique du Nord en Egypte [39, 190, 227] et dans quelques pays du Maghreb comme l'Algérie [72, 233] et le

Maroc [20, 231]. Sa présence a été également décelée dans divers pays d'Afrique sub-saharienne : République Centrafricaine [53], Namibie [138], Tchad [168, 231] et Soudan dans la province du Darfour [168].

Le génotype 2 du VHE présente, lui, une répartition beaucoup plus restreinte. Sa souche prototype étant la souche Mexico, le génotype 2 est retrouvé au Mexique [28, 84] mais aussi dans quelques pays d'Afrique tels que le Nigeria [17], la Namibie [138], la République Centrafricaine [53] et le Tchad [168].

La situation du génotype 3 est plus singulière. D'un côté sa répartition géographique est différente. De l'autre le génotype 3 a été identifié à de nombreuses reprises chez l'animal. Le VHE de génotype 3 a été pour la première fois isolé chez un porc aux Etats-Unis [156] puis rapidement chez deux patients humains présentant une hépatite aiguë, toujours dans le même pays [194]. Par la suite, le génotype 3 a été identifié dans de nombreux pays et sur différents continents. En Amérique, on trouve du virus de génotype 3 au nord aux Etats-Unis [52, 85, 99, 194] et au Canada [124, 178, 236, 249] et au sud en Argentine [162, 195], au Brésil [133], au Chili [91] et au Mexique [28]. En Europe, il a été isolé en France [24, 25, 26, 140, 142], en Grande-Bretagne [9, 32, 33, 92, 127, 151], en Espagne [34, 198], en Italie [143], en Allemagne [100, 237], en Autriche [240], aux Pays-Bas [13, 15, 80, 189] et en Suède [242]. En Asie, des souches de VHE de génotype 3 a été détecté en Thaïlande [28], en Corée [96], au Cambodge [28], à Taiwan [241] et au Japon sur les différentes îles [62, 93, 117, 129, 144, 164, 165, 166, 191, 216, 222, 248]. Enfin, le génotype 3 a de la même manière été identifié en Russie [176], au Kurdistan [176], en Mongolie [135], en Australie [30] et en Nouvelle-Zélande [63]. Face à cette répartition mondiale, des scientifiques se sont interrogés sur la circulation du virus entre les continents. Une étude phylogénétique récente de Tanaka *et al.* [220] chez le porc a ainsi suggéré que certaines souches rencontrées au Japon dériveraient de souches importées de Grande-Bretagne au début du siècle dernier via le commerce de porcs domestiques. Il en est probablement de même pour les autres souches de ce génotype.

Intéressons nous pour finir au génotype 4. A l'instar du génotype 3, l'Homme et l'animal (les suidés) sont permisifs au génotype 4. Néanmoins sa répartition est beaucoup plus limitée. Il a été isolé essentiellement en Asie du sud est : au Japon [146, 147, 172, 208,

245, 248], dans la plupart des provinces chinoises [132, 133, 246, 257], à Taiwan [83], au Vietnam [81, 111], en Inde [4] et en Indonésie [37]. Plus anecdotiquement, une souche de génotype 4 a été récemment identifiée en Europe, en Allemagne [237], ce qui laisse présager une distribution plus large de ce génotype.

En conclusion, le virus de l'Hépatite E est un virus ubiquitaire : en regroupant les quatre génotypes existant, l'ensemble des continents sont touchés par ce virus. En analysant en parallèle les figures 15 et 16, on remarquera que plusieurs zones se chevauchent ; dans certaines régions du globe, le risque infectieux pour l'Homme est donc multiple.

Figure 15 : Distribution géographique des différents génotypes de VHE rencontrés chez l'Homme en 2008 d'après Purcell *et al.* [183]

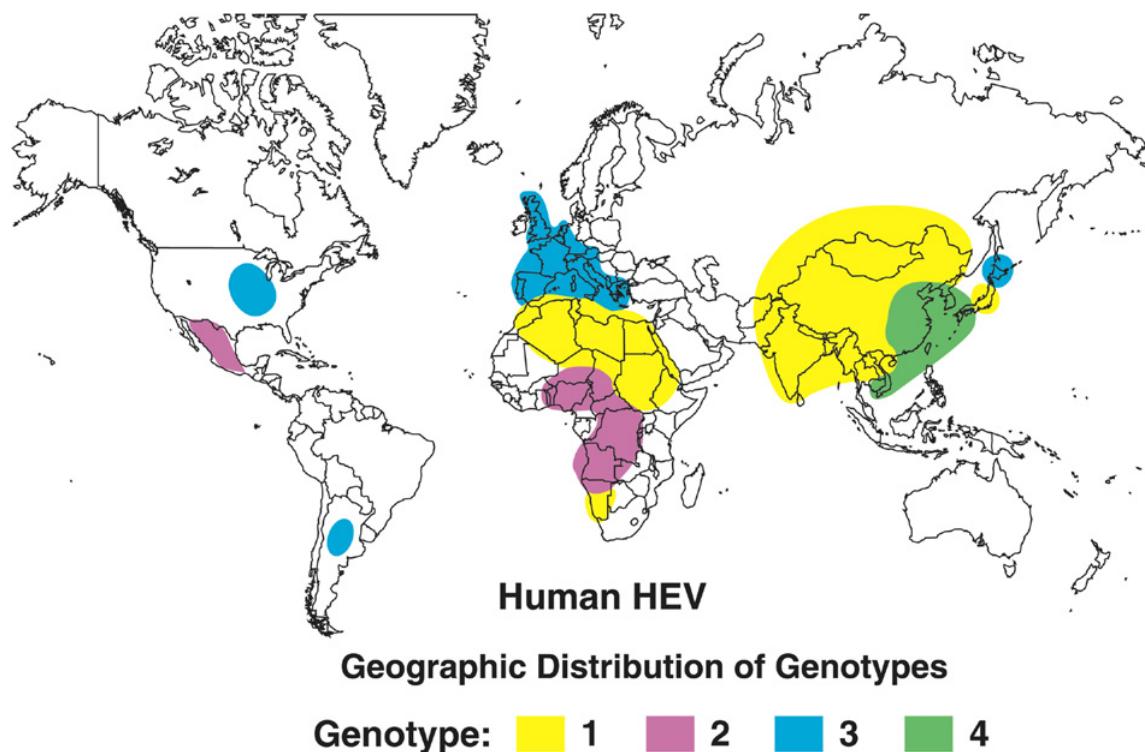
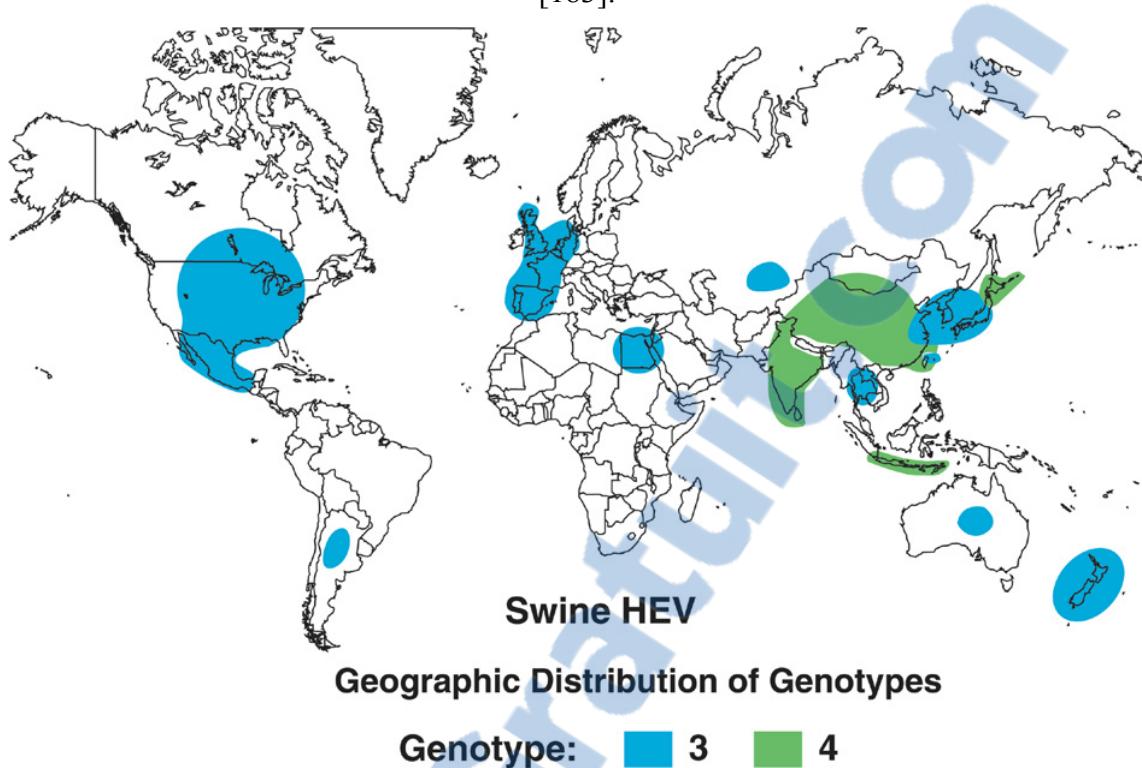


Figure 16 : Distribution géographique des génotypes 3 et 4 du VHE rencontrés chez le porc en 2008 d'après Purcell *et al.*

[183].



c. Fréquence de l'infection

La littérature recèle de nombreuses études de séroprévalence menées à la fois chez l'Homme et chez l'animal dont l'analyse permet de dresser une cartographie de la circulation du virus et de son importance.

a. Chez l'Homme : une situation hétérogène

Chez l'Homme, les études de séroprévalence confirment le clivage zones d'endémie / zones non endémiques c'est-à-dire pays en voie de développement / pays industrialisés.

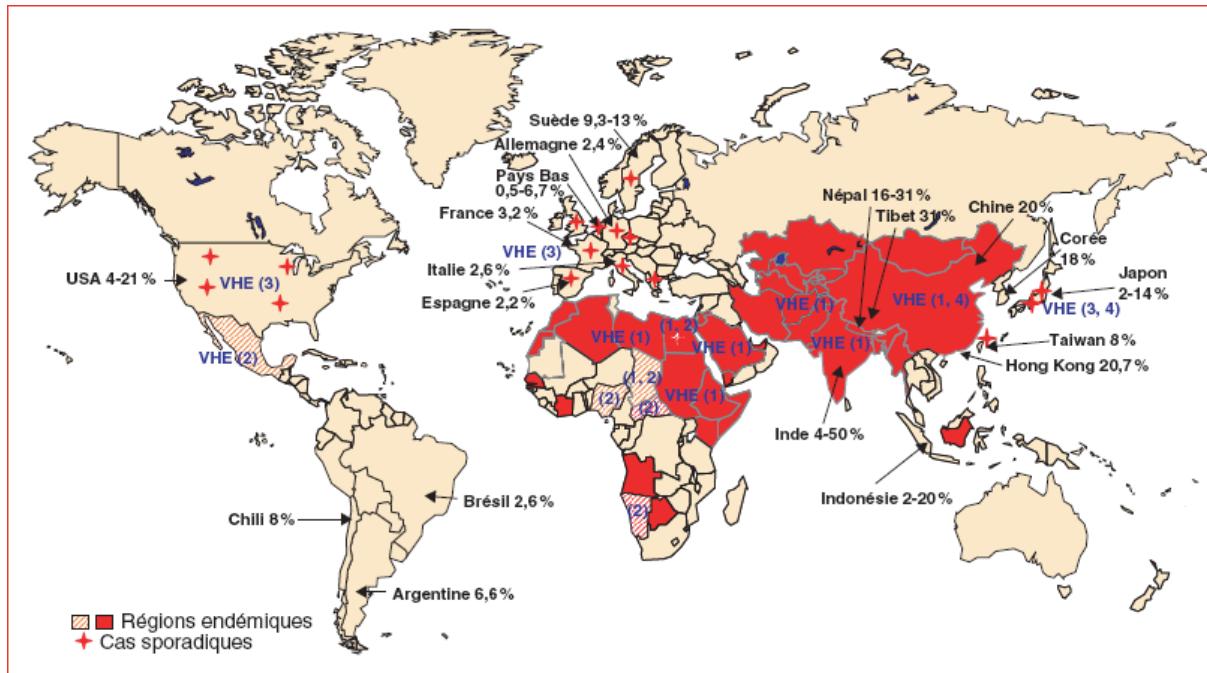
En zone d'endémie, le taux de séroprévalence moyen au sein de la population en bonne santé est de 25% [72, 234] mais d'importantes variations sont visibles dans les études. L'étude de Khuroo *et al.* en Inde en 1994 donne un taux de prévalence de 5% dans la

population [110]. A l'inverse, les résultats obtenus par Coursaget *et al.* dans différents pays d'Afrique sont beaucoup plus élevés avec un taux variant de 15% à Djibouti à plus de 90% au Sénégal et à Madagascar [29]. Plus récemment, l'étude de Li *et al.* dans les provinces rurales du sud de la Chine a révélé un taux de prévalence moyen de 43% (25-66%) dans la population globale [128]. Quelque soit l'étude, l'exposition au VHE doit donc être considérée comme forte dans les pays en voie de développement.

Dans les pays industrialisés où les cas d'hépatite E sont d'allure sporadique, la séroprévalence a également été largement estimée dans la population générale notamment via des tests menés chez des donneurs de sang [22, 62, 157, 191]. En Nouvelle Zélande par exemple, le taux de prévalence des IgG anti-VHE est de 4% chez les donneurs de sang [31]. En Europe, en fonction des pays, on note de fortes variations : en Espagne, le taux de prévalence des IgG est de 4,6% chez les enfants de 6 à 15ans [18] ; chez les donneurs de sang, il monte à 15,8% en Angleterre [32] ou 16,6% dans le Sud-ouest de la France [141] et même à 20,3% au Danemark [22]. Aux Etats-Unis, le schéma est semblable à celui observé en Europe : selon les états, le taux de séroprévalence des anticorps anti-VHE oscille entre 4 et plus de 23% [157, 223]. Si on considère l'ensemble des études menées dans les pays industrialisés, le taux de prévalence des Ig anti-VHE oscille généralement entre de 0,4 à 6 %, ce qui loin d'être négligeable. C'est d'ailleurs ce constat qui a poussé les scientifiques à rechercher l'origine de la circulation du VHE chez l'Homme dans ces pays.

La figure 14 rapporte les résultats de séroprévalence obtenus à travers le monde et complète ainsi les données développées ici.

Figure 17 : Séroprévalence mondiale des anticorps anti-VHE chez l'Homme d'après les données du CDC et Pavio *et al.* [176].



En parallèle de ces études, un constat intéressant est à faire concernant la répartition des cas d'hépatite E autochtone. En France, une étude nationale a permis de dresser une carte de l'hépatite E clinique [188]. Pour ce faire, 96 centres hospitaliers ont été contactés pour participer à cette étude dont 55 pour la moitié Nord de la France et 39 pour la moitié Sud. Quelle que la zone du pays considérée, le taux de participation de ces centres était similaire. Ainsi 78% des centres situés au Nord et 77% des centres situés au Sud de la France ont accepté de participer. Le recensement des cas d'hépatite E autochtone a par contre révélé une forte hétérogénéité Nord/Sud. Sur les 52 cas métropolitains détectés, 8 soit 15% ont été recensés dans les centres du Nord de la France contre 44 soit 85% pour les centres du Sud. Cette étude a donc mis en évidence un gradient croissant Nord-Sud. Ce constat est singulier lorsque l'on sait qu'en France, la principale région occupée par la filière porcine est la Bretagne, soit le Nord du pays. Aucune autre étude de ce type n'a été effectuée dans les autres pays industrialisés pour étudier un gradient éventuel. Néanmoins au Royaume-Uni, on peut faire le même type d'observation à savoir que la majorité des cas recensés ont été localisés dans les régions Sud, au Pays de Galles et pour l'Angleterre, dans les comtés du South Hampshire, de Cornouaille et du Devon [33, 36, 127] alors que la majorité de l'élevage porcin se situe dans l'Est et le Nord du Royaume-Uni (données du Department for Environment

Food and Rural Affairs DEFRA). La signification réelle de ce gradient croissant Nord-Sud reste aujourd’hui largement indéterminée.

β. Chez l’animal : un constat simple, le VHE est omniprésent dans le monde

(1) Vue d’ensemble de l’infection animale

La situation chez l’animal et principalement chez les porcs domestiques est beaucoup plus homogène. Quel que soit le pays ou le continent considéré, la séroprévalence du VHE est élevée en élevage porcin.

En Amérique du Nord, l’étude de Yoo *et al.* en 2001 dans les élevages de 5 provinces de l’est canadien montre un taux de prévalence moyen des anticorps anti-VHE de 59,4% avec un intervalle important allant de 38,3% dans la province du Saskatchewan à 88,8% au Québec chez les porcs d’élevage âgés de 6 mois [249]. Si l’on s’intéresse à la détection de l’ARN viral chez les animaux entre 2 et 4 mois d’âge, 35% des porcs élevés aux Etats-Unis [85] et 34% des porcs québécois se révèlent positifs et un élevage sur deux présente des animaux positifs pour la détection de l’ARN viral [236]. En Amérique Centrale et du Sud, la séroprévalence moyenne dans la population porcine de plus de 6 mois est de 22,7% (4-58%) en Argentine et monte jusqu’à 81% au Mexique pour les porcs âgés de 2 à 4 mois [28, 162]. Dans les autres pays industrialisés, la situation est similaire. Le taux de séroprévalence des anticorps anti-VHE dans les cheptels porcins est, par exemple, supérieure à 50% en Espagne (60,8% des coches adultes séropositives par exemple) [198] ou en Nouvelle Zélande (avec notamment 73% des coches séropositives et 94% des porcs de 4 mois) [63] et dans chaque cas, le taux d’élevage présentant des animaux séropositifs est supérieur à 90%.

Dans les pays en voie de développement, et contrairement à la situation chez l’Homme, les observations que l’on peut faire sont semblables. Ainsi, d’après les nombreuses études menées en Chine, la séropositivité au VHE atteint, selon les provinces, 68% et le taux d’animaux positifs pour la présence d’ARN viral dépasse, lui, les 30% [133, 171, 246, 257].

Dans les autres pays asiatiques, les résultats des études sont équivalents, comme c'est le cas en Mongolie [135] ou encore à Taiwan [83].

Pour ce qui est des autres réservoirs, l'étude de Nakamura *et al.*, qui a démontré la présence d'ARN viral chez les mangoustes de l'île d'Okinawa au Japon, nous informe aussi que 21% des mangoustes prélevées sont séropositives pour les IgG anti-VHE [165]. Toujours au Japon, le taux de séroprévalence des anticorps anti-VHE est relativement faible chez les cerfs sika, en moyenne 2% selon les articles [148, 204]. Quant aux sangliers sauvages, la présence de l'infection par le VHE a été très étudiée en Europe, notamment dans une série d'articles parus en 2008 dans la revue *Veterinary Microbiology* [34, 103, 143]. De cette façon, on apprend qu'au milieu des années 1990, le pourcentage d'animaux positifs pour l'ARN viral en Allemagne était de 5,3%. Les données plus récentes (2008) sur les populations italiennes et espagnoles de sangliers montrent un taux moyen beaucoup plus élevé, autour de 20%. Ces données reflètent-elles un gradient croissant nord-sud comme celui observé chez l'Homme en France ou simplement une augmentation de la fréquence de l'infection chez le sanglier dans le temps ? Faute de données, il nous est malheureusement impossible de répondre aujourd'hui à cette question.

(2) *L'infection porcine en détail*

Lorsque l'on analyse avec plus de précision l'infection par le VHE chez le porc domestique, et bien que l'infection porcine soit largement répandue, on constate qu'il existe quelques variations remarquables.

Tout d'abord, la présence du VHE chez le porc évolue selon l'âge de celui-ci. Plusieurs équipes ont cherché à évaluer la séroprévalence du virus et la détection de son ARN en fonction de l'âge des animaux dans des élevages industriels. Ainsi Wu *et al.* à Taiwan [241], McCreary *et al.* au Royaume-Uni [151] et Leblanc *et al.* au Canada [124] ont mené ce type de recherches. Même si ces études diffèrent par leur lieu de réalisation et par quelques variations des résultats numériques, leurs conclusions permettent d'établir un schéma commun. La recherche d'une virémie montre que les animaux âgés de moins d'1 mois ne présentent pas d'ARN viral dans leur sérum. La virémie commence à être détectable à 2 mois d'âge puis atteint un pic entre 2 et 4 mois. La prévalence de l'ARN du VHE dans le sérum décroît ensuite progressivement jusqu'à disparaître quasiment à l'âge où les porcs sont abattus, soit vers 5-7 mois selon les modalités d'élevages. En ce qui concerne l'excrétion virale, la chronologie présente des similarités. La détection de l'ARN du VHE dans les selles débute vers 2 mois d'âge, la prévalence des animaux excréteurs est par la suite maximale entre 2 et 4,5 mois. Mais contrairement au sérum, la prévalence des animaux PCR positifs dans les fèces diminue certes avec l'âge mais ne semble pas s'annuler. Ainsi selon ces 3 études, 8% des porcs à l'engraissement et en âge d'être conduits à l'abattoir, c'est-à-dire entre 5 et 7 mois, à Taiwan et en Angleterre et jusqu'à 41% au Canada présentent une excrétion virale.

En résumé, il semblerait que l'infection naturelle des porcs ait lieu aux alentours de 2 mois de vie, la virémie serait alors transitoire mais l'excrétion virale, elle, pourrait perdurer plusieurs semaines.

Le fait que des animaux à l'abattoir présentent une excrétion virale a amené les scientifiques à s'interroger sur la présence potentielle du VHE dans les denrées alimentaires issues du porc et commercialisées. La première étude de ce type a été menée par Yazaki *et al.*

au Japon en 2003 ; elle concernait des foies de porc conditionnés vendus dans les épiceries de l'île d'Hokkaido [248]. Les analyses par RT-PCR ont indiqué que 2% des foies testés recelaient de l'ARN viral. Récemment, d'autres études sur les foies de porcs ont été réalisées aux Etats-Unis [57], en Inde [116] et aux Pays-Bas [15]. Le pourcentage d'échantillons positifs était respectivement de 11, 2 et 6,5%. Notons qu'en Europe et en Asie, les porcs sont abattus aux alentours de 6 mois alors qu'aux Amérique du Nord, ils sont conduits à l'abattoir un peu plus tôt, à partir de 5 mois. Cette différence d'âge à l'abattage pourrait être un des éléments explicatifs d'une plus grande prévalence de foies de porc positifs pour l'ARN du VHE aux Etats-Unis. La forte prévalence du VHE en élevage porcin en Amérique du Nord évoquée précédemment pourrait également entrer en compte pour éclairer ces résultats. Quoi qu'il en soit, ces études confirment que les animaux à l'abattage peuvent être toujours porteurs du VHE. Une étude semblable est actuellement en cours en France pour estimer la présence du virus notamment dans les dérivés porcins non cuits, à savoir certaines salaisons.

Outre l'influence de l'âge sur la prévalence du VHE, il apparaîtrait que le type et les conditions d'élevage influent sur la fréquence de l'infection. Ainsi, Nakai *et al.* ont évalué en 2006 au Japon la prévalence du virus dans les fèces de porcs appartenant à 3 fermes A, B et C [164]. Ils ont alors constaté qu'au sein de l'exploitation B, qui ne pratique pas l'allottage des portées, présente une densité animale plus faible et dispose d'un système de nettoyage, le taux de prévalence de l'ARN viral dans les selles était faible, quel que soit le stade de développement (de 0 à 9%). Pour les fermes A et C, moins modernes, les taux observés étaient similaires à ceux des études évoquées dans les paragraphes précédents. En Chine, dans la région de Pékin, des chercheurs ont également comparé la prévalence de l'ARN viral dans le sérum entre des exploitations dites « industrielles » (environ 1000 coches) et des exploitations dites « familiales » (d'une vingtaine de coches), ces dernières n'étant pas aussi développées au niveau hygiénique [132]. Le taux de prévalence du VHE dans le sérum était ainsi de 76,6% dans les grandes exploitations contre 90% dans les fermes familiales. Même si la différence n'est pas majeure, on constate tout de même, avec ces 2 études, que l'amélioration des conditions d'élevage et notamment du niveau d'hygiène tend à réduire la fréquence de l'infection par le VHE.

Le VHE circule aujourd’hui dans le monde entier aussi bien chez l’Homme que chez l’animal. L’infection chez l’Homme se manifeste par des épidémies ou des cas sporadiques selon les régions alors que chez le porc, seuls les VHE de génotypes 3 et 4 circulent sous un mode enzootique jusque dans les étals de nos commerces, ce qui fait de cet animal le réservoir principal de ces deux génotypes. Les autres réservoirs animaux apparaissent comme secondaires mais ne sont toutefois pas négliger. Intéressons nous maintenant aux modalités de transmission du VHE permettant sa circulation et sa répartition mondiale.

2. Approche analytique

a. Quels modes de transmission pour le VHE ?

Dans cette partie, nous ne traiterons que des modes de transmissions intraspécifiques. La transmission interspécifique, notamment avec l’Homme sera analysée dans le dernier chapitre de cette thèse.

A l’instar du virus de l’hépatite A, le VHE est un pathogène entérotransmissible. Ce mode de transmission est historiquement le mode principal mais depuis la découverte de ce virus, d’autres modes ont été mis en lumière. D’ailleurs, ces modes diffèrent selon l’espèce considérée. Faisons alors un tour d’horizon des voies de transmissions évoquées dans la littérature chez l’Homme et chez l’animal.

a. Le point chez l’Homme

➤ *Transmission fécale-orale*

Ce mode de transmission est à l'origine de la découverte du VHE. L'hypothèse d'un agent entérotransmissible responsable d'hépatites aiguës non-A, non-B, non-C dans les pays en voie de développement a été évoquée dès le début des années 1980. En ingérant une suspension de selles de patients présentant ce type d'hépatite puis en identifiant chez lui-même une excrétion virale, Balayan, en 1983, a prouvé la réalité de la voie de transmission fécale-orale [8]. Afin d'expliquer les épidémies d'hépatite E, les scientifiques ont invoqué la contamination des ressources en eaux. Une des hypothèses serait la concentration du VHE dans l'eau durant les mois d'hiver puis une dissémination du virus lors de crues des rivières et même d'inondations. Lors d'une épidémie d'hépatite E en Somalie dans les villages bordant la rivière Chébéli, l'étude épidémiologique a révélé que le pic des nouveaux cas correspondait au moment des fortes pluies et d'une élévation du niveau cette rivière [11]. De plus, la mise en évidence de séquences virales dans les eaux d'égouts [24, 121, 177] ainsi que dans les selles des patients lors d'épidémie d'hépatite E tend à confirmer le caractère entérotransmissible du virus via la contamination des ressources hydriques et/ou la consommation d'aliments souillés.

Autre volet de la transmission fécale-orale, la contamination par contact direct et notamment intrafamiliale est suspectée. Ce type de contamination survient essentiellement par défaut d'hygiène des mains. D'après l'analyse de Khuroo *et al.*, l'apparition d'un second cas dans une famille suite à un premier cas d'hépatite E chez un membre de cette famille n'intervient que dans 1 à 2% des cas en zone d'endémie [107]. En région non endémique, on ne trouve que quelques rares cas de transmission familiale du VHE. Un exemple est ainsi rapporté par Ducancelle *et al.* en France [42]. Par cet aspect, l'hépatite E se distingue nettement de l'hépatite A. L'hépatite A est, elle aussi, une infection entérotransmissible mais à la différence de l'hépatite E, elle est très contagieuse. Le taux d'infection secondaire peut en effet atteindre 20 à 50% dans l'entourage d'un sujet infecté (*données de l'AFSSA : fiche d'identification des dangers biologiques VHA090207*). Pour l'hépatite E, cette modalité de la transmission fécale-orale existe donc mais apparaît tout à fait minoritaire.

➤ **Transmission parentérale**

L'infection par le VHE se caractérise par une virémie précoce et généralement brève. Néanmoins, nous avons vu que la virémie peut être relativement longue chez certains

individus. Par ailleurs, au Japon, Fukuda *et al.* en 2004 [62] puis Sakata *et al.* en 2008 [191] ont démontré l'isolement d'ARN de VHE chez des donneurs de sang présentant une élévation de leurs enzymes hépatiques. Le risque de transmission du virus par voie sanguine a de ce fait été vivement suspecté. Depuis, les preuves de transmission du virus par transfusion sanguine ont été apportées. On citera en exemple les cas décrits par Colson *et al.* en France [26] ainsi que par Tamura *et al.* [217] et Matsubayashi *et al.* [146] au Japon.

La transmission du VHE par transfusion sanguine est une réalité bien qu'elle soit exceptionnelle. On peut alors suspecter que parmi les cas d'hépatites non-A, non-B et non-C survenus post-transfusion, un certain nombre devraient être imputés au VHE. Dans l'idéal, il conviendrait de rechercher ces cas et d'en évaluer le nombre. Cette estimation orienterait alors ou non vers la nécessité d'intégrer la recherche des marqueurs du VHE dans les tests de criblage des prélèvements sanguins collectés.

➤ ***Transmission verticale***

L'identification du virus de l'hépatite E chez des femmes enceintes durant le troisième trimestre de leur grossesse, en zone d'endémie principalement, soulève naturellement la question d'une transmission verticale *in utero* ou périnatale. Dès 1995, en Inde, Khuroo *et al.* se sont penchés sur le sujet [109]. Durant leur étude sur 8 mères suivies jusqu'au terme et leurs enfants, ils ont décelé la présence d'ARN viral dans 5 échantillons sanguins prélevés dans le cordon ombilical ou chez les nouveau-nés. Chez un des enfants, la virémie a d'ailleurs persisté 1 mois. En outre, tous les enfants étaient positifs pour les IgG anti-VHE à la naissance. Cette étude, la première du genre, a été suivie par différents travaux et notamment ceux de Kumar R.M. *et al.* en 2001 [120] puis de Kumar A. *et al.* en 2004 [118]. Ces deux articles confirment les données relevées par Khuroo *et al.*, à savoir la détection d'ARN viral dans le cordon ombilical et chez les enfants à la naissance. La transmission verticale existe donc bien pour l'hépatite E en zone d'endémie. Le peu de cas d'hépatite E autochtone chez la femme enceinte et le manque d'études prospectives en région non endémique ne nous permet toutefois pas d'extrapoler ces informations à l'entité clinique qu'est l'hépatite E autochtone.

Par ailleurs, aucune preuve n'existe aujourd'hui d'une transmission sexuelle du VHE. Ainsi, l'étude de séroprévalence menée par Thomas *et al.* aux Etats-Unis ne met pas en évidence une séropositivité plus élevée dans la population homosexuelle [223].

β. La situation chez le porc

➤ *Transmission fécale-orale*

Chez le porc comme chez l'Homme, la voie fécale-orale avec transmission digestive du VHE est suspectée comme étant la principale voie de transmission. L'hypothèse d'une telle transmission du virus chez le porc a été testée en 2004 par l'équipe de Kasorndorkbua *et al.* [104]. Pour ce faire, trois porcs naïfs ont reçu par gavage une suspension de fèces issue d'animaux excréteurs du VHE, avec contrôle des animaux pendant 15 minutes pour éviter les régurgitations. Le suivi de ces animaux a montré la présence d'une séroconversion et d'une excrétion virale chez 1 des 3 porcs, donc d'une infection réussie par le VHE. Dans cette étude, il s'agissait d'une consommation provoquée de selles. Le porc étant un animal omnivore et fouisseur, l'infection fécale-orale par contact direct a également été largement étudiée [14, 104, 193]. A chaque fois, des porcs naïfs ont été mis en contact de porcs excréteurs du VHE et des prélèvements sanguins et de selles ont été effectués pour suivre l'infection. Certaines équipes ont même mené ces expérimentations sur plusieurs cycles en exposant d'autres porcs naïfs aux porcs exposés en 1^{ère} intention. L'une de ces expériences, menée par l'équipe de Bouwknegt *et al.* aux Pays-Bas en 2008 [14], a d'ailleurs révélé une information essentielle pour comprendre la circulation du virus en élevage porcin. Dans cette étude, Bouwknegt *et al.* ont calculé le coefficient de reproduction R_0 du VHE pour la transmission par contact direct. Ainsi la valeur de R_0 obtenue s'élève à 8 : cela signifie qu'un porc infecté par le VHE et excréteur de particules virales peut contaminer 8 congénères. Cette donnée met donc en évidence le potentiel de propagation du VHE par voie fécale-orale et renforce l'idée que le porc est un réservoir principal de ce virus.

Néanmoins, dans ces études, des variables telles la densité de population influent sur ce passage. Ainsi, plus il y a d'animaux ou moins la surface est grande, plus l'infection se propage efficacement et rapidement.

En conclusion, la voie fécale-orale, provoquée ou par contact direct, est un mode transmission efficace du VHE et sûrement le mode principal en élevage porcin.

➤ *Transmission parentérale*

En élevage porcin, le matériel médical, aiguilles et seringues, est souvent utilisé à plusieurs reprises pour administrer vaccins et autres médications. Une contamination via le matériel souillé peut être envisageable. Dans le but de vérifier cette hypothèse, l'équipe de Kasorndorkbua *et al.*, en 2004, a également effectué des injections répétées de vaccins sur 3 jours avec le même matériel à des animaux excréteurs puis à des porcs naïfs [104]. Aucun des animaux naïfs n'a montré de signe d'infection au VHE. Parmi les éléments explicatifs, nous pouvons évoquer le caractère transitoire de la virémie chez le porc ou la notion de dose infectante, la quantité de virus résiduel dans le matériel après une injection chez un animal virémique étant infime. Dès lors, la transmission parentérale inter-individus chez le porc ne semble pas avoir lieu mais d'autres études, avec un échantillon plus large, seraient nécessaires pour l'affirmer.

➤ ***Transmission verticale***

Pour expliquer la circulation du VHE en élevage porcin, la transmission verticale a par ailleurs été suggérée. Dans la littérature, nous avons vu précédemment que les marqueurs de l'infection par le VHE sont détectables aux alentours de 2 mois d'âge et non chez les porcelets de moins d'un mois. Cela sous-entend donc que les porcelets ne sont pas contaminés *in utero* ou *peripartum*. En 2003, Kasorndorkbua *et al.* ont voulu vérifier cette absence de transmission verticale expérimentalement [106]. Dans leur étude, ils ont inoculé du VHE par voie intraveineuse à 12 cochettes gestantes. Toutes les cochettes inoculées sont devenues infectées et ont excrété le VHE dans leurs selles. A l'inverse, aucun porcelet n'a montré de signe d'une transmission verticale. En ce qui concerne les anticorps, dans cette étude, les porcelets ont acquis des IgG de manière passive via le colostrum et ceux-ci ont persisté en moyenne jusqu'à l'âge de deux mois.

En résumé, il semblerait qu'il n'y ait pas de transmission verticale du VHE chez le porc. Les porcelets acquerraient une immunité colostrale persistant environ 2 mois. La période à risque pour les jeunes porcs se situerait au moment où les anticorps maternels ont disparu et lorsque les lots sont réunis et allotés. Ce schéma correspondrait aux études de prévalence réalisées dans la population porcine.

➤ *Autres voies*

Plus anecdotiquement, Kasorndorkbua *et al.* ont testé la transmission du VHE via les muqueuses autres que la muqueuse du tractus digestif, à savoir les muqueuses buccales, nasales et oculaires. Aucune preuve du passage du virus par ces muqueuses n'a été mise en évidence [104].

Les modes de transmission du VHE diffèrent selon l'espèce concernée. Chez l'Homme, les voies de transmission sont multiples, fécale-orale, parentérale ou encore verticale. A l'inverse chez le porc, seule une transmission par voie fécale-orale semble pouvoir expliquer la circulation du virus en élevage.

b. L'hépatite E, maladie émergente?

L'hépatite E est une entité clinique identifiée depuis moins d'une trentaine d'années. Grâce à l'isolement de l'agent responsable et à l'élaboration d'outils diagnostiques, de nombreux cas ont été détectés. Dans un premier temps, il s'agissait de cas rencontrés sous forme d'épidémie dans les pays à faible niveau d'hygiène. Le VHE fait d'ailleurs encore régulièrement parler de lui dans ces régions, la dernière grande épidémie ayant lieu dans des camps de réfugiés au nord de l'Ouganda depuis novembre 2007 avec plus de 4000 cas signalés dont plus de 60 décès selon les données de Médecins Sans Frontière et de l'Institut Pasteur. De façon plus sporadique, mais de plus en plus fréquente, des cas autochtones d'hépatite E sont recensés dans les pays industrialisés. Face à cette évolution de l'infection au cours du temps, il est légitime de s'interroger sur le caractère émergent ou non de l'hépatite E.

Dans la littérature, l'hépatite E est régulièrement qualifiée de maladie émergente. Les auteurs se basent alors sur la connaissance relativement jeune de cette maladie et sur l'augmentation des cas diagnostiqués, notamment dans les pays industrialisés. Malgré cela, l'hépatite E est-elle réellement une maladie émergente ?

Dans un article de la revue *Epidémiologie et Santé Animale* paru en 2003, Toma et Thiry ont analysé les diverses définitions de l'émergence retrouvées dans la littérature afin de tenter de dégager une définition synthétique de cette notion [225]. D'après leur étude, ils proposent qu'une maladie émergente soit une « maladie dont l'incidence réelle augmente de manière significative dans une population donnée, d'une région donnée et durant une période donnée, par rapport à la situation épidémiologique habituelle de cette maladie ». L'émergence vraie doit donc être clairement distinguée de l'émergence apparente. De cette façon, quelques précautions sont à prendre avant d'utiliser le concept d'émergence. Il convient principalement de vérifier si l'augmentation apparente de l'incidence de cette maladie n'est pas simplement due à l'amélioration des outils de diagnostic et de dépistage de cette maladie au cours des dernières années, et/ou à l'amélioration des modalités de son épidémirosurveillance (avec par exemple la création de réseaux d'épidémirosurveillance), et/ou au développement de sa médiatisation.

Si l'on s'intéresse à l'hépatite E en tenant compte de ces mises en garde, on constate que la forme endémoépidémique en pays à faible niveau d'hygiène n'a été découverte qu'en 1983. Néanmoins, rétrospectivement, des épidémies d'hépatite E ont été prouvées dans les années 1950 et après. Rien n'indique à l'heure actuelle que le VHE n'évoluait pas de manière insidieuse dans ces régions depuis de nombreuses années voire des décennies. Quant à l'hépatite E autochtone, la description des premiers cas est récente. Depuis, avec le développement d'outils diagnostiques et une prise de conscience du corps médical de l'intégration de l'hépatite E dans le diagnostic différentiel d'une hépatite aiguë, de plus en plus de cas sont recensés. Mais on ne peut exclure que, parmi les cas d'hépatite non-A non-B non-C diagnostiqués en pays industrialisés avant la découverte du VHE, certains étaient des cas d'hépatite E.

Par conséquent et contrairement à de nombreux auteurs, il est préférable de parler de l'hépatite E comme d'une **maladie pseudo-émergente** car certains critères de l'émergence vraie ne peuvent être prouvés. Nous qualifierons donc ainsi l'hépatite E dans cette thèse.

IV. L'HÉPATITE E AUTOCHTONE ZOONOTIQUE, UNE RÉALITE?

1. Une composante zoonotique désormais reconnue

a. Proximité génétique des souches virales humaines et porcines de génotypes 3 et 4

Le potentiel zoonotique du VHE est évoqué dans la littérature depuis le milieu des années 1990 mais avec la découverte du premier variant porcin de ce virus en 1997, la recherche s'est intéressée plus vivement à ce potentiel.

En 1997, Meng *et al.* ont réussi l'extraction et l'amplification par RT-PCR de génome du VHE dans des échantillons de sérum de porcs issus de 15 élevages du Midwest aux Etats-Unis [156]. La souche virale isolée a alors été appelée Swine HEV. Le premier résultat de cette étude a concerné l'organisation génétique du virus, celle-ci étant semblable à celle des variants humains à savoir un génome d'environ 7,5 kb contenant trois phases ouvertes de lecture. Puis le séquençage complet de l'ORF2 et de l'ORF3 a ouvert la voie de la comparaison phylogénétique entre souches humaines et porcines. Dans cette première étude, les séquences porcines ont ainsi été comparées à des souches humaines telles que les souches Mexico (génotype 2), Burma (génotype 1), Sar-55 (génotype 1) ou encore Madras (génotype 1) [156]. L'analyse comparée combinant ORF2 et 3 a révélé une identité globale de 79-80% au niveau nucléotidique et de 90-92% au plan des acides aminés entre la souche porcine et les souches humaines considérées.

Un an plus tard, avec l'isolement de la première souche de VHE responsable de cas autochtones aux Etats-Unis, souche US-1, la perception de la proximité génétique entre souches humaines et souches porcines s'est précisée [194]. L'analyse phylogénétique a donné 92,1% d'identité sur les ORF2 et 3 au plan nucléotidique, et 97,7% sur l'ORF2 et 93,5% sur l'ORF3 au plan des acides aminés.

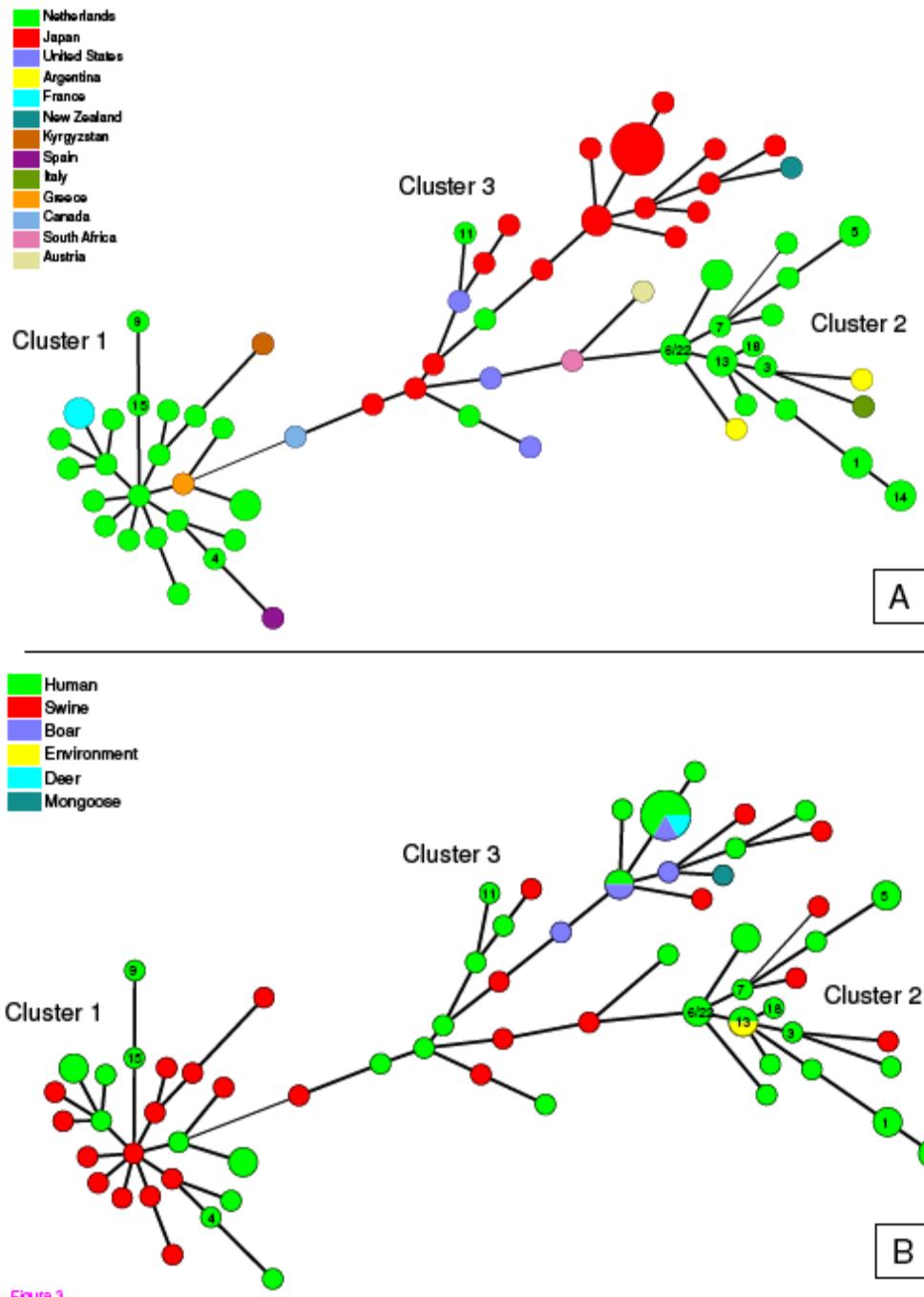
Depuis ces premières découvertes, de nombreuses souches virales porcines ont été identifiées de part le monde. Les analyses phylogénétiques ont à chaque fois confirmé la proximité génétique entre souches humaines et porcines. Quelques études rapportent en outre une identité de séquence très élevée. Citons quelques exemples. Pour le génotype 3, Inoue *et al.* au Japon en 2006, rapportent une identité allant jusqu'à 98,8% au plan des acides aminés entre les isolats humains HE-JA04-1911 et porcins swJ8-5 et swJ12-4 [93]. De même en Grande Bretagne en 2004 où une souche de VHE de provenant d'un patient humain (AY362357 UK Hu) partage 100% d'identité au plan des acides aminés avec la souche porcine AF503512 UK Sw [9]. Quant au génotype 4, en 2003 au Japon, Nishizawa *et al.* ont comparé la souche humaine issue d'un cas autochtone HE - JA1 à une souche porcine locale swJ13-1 [172]. L'analyse complète des génomes a montré une identité de 99,0% au niveau nucléotidique et de 99,8-100% au plan des acides aminés. Autre exemple, l'étude de Hsieh *et al.* à Taïwan en 1999 a révélé une identité de 97,3% au plan nucléotidique et de 98,4% au plan des acides aminés entre la souche porcine swT74 et la souche humaine T821 [83].

Cette proximité génétique entre souches d'origine humaine et animale est bien illustrée par Borgen *et al.* aux Pays-Bas [13]. Dans leur étude, cette équipe a analysé 81 séquences de VHE humaines ou animales de 148 nucléotides, de génotype 3, afin d'évaluer les liens phylogénétiques. La figure 18 nous montre les arbres phylogénétiques ainsi produits. De l'étude de ces arbres, plusieurs constats sont à faire. D'une part, l'arbre A met en évidence la circulation mondiale du virus aussi bien dans la population humaine que porcine. Ainsi des isolats géographiquement très éloignés se révèlent génétiquement proches. D'autre part, on remarque une grande proximité à la fois intra- et interspécifique au sein du génotype 3 sur l'arbre B. Le groupe 1 (cluster 1), par exemple, montre ainsi une forte proximité entre souches porcines hollandaises. Le groupe 3 (cluster 3), quant à lui, rapproche des souches isolées chez 5 espèces hôtes différentes. Grâce à ce type d'arbre, les liens phylogénétiques entre souches humaines et animales de VHE apparaissent donc très clairement.

Figure 18 : Arbres phylogénétiques obtenus par analyse comparée de 81 séquences de VHE de génotype 3 d'origine humaine ou animale d'après Borgen *et al.* [13] :

A : Mise en évidence de l'origine géographique des souches

B : Mise en évidence de l'origine humaine ou animale des souches



Avec :

Swine = porc ; Boar = sanglier ; Deer = cerf ; mongoose = mangouste.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES



Les preuves d'une liaison génétique entre souches humaines et porcines du VHE de génotypes 3 et 4 sont donc désormais bien établies. Cette connaissance consolide amplement l'hypothèse d'un passage du VHE du porc à l'Homme et donc d'une transmission zoonotique. Néanmoins pour que la transmission zoonotique existe, il faut qu'il y ait un passage efficace de la barrière d'espèce.

b. Notion de barrière d'espèce

La barrière d'espèce est un concept simplificateur recouvrant en réalité une série complexe d'étapes et comprenant à la fois des mécanismes épidémiologiques définissant une faible probabilité d'exposition au risque et des mécanismes moléculaires limitant ou empêchant la réplication du virus chez un hôte différent. Parmi ces mécanismes, dans le cas de certains virus par exemple, l'entrée chez un hôte différent peut être empêchée par l'absence de récepteurs adéquats. Mais si cette entrée est artificiellement forcée, le virus est parfaitement capable de se répliquer. Dans d'autres cas, l'entrée du virus se réalise correctement mais des étapes postérieures sont limitantes. Bien que ces mécanismes se révèlent généralement robustes, ils peuvent néanmoins être franchis dans certaines circonstances. Ces circonstances sont principalement liées à des modifications des écosystèmes qui permettent la sélection de nouveaux variants aptes à se multiplier chez un hôte différent, dont l'Homme. L'apparition des nouveaux variants, et de là leur sélection, est d'autant plus fréquente chez les virus à ARN dont le taux de mutations génétiques voire de recombinaisons ou de réassortiments est élevé [44, 192].

Le virus de l'hépatite E est un virus à ARN évoluant rapidement. En outre, du VHE de génotypes 3 et 4 est présent à la fois chez l'Homme et chez l'animal. Il a dès lors fallu déterminer si ces virus présentaient les mêmes caractéristiques c'est-à-dire s'ils pouvaient à la fois se trouver chez l'un ou l'autre de ces hôtes ou si une souche virale était cantonnée à une seule espèce hôte, ne franchissant pas la barrière d'espèce.

Les premiers travaux expérimentaux sur un éventuel passage de la barrière d'espèce ont été menés par Meng *et al.* en 1998 [155]. Dans cette étude, les souches porcine Swine HEV et humaine US-2, toutes deux de génotypes 3 et génétiquement très proches comme nous l'avons évoqué précédemment (plus de 97% d'identité au niveau de la chaîne d'acides aminés sur les ORF1 et 2) ont été utilisées.

Dans un premier temps, des primates non humains (deux singes rhésus *Macaca mulatta* et un chimpanzé *Pan troglodytes*) ont reçu un inoculum de Swine HEV par voie intraveineuse. Les 3 animaux ont développé des anticorps anti-VHE dès 4 semaines post-infection et sont restés séropositifs plus de 12 semaines. Une semaine après l'inoculation, une virémie a été détectée et quelques jours après ce fut le tour de l'excrétion virale. Les deux singes rhésus ont montré des signes cliniques modérés d'hépatite avec une légère augmentation des ALAT et quelques signes de nécrose inflammatoire à la biopsie hépatique. Le chimpanzé, quant à lui, n'a pas développé de signes cliniques d'hépatite E, même modérés. L'infection des primates non humains par le VHE d'origine porcine s'avère donc efficace.

Le deuxième volet de cette étude consistait à tester l'infectivité de la souche humaine US-2 chez des porcs SPF. A l'instar du test chez les primates, tous les porcs ont présenté une séroconversion au bout de 2 semaines post-infection et l'excrétion fécale a été mise en évidence au cours de la première semaine après inoculation. Une PCR sur le virus retrouvé dans les selles a ensuite confirmé qu'il s'agissait d'isolats issus de la souche US-2 et distincts de la souche porcine. Aucun signe clinique d'hépatite n'a été identifié chez ces animaux.

En résumé, cette première étude a démontré que du virus d'origine porcine était infectieux pour les primates non humains et de même que du virus d'origine humaine entraînait une infection chez le porc. Pour le VHE de génotype 3, cet article prouve donc le passage efficace de la barrière d'espèce.

Plus récemment, le même type de travaux a été réalisé pour le génotype 4. Ainsi en 2006, Arankalle *et al.* ont démontré que l'inoculation de singes rhésus avec une souche porcine indienne de génotype 4 entraîne chez ces animaux une virémie et une séroconversion mais sans altération des paramètres hépatiques (absence d'élévation des ALAT dans le sérum) [4].

Le pendant humain de cette étude a été effectué par l'équipe de Feagins *et al.* en 2008 aux Etats-Unis avec la souche humaine de génotype 4 TW6196E [59]. L'inoculation de cette souche à des primates non humains et à des porcs a engendré, dans les deux cas, l'infection des animaux avec séroconversion, virémie et excrétion fécale du VHE.

Grâce à ces deux études, le passage de la barrière d'espèce a de ce fait été également démontré pour le génotype 4.

Les études menées chez les primates non humains avaient prouvé leur sensibilité aux souches du VHE d'origine humaine, faisant de ces animaux de bons substituts expérimentaux pour étudier les effets du virus chez l'Homme [1, 150]. Ici nous avons rapporté l'efficacité du franchissement de la barrière d'espèce entre porcs et primates non humains à la fois par les souches virales porcines et humaines de génotype 3 et 4. Par extrapolation, nous pouvons en déduire que ce passage de la barrière d'espèce est également valable entre l'Homme et le porc pour le VHE de génotypes 3 et 4 quelle que soit son origine.

Rappelons par ailleurs que, jusqu'à ce jour, aucun cas de passage du VHE de génotype 2 au porc n'a jamais été mis en évidence. Ainsi, la tentative d'infection expérimentale de porcs SPF par des souches de génotype 1 (Sar-55) et 2 (Mex-14) par Meng *et al.* en 1998 s'est soldée par un échec [154]. En outre, le seul cas de passage naturel du VHE de génotype 1 au porc décrit à ce jour fait l'objet de nombreuses controverses et nécessite d'autres analyses pour confirmation.

Entre proximité génétique et franchissement de la barrière d'espèce, les éléments d'une contamination zoonotique possible par le VHE des réservoirs animaux à l'Homme sont donc réunis. Voyons maintenant dans quels cas cette transmission a eu lieu.

c. Cas de transmission zoonotique documentés

a. Cas scientifiquement confirmés : peu de preuves

A l'heure d'aujourd'hui, il n'existe dans la littérature que 2 cas dans lesquels les preuves scientifiques permettent d'affirmer à 100% l'origine zoonotique de la contamination. Dans les deux cas, la contamination a eu lieu au Japon.

Le premier cas est décrit par Tei *et al.* en 2003 et est en réalité une série de cas concernant plusieurs personnes de deux familles différentes mais proches [222]. Le premier patient, un homme de 44 ans, est hospitalisé avec un diagnostic d'hépatite aiguë. Dans le mois suivant son admission, son père, un de ses frères et un ami déclarent eux aussi une hépatite. Les premiers tests sérodiagnostiques excluent les hépatites A, B et C. Puis la recherche de marqueurs de l'hépatite E révèle que les sérums de ces 4 patients sont positifs pour les IgM et IgG anti-VHE et également pour la détection de l'ARN viral. L'enquête épidémiologique s'axe dans un premier temps sur le voyage en Chine d'un des patients mais rapidement un point commun est mis en évidence, à savoir la consommation de viande crue de cerf sika, issue de la chasse, sous forme de sashimi (tranche de viande crue seule) ou de sushi (tranche crue sur du riz). Du cerf avait ainsi été consommé à trois reprises durant une période de 7 semaines. Dans ce cas, de la viande était conservée congelée par les familles, ce qui a permis la recherche du VHE. Sur les 3 lots de viande de cerf consommé, seul le premier s'est révélé positif par RT-PCR. Le titre en ARN viral était de 10^5 copies/gramme. Puis le séquençage et la comparaison des séquences nucléotidiques ont montré 100% d'identité entre les isolats de la viande et des 3 derniers patients. Pour le 1^{er} patient, l'identité de séquence était de 99,7%, les séquences ne différant que d'un seul nucléotide. Ces isolats ont été regroupés dans le génotype 3.

Le second cas est relaté par Li *et al.* en 2005 [129] chez une femme de 57 ans. Les tests sérodiagnostiques ont exclu l'hépatite A et C, mais la patiente était porteuse saine pour le virus de l'hépatite B. Ensuite, les analyses sériques se sont avérées positives pour les IgM et IgG anti-VHE et pour l'ARN viral. Dans ce cas également, l'enquête épidémiologique a

rapporté la consommation de viande de deux sangliers, issus de la chasse, sous forme de ragoût à un mois d'intervalle. Dix personnes avaient consommé cette viande mais seule cette femme a développé une hépatite E clinique. Là encore, des morceaux restants congelés ont permis d'isoler du VHE, chez 1 seul des 2 animaux tués. Les analyses phylogénétiques comparatives entre l'ORF2 de l'isolat issu de la patiente et de celui issu de la viande ont abouti à une classification au sein du génotype 3. L'identité des séquences était, dans ce cas, de 99,95% avec 1 seul nucléotide différent sur les 1980 de l'ORF2.

Les deux cas présentés ici permettent d'affirmer avec certitude la transmission par voie alimentaire du VHE et de ce fait apportent la preuve scientifique que le VHE est également un agent de zoonose.

β. Cas considérés comme avérés

Les cas que nous allons étudier maintenant diffèrent de la situation précédente car une analyse comparative n'a pu être réalisée entre les isolats trouvés chez les malades et ceux de la viande présumée à l'origine de la contamination. Néanmoins les enquêtes épidémiologiques et autres analyses ont éclairé sur l'origine de la contamination.

La première série de cas concerne 10 patients ayant contracté une hépatite E aiguë ou fulminante au Japon entre 2001 et 2002 [248]. L'enquête épidémiologique a révélé que 9 des 10 patients avaient consommé des foies de porcs, grillés mais plus ou moins cuits, 2 à 8 semaines avant l'apparition des symptômes et souvent à plusieurs reprises. Malheureusement dans chacun de ces cas, aucun morceau de foie n'avait été conservé et aucune analyse phylogénétique directe n'a pu être réalisée. Pour palier cette absence de matériel, l'équipe de Yazaki *et al.* a voulu tester la présence du VHE dans les foies de porcs vendus dans les commerces de la région. Les résultats des analyses RT-PCR ont permis la détection d'ARN de VHE dans 2% des foies (7/363). Parmi les isolats de VHE recensés dans les foies du commerce, un isolat présentait 100% d'identité de séquence avec l'isolat identifié chez 1 des 9 patients. Il s'agissait de VHE de génotype 3.

Par ailleurs, en 2003, Matsuda *et al.* ont rapporté le cas de deux frères hospitalisés le même jour pour les mêmes symptômes d'hépatite aiguë mais dans 2 établissements différents au Japon [147]. Le diagnostic d'hépatite E a été établi pour les 2 patients rétrospectivement après le décès de l'un deux. Les analyses phylogénétiques des isolats ont permis leur classement au sein du génotype 4. Parmi les facteurs de risque pointés par l'enquête épidémiologique, on note la consommation régulière de foies crus de sanglier au cours des 3 mois précédent le déclenchement de la maladie. Ces deux personnes étaient les seuls membres de la famille à consommer du foie de sanglier et ont aussi été les seuls à développer une hépatite E.

Les cas suivants ont eu lieu en 2004 au Japon parmi 12 membres d'une association locale de séniors [216]. Suite à cinq cas cliniques d'hépatite E au sein de ces membres, une enquête séroépidémiologique a révélé la présence d'IgM anti-VHE chez 8 d'entre eux (soit 67%) et la présence d'IgG anti-VHE chez 11 des 12 membres (soit 92%). La présence des IgM signe un contact récent avec le virus. Or la seule occasion où ces 12 personnes ont été réunies, dans un laps de temps restreint, était un barbecue durant lequel ils ont consommé du sanglier grillé (166 jours avant les tests sérologiques), suggérant une infection par le VHE au cours de ce repas. De plus, l'analyse phylogénétique réalisée sur les isolats d'ARN viral retrouvés chez 2 des cas cliniques a mis en évidence une identité de 99,4%. Ici tous les éléments se recoupent donc en faveur d'une transmission zoonotique du VHE via la consommation de viande de sanglier contaminée au cours de ce repas commun.

Le dernier cas est rapporté par Masuda *et al.* en 2005 toujours au Japon [144]. Un homme de 71 ans a développé une hépatite E aiguë avec séropositivité aux IgM et IgG anti-VHE et présence d'ARN viral de génotype 3 dans le sérum. Environ 60 jours avant le début des symptômes, cet homme avait consommé des joues de sanglier sauvage avec sa femme et son beau-frère. Aucune de ces deux autres personnes n'a montré de signe d'hépatite. En revanche, les analyses sérologiques ont démontré que le beau-frère était fortement séropositif pour les IgM et les IgG anti-VHE, suggérant chez ce dernier une infection subclinique. Faute de viande restante, aucune analyse comparative directe n'a dans ce cas également pu être réalisée.

Bien que pour ces présentations, la confirmation directe d'une contamination zoonotique n'ait pu être apportée, l'enquête épidémiologique ainsi que d'autres analyses de laboratoire ont amené les preuves indirectes d'une transmission alimentaire et donc zoonotique du virus de l'hépatite E.

γ. Cas de transmission zoonotique suspectés

Abordons maintenant quelques cas suspects de transmission zoonotique survenus en France.

En 2007, en France, Renou *et al.* ont rapporté un cas intéressant d'hépatite E d'origine zoonotique possible [187]. Ainsi un patient de 41 ans a développé une hépatite E aiguë. Les analyses de laboratoire ont montré qu'il était positif pour les IgM anti-VHE et de l'ARN viral de génotype 3 a été isolé. Or ce patient avait adopté 8 semaines plus tôt un cochon vietnamien de 3 mois qui, depuis son adoption, avait largement accès au domicile et était souvent pris dans les bras par son propriétaire. La recherche de marqueur du VHE chez cet animal a permis l'isolement d'ARN viral lui aussi de génotype 3. Puis l'analyse comparée de l'isolat humain et de l'isolat porcin a montré respectivement 92% et 98% d'identité entre les séquences nucléotidiques et d'acides aminés sur l'ORF2. Dans ce cas, une contamination fécale-orale par contact direct est alors à suspecter.

Autre cas plus anecdotique, un chirurgien urologue français a contracté une hépatite E avec un virus de génotype 3 en 2007 [27]. Ce patient avait consommé du porc bien cuit mais seulement 4 jours avant le début des symptômes, délai à priori trop court pour que se développe une infection par le VHE. Par contre, l'enquête épidémiologique a rapporté un exercice chirurgical sur des porcs 7 semaines avant la maladie. Bien qu'aucune preuve n'ait pu être apportée dans ce cas, on peut émettre l'hypothèse d'une contamination parentérale per-opératoire, d'autant que les études de Tanaka *et al.* [218] et Yamamoto *et al.* [244] au

Japon ont révélé la prévalence non négligeable du VHE chez les porcs utilisés en expérimentation médicale.

Malgré l'absence de preuve dans ces deux derniers cas, on peut émettre l'hypothèse d'une contamination zoonotique certes par voie digestive mais aussi par voie fécale-orale ou voie parentérale, auquel cas la problématique générée est beaucoup plus large.

Tous ces cas cliniques témoignent donc du caractère zoonotique réel du VHE. Il semblerait que la voie digestive soit la voie de transmission privilégiée pour le passage du virus à l'Homme. En outre, l'analyse comparée de ces cas permet de définir plus précisément les points communs et les divergences. De là, il est possible d'établir des facteurs de risque, facteurs qui constituent l'une des nombreuses interrogations que pose l'hépatite E en tant que zoonose.

2. VHE zoonotique : de nombreuses inconnues

a. Quelle importance accorder au risque zoonotique ?

L'estimation du risque zoonotique est complexe et comprend différents volets.

Il convient tout d'abord d'estimer le niveau de risque et principalement la fréquence de l'infection à la fois chez l'Homme et chez l'animal. Pour ce faire, il faut disposer d'études descriptives. Par exemple, chez le porc, il est nécessaire d'évaluer de façon précise la prévalence de l'infection au sein des élevages porcins dans les différents pays en fonction de l'âge, du type d'élevage, de la localisation géographique. Quelques études de ce type existent, nous en avons d'ailleurs évoqué un certain nombre, mais l'idéal serait de disposer de protocoles d'étude standardisés.

Dans un second temps intervient la démarche analytique afin d'identifier les facteurs de risque. Dans le cadre de l'hépatite E, cette identification des facteurs de risque passe notamment par l'estimation de la proportion de cas d'origine zoonotique parmi les cas autochtones d'hépatite E. L'outil idéal pour cette estimation serait des enquêtes analytiques du type cas/témoins. Malheureusement, les cas d'hépatite E d'origine zoonotique identifiés avec certitude sont très rares dans la littérature. L'origine des cas autochtones n'est effectivement que peu souvent élucidée. D'après le rapport du CNR sur l'hépatite E, 97 cas autochtones certains ou probables ont été diagnostiqués en France en 2007 (*données du Rapport d'activité du CNR sur l'hépatite pour l'année 2007* ; <http://www.cnr.vha-vhe.aphp.fr/>). Cette même année, les deux cas suspects d'hépatite E d'origine zoonotique évoqués dans le paragraphe précédent ont été rapportés. Avec ces données, on obtient un taux de prévalence des cas d'origine zoonotique parmi l'ensemble des cas autochtones d'environ 1 à 2% en France pour l'année 2007. Il faut toutefois considérer ce pourcentage avec beaucoup de précautions car dans la majorité des cas autochtones l'origine de l'infection n'est pas connue, une contamination d'origine animale ne peut donc être exclue. Si les deux cas de transmission zoonotique potentielle utilisés pour ce calcul sont des cas de zoonose réels, alors le taux de prévalence d'1 à 2% de cas d'origine zoonotique parmi l'ensemble des cas d'hépatite E autochtone doit être considéré comme un taux de prévalence minimal. On pourrait également appliquer ce raisonnement avec des données provenant du Japon car les seuls cas de transmission zoonotique prouvés viennent de ce pays. Toutefois nous ne disposons pas des informations nécessaires pour cela, le recensement de tous les cas autochtones faisant ainsi défaut. De plus le Japon se distingue par des habitudes alimentaires différentes des nôtres. Il faudrait de ce fait prendre de nombreuses précautions afin de pouvoir comparer les taux de prévalence des cas d'origine zoonotique obtenus.

Aujourd'hui tout de même, les nombreuses études épidémiologiques réalisées dans le monde nous permettent de définir un certain nombre de facteurs de risque. Rappelons, avant tout, que le taux de séroprévalence du VHE dans la population des pays industrialisés oscille généralement entre 0,4 à 6% mais peut atteindre plus de 20%.

Premier constat, le contact avec les animaux et principalement les suidés semble être le facteur de risque principal à la transmission zoonotique. Cela se ressent particulièrement au

sein des corps de métiers en rapport avec l'industrie porcine. L'étude rétrospective de Christensen *et al.* au Danemark, en 1983, rapporte ainsi un taux de séroprévalence anti-VHE de 50,4% chez les fermiers [22]. En Chine, on retrouve les mêmes valeurs chez les éleveurs de porcs (40,5%) ou chez le personnel d'abattoir (57,3%) [259]. De même en Moldavie, en 2001, où 51,1% des éleveurs de porcs présentent des anticorps anti-VHE [41]. La profession vétérinaire est également concernée. L'étude de Meng *et al.* aux Etats-Unis, en 2002 [157], menée chez 468 vétérinaires, dont 389 travaillant dans l'élevage porcin, montre un taux de prévalence des anticorps anti-VHE de 21 à 23% donc plus élevé que dans la population générale. Les particuliers possédant des animaux présentent, eux aussi, une séroprévalence plus élevée que les personnes n'en possédant pas. Par exemple, l'étude épidémiologique sur 28 cas d'hépatite E autochtone en Angleterre et au Pays de Galle dirigée par Lewis *et al.* en 2008 a révélé que 17 des patients, soit 60%, étaient propriétaires d'animaux [127]. Une autre étude, française celle-là, confirme ce constat, d'autant plus si l'animal domestique est un suidé [188]. Qu'il soit professionnel ou de loisir, le contact avec les animaux est sans conteste un facteur de risque de transmission zoonotique du VHE.

Plus indirectement, certaines études évoquent l'influence du lieu de vie. De cette façon, Meng *et al.* aux Etats-Unis en 2002 [157] puis Ijaz *et al.* au Royaume-Uni en 2005 [92] trouvent une séroprévalence des anticorps anti-VHE plus élevée chez les personnes habitant une région à forte densité porcine. On peut alors s'interroger sur l'origine du contact avec le VHE. Un contact via l'eau est notamment suspecté. Plusieurs articles font référence à une contamination des eaux usées. Ainsi, en 1998, en Espagne dans la région de Barcelone, du VHE infectieux a été isolé dans des échantillons d'eaux prélevés dans les égouts de la ville [177]. Une seconde étude espagnole, menée par Clemente-Casares *et al.* en 2003, a confirmé la présence du VHE dans les eaux d'égouts en Espagne à Barcelone ainsi qu'en France à Nancy et aux Etats-Unis à Washington D.C. [24]. En outre, Kasorndorkbua *et al.* ont identifié en 2005 du virus dans le lisier de porc [105]. Dans cette dernière étude, aucune contamination du réseau d'eau avoisinant n'avait été détectée. Malgré tout, une contamination des nappes phréatiques et des réseaux d'eaux destinées à la population ne peut être exclue, d'autant qu'il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude de prévalence du VHE menée à partir d'échantillons pris dans les nappes phréatiques ou à la sortie des stations d'épuration. D'autre part, une étude japonaise récente a démontré la contamination de bivalves appelés Yamato-

Shijimi (*Corbicula japonica*) par du VHE de génotype 3. Or ces bivalves filtreurs, vivant dans les rivières, sont des indicateurs de l'état de pollution des eaux dans lesquelles ils vivent [130]. Autre exemple, lors de contrôles de qualité des eaux de la rivière Maas au Pays-Bas, 2 échantillons d'eaux sur les 12 prélevés ont permis l'isolement de VHE en 2004 et 2005 [13]. L'eau des rivières est donc, elle aussi, potentiellement source de contamination. D'ailleurs l'étude nationale menée en France par Renou *et al.* semble aller dans ce sens [188]. En effet, parmi 47 cas autochtones entre 2005 et 2007, la source potentielle de contamination la plus souvent retrouvée était l'eau, soit utilisée pour l'arrosage du potager et puisée dans une rivière ou dans un forage privé, soit l'eau de consommation issue d'une fontaine ou là encore d'un forage privé. En l'état actuel des connaissances, on peut donc suspecter une contamination des ressources en eau particulièrement par les rejets de la filière porcine, mais ce ne sont que des hypothèses. D'ailleurs, même si dans l'étude de Renou *et al.* [188], l'eau semble être la source de contamination la plus probable, cette étude met également en évidence un paradoxe : la majorité des cas cliniques d'hépatite E recensés l'ont été dans le sud de la France alors que l'essentiel de l'industrie porcine est regroupée en Bretagne, soit le nord du pays.

Autres facteurs de risque à prendre en compte, les habitudes alimentaires. Au vue des cas de transmission zoonotique par voie alimentaire identifiés au Japon, il semble évident que la consommation de viande de porc, de sanglier ou de cerf crue ou insuffisamment cuite soit un facteur de risque. L'étude épidémiologique de Tei *et al.* en 2004, au Japon, entérine ce constat [221]. Dans cette étude, 89% des individus séropositifs pour les anticorps anti-VHE avaient un historique de consommation de viande de cerf crue pour seulement 46% chez les personnes séronégatives, différence largement significative (avec $p = 0,035$). Plus près de nous, une récente étude épidémiologique allemande dirigée par Wichmann, en 2008, a également montré une corrélation positive entre consommation de produits d'origine animale et infection par le VHE [237]. De cette façon, la consommation de viande de sanglier ou d'abats (principalement rognons et tripes) cuits ou insuffisamment cuits apparaît fortement corrélée au déclenchement d'une hépatite E. En effet, parmi les patients atteints d'une hépatite E autochtone, 20% rapportent une consommation de viande de sanglier et 40,9% d'abats dans les 2 mois précédents l'étude contre respectivement 6,7% et 18,5% chez les individus témoins. Avec des odds ratio (OR) de 4,3 pour la viande de sanglier et de 2,7 pour les abats

(pour un intervalle de confiance de 95%), ces données confirment que certaines habitudes alimentaires constituent un réel facteur de risque à une infection par le VHE.

Enfin abordons la question de l'âge et du sexe. Quel que soit le pays ou le continent considéré (Royaume-Uni [33, 92, 127], Danemark [22], Etats-Unis [157], Pays-Bas [13], Japon [245] ou encore Nouvelle Zélande [31]), l'hépatite E dans sa forme autochtone touche essentiellement les individus de sexe masculin et d'une moyenne d'âge de 56 ans. Elle diffère par là de l'autre forme épidémioclinique de la maladie qui évolue dans les pays à faible niveau d'hygiène et qui atteint surtout les jeunes adultes (20-30 ans) des deux sexes, avec une « prédisposition » chez les femmes enceintes.

En synthétisant tous les facteurs de risque mis en évidence dans la littérature, l'hépatite E autochtone est aujourd'hui préférentiellement une infection de l'individu de sexe masculin de plus de 50 ans, ayant des contacts réguliers avec les animaux ou travaillant dans la filière porcine, consommant des abats ou de la viande de porc et de gibier (sanglier ou cerf) crus ou insuffisamment cuits et enfin utilisant de l'eau non issue de réseaux contrôlés pour sa consommation ou l'arrosage de son potager.

Néanmoins, une large proportion de cas demeure toujours d'origine indéterminée. En dépit de l'identification de certains facteurs de risque, l'hépatite E autochtone d'origine zoonotique est encore largement mésestimée et méconnue. Un grand nombre de questions restent encore en suspens et constituent un défi pour l'avenir.

b. Quels enjeux pour l'avenir ?

a. Les enjeux de la recherche

Le caractère zoonotique au moins de certains cas d'hépatite E n'est réellement connu que depuis 2003 avec les premiers cas prouvés au Japon. Depuis, la recherche s'intéresse à cette transmission mais les données cliniques sont pauvres. En outre l'absence de

modèle cellulaire efficace ne facilite pas l'avancée de la recherche. Dans l'avenir, l'un des objectifs de la recherche concernant cette maladie sera d'établir les données moléculaires de la transmission du VHE. Ces données aideront par la suite à définir la conduite à tenir face au risque zoonotique. A l'heure actuelle, deux hypothèses principales existent quant au potentiel infectieux du VHE zoonotique.

La première hypothèse propose l'existence de souches porcines particulières possédant la capacité de franchir la barrière d'espèce et ainsi d'infecter l'Homme. Ce potentiel infectieux zoonotique serait le résultat de mutations ou d'autres modifications du génome fréquentes chez les virus à ARN. Dans ce cadre, les enjeux scientifiques seraient d'identifier ces souches et leurs séquences génomiques. La lutte contre l'hépatite E autochtone d'origine zoonotique s'appuierait alors sur la création d'outils moléculaires spécifique de dépistage, on peut penser notamment à des sondes PCR, pour identifier les suidés porteurs. Néanmoins au vu des avancées actuelles de la recherche, cette hypothèse paraît peu probable.

La seconde hypothèse serait que toutes les souches porcines de VHE soient potentiellement à l'origine d'une transmission zoonotique. Néanmoins ce potentiel serait conditionné par de nombreux facteurs, rendant ainsi le franchissement de la barrière d'espèce aléatoire. Parmi les facteurs influençant cette transmission du VHE des suidés à l'Homme, on pourrait évoquer des facteurs environnementaux, la notion de dose infectante, le statut immunitaire de l'hôte... Dans ce cas, le risque zoonotique serait donc virtuellement beaucoup plus important. L'approche prophylactique serait alors complètement différente. Tout l'enjeu consisterait à identifier les facteurs de contamination afin d'élaborer des mesures adaptées et de prévenir la transmission du VHE. Considérons, par exemple, les denrées alimentaires d'origine porcine. Des modifications des processus de fabrication des produits notamment crus ainsi que des recommandations pour la préparation de ces denrées pourraient être à envisager. Concernant ces recommandations, une équipe américaine, dirigée par Feagins, a récemment montré l'efficacité de 2 modes de cuisson sur l'inactivation du VHE dans les foies de porcs contaminés, à savoir l'immersion dans de l'eau bouillante pendant au moins 5 minutes ou la cuisson à la poêle à 191°C (ce qui permet une température interne de 71°C) pendant 5 minutes également [58]. Quant aux personnels exposés à une transmission zoonotique du VHE, des mesures protectrices seraient également à mettre en œuvre avec notamment des recommandations hygiéniques et/ou des équipements adaptés. Un autre volet serait de mettre en place des mesures pour limiter la circulation du virus chez les suidés. Pour

les suidés domestiques, il s'agirait d'une part d'une prophylaxie sanitaire avec une réévaluation et, de là, une amélioration de la conduite d'élevage et de la gestion des déchets, principalement des lisiers afin de limiter la contamination de l'environnement. D'autre part, on pourrait envisager la mise en place d'une prophylaxie médicale avec une vaccination contre le VHE. Celle-ci s'appliquerait alors dans un premier temps aux porcs domestiques mais une vaccination des réservoirs sauvages, sangliers et cerfs principalement, pourrait être à considérer.

Toutefois d'autres enjeux sont à prendre en considération aujourd'hui. L'hépatite E autochtone, bien qu'elle soit de plus en plus fréquemment diagnostiquée, reste une maladie sporadique dans les pays industrialisés. Parmi ces cas, une certaine proportion, encore incertaine, est probablement d'origine zoonotique. Néanmoins, face aux épidémies d'hépatite E entérotransmissible dans les pays à faible niveau d'hygiène et aux nombres conséquents de personnes touchées et de victimes, l'urgence prophylactique se situe peut-être ailleurs. La recherche est ainsi axée depuis quelques années sur la mise en place d'un vaccin humain contre le VHE. De cette façon, des essais de phase 2, en double aveugle, *versus placebo*, ont été conduits en 2005 et 2006 au Népal chez des militaires. Le vaccin testé est un vaccin recombinant utilisant la protéine de capsid [49, 185]. Bien que les résultats d'immunogénicité soient encourageants (protection clinique à 95,5% après l'injection de 3 doses et de 85,7% après 2 doses), le terme pour la disponibilité d'un vaccin n'est pas encore défini [201].

β. Importance des réseaux nationaux et internationaux de surveillance

En raison de l'absence d'une prophylaxie médicale efficace et disponible contre le virus de l'hépatite E, il est d'autant plus important de souligner le rôle de réseaux nationaux et internationaux de surveillance.

Dans le cadre de l'hépatite E autochtone, un suivi de l'infection est indispensable pour augmenter notre connaissance de la maladie. L'un des premiers réflexes à avoir est de sensibiliser le corps médical à cette infection afin que l'hépatite E soit davantage recherchée lors d'une clinique d'hépatite aiguë. L'idéal pour cela serait que la recherche des marqueurs de l'hépatite E entre dans les tests diagnostiques de criblage de base de toute hépatite aiguë. Une fois la démarche diagnostique mise en œuvre, un recensement précis des cas d'hépatite E autochtone accompagné d'une enquête épidémiologique approfondie est nécessaire pour identifier l'origine de la contamination. En France, ce travail est fait par le CNR qui, sous l'égide de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), est l'organisme chargé de la confirmation diagnostique et de la surveillance de cette affection. D'autres organismes nationaux en charge du suivi épidémiologique de l'hépatite E existent dans le monde. De telles organisations sont indispensables tant à l'échelon national qu'au plan international pour suivre la circulation et l'évolution de l'infection par le VHE. Aujourd'hui, il existe au plan européen un réseau de professionnels visant à la prévention et au contrôle des zoonoses et des maladies transmises par voie alimentaire, le réseau « med.vet.net ». En ce qui concerne l'hépatite E, ce réseau travaille actuellement sur le projet « Workpackage 31 ». Ce projet, débuté en Mars 2006 et qui prendra fin en Février 2009, a notamment pour but d'harmoniser les techniques de biologie moléculaire pour la recherche du virus chez l'animal, dans l'eau et dans les denrées alimentaires ainsi que d'augmenter les connaissances en matière d'épidémiologie et de transmission zoonotique. Le rapport annuel de 2007 pour ce projet est disponible à l'adresse suivante : http://www.medvetnet.org/pdf/Newsletter/MVN_AR_2007_WP_31.pdf.

Outre les progrès de la recherche médicale, les réseaux nationaux et internationaux de surveillance de l'hépatite E ont un rôle informatif auprès de la population.

D'une part, il est nécessaire d'informer les personnes susceptibles de voyager dans les zones d'endémie. Comme aucun vaccin n'est encore disponible, il est primordial, pour ces personnes, de mettre l'accent sur les mesures sanitaires optimales à appliquer dans ces régions. Ce type d'information est relativement bien accessible sur internet, à condition de les rechercher. Des recommandations générales sont par exemple mises à disposition des futurs voyageurs sur le portail internet de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr>).

D'autres catégories de personnes doivent être informées des risques liés à cette maladie. C'est particulièrement le cas des personnes travaillant dans la filière porcine, qu'elles soient éleveurs, transporteurs ou encore personnels d'abattoir. Nous reviendrons dans quelques lignes sur les vétérinaires. Pour ces personnes, leur catégorie socioprofessionnelle constitue un facteur de risque. Là également, l'accent doit être mis sur les mesures d'hygiène à respecter pour minimiser le risque de transmission du VHE par voie fécale-orale essentiellement.

Par ailleurs, parce que l'hépatite E autochtone est une zoonose alimentaire, l'information des consommateurs est fondamentale. Pour l'instant, les cas de transmission zoonotique ont eu lieu à partir de viandes ou de foies crus ou insuffisamment cuits. Or nous avons vu, dans la première partie, que le VHE pouvait demeurer virulent jusqu'à plus de 60°C lorsqu'il était chauffé. Informer sur les modes de préparation et notamment de cuisson du porc ou des venaisons est une des priorités. Une étude menée actuellement par l'UMR 1161 de Virologie INRA-AFSSA-ENVA recherche la présence de particules virales de VHE infectieuses dans les salaisons non cuites préparées à base de porc. Si les résultats de cette étude révèlent que du virus infectieux se trouve dans ces catégories d'aliments, le principe de précaution devra s'appliquer et les consommateurs devront être tenus informés du risque potentiel encouru. Malheureusement, cela aura aussi sûrement des répercussions néfastes sur la filière porcine, filière déjà largement en crise à l'heure actuelle.

Nous conclurons ce chapitre sur le rôle du vétérinaire au sein des réseaux de surveillance de l'hépatite E. Nous nous devons de faire partie intégrante de ces réseaux et nous avons un rôle d'information tant auprès des clients éleveurs que des clients propriétaires d'animaux de compagnie parmi lesquels l'espèce porcine est parfois représentée.

CONCLUSION

L'hépatite E est aujourd’hui un problème sanitaire mondial. Pourtant cette maladie est toujours méconnue.

Elle est méconnue d'un point de vue scientifique. En 30 ans de recherches, nos connaissances sont encore faibles : peu de certitudes et beaucoup d'interrogations. Le déficit en modèles *in vitro* ne facilite pas l'avancée de la recherche. Nous ignorons amplement les caractéristiques biologiques du virus ainsi que les modalités de la transmission virale intra- et interspécifique. Autant de pistes qui constituent les enjeux de la recherche sur cette affection pour les années à venir.

D'autre part, l'hépatite E demeure aujourd’hui une maladie méconnue de la population générale.

Dans sa forme endémoépidémique, liée aux génotypes 1 et 2, elle est la première cause d'hépatites virales dans les pays à faible niveau d'hygiène, touchant des milliers de personnes. Face à l'absence de traitement préventif et curatif, sensibiliser les populations sur les mesures de prophylaxie sanitaire est un devoir de santé publique.

Dans son entité autochtone, évoluant dans les pays industrialisés, l'hépatite E est longtemps restée une maladie singulière, une maladie du voyageur. Cependant avec le développement d'outils diagnostiques sensibles et spécifiques et la découverte du caractère zoonotique du VHE de génotypes 3 et 4, on se rend compte aujourd’hui que l'hépatite E n'est pas une affection si marginale. Bien qu'encore largement indéterminée, l'hépatite E d'origine zoonotique est une réalité. En présence d'un virus à ARN évoluant rapidement et face au caractère ubiquitaire du virus de l'hépatite E dans la population porcine, le risque zoonotique ne devrait pas être négligé. A ce jour, seuls des cas de transmission zoonotique alimentaire ont été prouvés. Néanmoins, on ne peut exclure d'autres modes de franchissement de la barrière d'espèce. Avoir conscience du passage potentiel du VHE du porc à l'Homme est alors primordial. Et cela est d'autant plus vrai que le porc est à l'heure actuelle le candidat le plus prometteur pour les xénotransplantations.

En tant que vétérinaires, nous sommes au contact de l'espèce porcine. Nous sommes de ce fait un maillon essentiel de l'épidémirosurveillance de l'hépatite E. De plus, nous nous devons d'assumer notre rôle de garant de la Santé Publique Vétérinaire, ne serait-ce qu'en nous tenant informés et en informant. Par cette thèse, j'espère ainsi contribuer à faire prendre conscience à la profession de son importance et de sa complémentarité dans la surveillance de l'infection par le virus de l'hépatite E.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGGARWAL R., KAMILI S., SPELBRING J., KRAWCZYNSKI K. Experimental studies on subclinical hepatitis E virus infection in Cynomolgus Macaques. *J. Infect. Dis.*, 2001, **184**, 1380-1385.
2. AGGARWAL R., KINI D., SOFAT S., NAIK S.R., KRAWCZYNSKI K. Duration of viraemia and faecal viral excretion in acute hepatitis E. *Lancet*, 2000, **356**, 1081-1082.
3. AGGARWAL R., NAIK S.R., COURSAGET P. A large hepatitis E epidemic in Kanpur, India. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds). *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 186-192.
4. ARANKALLE V.A., CHOBE L.P., CHADHA M.S. Type-IV Indian swine HEV infects rhesus monkeys. *J. Viral Hep.*, 2006, **13**, 742-745.
5. ARANKALLE V.A., JOSHI M.V., KULKARNI A.M., GANDHE S.S., CHOBE L.P., RAUTMARE S.S. *et al.* Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in different Indian animal species. *J. Viral. Hep.*, 2001, **8**, 223-227.
6. ARANKALLE V.A., PARANJAPE S., EMERSON S.U., PURCELL R.H., WALIMBE A.M. Phylogenetic analysis of hepatitis E virus isolates from India (1976-1993). *J. Gen. Virol.*, 1999, **80**, 1691-1700.
7. AUBRY P., NIEL L., NIYONGABO T., FLOCH J-J., MOREAU D., KERGUELEN S. *et al.* Seroprevalence of hepatitis E in Burundi adults. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds). *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 247-249.

8. BALAYAN M.S., ANDJAPRIDZE A.G., SAVINSKAYA S.S., KETILADZE E.S., BRAGINSKY D.M., SAVINOV A.P. *et al.* Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*, 1983, **20**, 23-31.
9. BANKS M., BENDALL R., GRIERSON S., HEATH G., MITCHELL J., DALTON H. Human and porcine hepatitis E virus strains, United Kingdom. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, **10**, 953-955.
10. BERKE T., MATSON D.O. Reclassification of the *Caliciviridae* into distinct genera and exclusion of hepatitis E virus from the family on the basis of comparative phylogenetic analysis. *Arch. Virol.*, 2000, **145**, 1421-1436.
11. BILE K., ISSE A., MOHAMUD O., ALLEBECK P., NILSSON L., NORDER H. *et al.* Contrasting roles of rivers and wells as sources of drinking water on attack and fatality rates in a hepatitis E epidemic in Somalia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1994, **51**, 466-474.
12. BLUMBERG B.S., ALTER H.J., VISNICH S. A new antigen in leukemia sera. *JAMA*, 1965, **191**, 541-546.
13. BORGEN K., HERREMANS T., DUIZER E., VENNEMA H., RUTJES S., BOSMAN A. *et al.* Non-travel related hepatitis E virus genotype 3 infections in the Netherlands; a case series 2004-2006. *BMC Infect. Dis.*, [online] 2008, 8. [<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/8/61>]. (consulté le 8 Décembre 2008).
14. BOUWKNEGT M., FRANKENA K., RUTJES S.A., WELLENBERG G.J., DE RODEA HUSMAN A.M., VAN DER POEL W.H.M. *et al.* Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Vet. Res.*, [online] 2008, 39. [<http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2008017>]. (consulté le 8 Décembre 2008).

- 15.** BOUWKNEGT M., LODDER-VERSCHOOR F., VAN DER POEL W.H.M., RUTJES S.A., MARIA A., HUSMAN R. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *J. Food. Protect.*, 2007, **70**, 2889-2895.
- 16.** BUISSON Y., COURSAGET P., BERCION R., ANNE D., DEBORD T., ROUE R. Hepatitis E virus infection in soldiers sent to endemic regions. *Lancet*, 1994, **344**, 1165-1166.
- 17.** BUISSON Y., GRANDADAM M., NICAND E., CHEVAL P., VAN CUYCK-GANDRE H., INNIS B. *et al.* Identification of a novel hepatitis E virus in Nigeria. *J. Gen. Virol.*, 2000, **81**, 903-909.
- 18.** BUTI M., PLANS P., DOMINGUEZ A., JARDI R., RODRIGUEZ FRIAS F., ESTEBAN R. *et al.* Prevalence of hepatitis E virus infection in children in the Northeast of Spain. *Clin. Vacc. Immunol.*, 2008, **15**, 732-734.
- 19.** CARON M., ENOUF V., THAN S.C., DELLAMONICA L., BUISSON Y., NICAND E. Identification of genotype 1 hepatitis E virus in samples from swine in Cambodia. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, **44**, 3440-3442.
- 20.** CHATTERJEE R., TSAREV S., PILLOT J., COURSAGET P., EMERSON S.U., PURCELL R.H. African strains of hepatitis E virus that are distinct from Asian strains. *J. Med. Virol.*, 1997, **53**, 139-144.
- 21.** CHAUHAN A., DILAWARI J.B., CHAWLA Y.K., JAMEEL S., KAUR U., GANGULY N.K. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. *Lancet*, 1993, **341**, 149-150.
- 22.** CHRISTENSEN P.B., ENGLE R.E., HJORT C., HOMBURG K.M., VACH W., GEORGSEN J. *et al.* Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clin. Infect. Dis.*, 2008, **47**, 1026-1031.

- 23.** CLAYSON E.T., INNIS B.L., MYINT K.S., NARUPITI S., VAUGHN D.W., GIRI S. *et al.* Detection of hepatitis E virus infection among domestic swine in the Kathmandu Valley of Nepal. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1995, **53**, 228-232.
- 24.** CLEMENTE-CASARES P., PINA S., BUTI M., JARDI R., MARTIN M., BOFILL-MAS S. *et al.* Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, **9**, 448-454.
- 25.** COLSON P., BORENTAIN P., MOTTE A., LAGRANGE X., KABA M., HENRY M. *et al.* First human cases of hepatitis E virus with genotype 3c strains. *J. Clin. Virol.*, 2007, **40**, 318-320.
- 26.** COLSON P., COZE C., GILLIAN P., HENRY M., DE MICCO P., TAMELET C. Transfusion associated hepatitis E, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, **13**, 648-649.
- 27.** COLSON P., KABA M., BERNIT E., MOTTE A., TAMALET C. Hepatitis E associated with surgical training on pigs. *Lancet*, 2007, **370**, 935-935.
- 28.** COOPER K., HUANG F.F., BATISTE L., RAYO C.D., BEZANILLA J.C., TOTH T.E. *et al.* Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective Human population. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, **43**, 1684-1688.
- 29.** COURSAGET P., BUISSON Y., ENOGAT N., NAHOR N'GAWARA M., ROUE R., MOLINIE C. *et al.* Hepatitis E virus infections in France and Africa. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds). *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 201-212.
- 30.** COWIE B.C., ADAMOPOULOS J., CARTER K., KELLY H. Hepatitis E infection, Victoria, Australia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 482-484.

31. DALTON H.R., FELLOWS H.J., GANE E.J., WONG P., GERRED S., SCHROEDER B. *et al.* Hepatitis E in New Zealand. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007, **22**, 1236-1240.
32. DALTON H.R., STABLEFORTH W., HAZELDINE S., THURAIRAJAH P., RAMNARACE R., WARSHOW U. *et al.* Autochthonous hepatitis E in Southwest England: A comparison with hepatitis A. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, **27**, 579-585.
33. DALTON H.R., THURAIRAJAH P.H., FELLOWS H.J., HUSSAINI H.S., MITCHELL J., BENDALL R. *et al.* Autochthonous hepatitis E in southwest England. *J. Viral. Hep.*, 2007, **14**, 304-309.
34. DE DEUS N., PERALTA B., PINA S., ALLEPUZ A., MATEU E., VIDAL D. *et al.* Epidemiological study of hepatitis E virus in European wild boar (*Sus scrofa*) in Spain. *Vet. Microbiol.*, 2008, **129**, 163-170.
35. DE DEUS N., SEMINATI C., PINA S., MATEU E., MARTIN M., SEGALES J. Detection of hepatitis E virus in liver, mesenteric lymph node, serum, bile and faeces of naturally infected pigs affected by different pathological conditions. *Vet. Microbiol.*, 2007, **119**, 105-114.
36. DE SILVA A.N., MUDDU A.K., IREDALE J.P., SHERON N., KHAKOO S.I., PELOSI E. Unexpectedly high incidence of indigenous acute hepatitis E within South Hampshire: time for routine testing? *J. Med. Virol.*, 2008, **80**, 283-288.
37. DEWA NYOMAN WIBAWA I., SURYADARMA I.G.A., TSUDA F., MATSUMOTO Y., NINOMIYA M., TAKAHASHI M. *et al.* Identification of genotype 4 hepatitis E virus strains from a patient with acute hepatitis E and farm pigs in Bali, Indonesia. *J. Med. Virol.*, 2007, **79**, 1138-1146.

- 38.** DING X., LI T-C., HAYASHI S., MASAKI N., HUY TRAN T-T., HIRANO M. *et al.* Present state of hepatitis E virus epidemiology in Tokyo, Japan. *Hepatol. Res.*, 2003, **27**, 169-173.
- 39.** DIVIZIA M., GABRIELI R., STEFANONI M.L., RENGANATHAN E., EL GHAZZAWI E., KADER O.A. *et al.* HAV and HEV infection in hospitalised hepatitis patients in Alexandria, Egypt. *Eur. J. Epidemiol.*, 1999, **15**, 603-609.
- 40.** DOOLEY D.P. History of U.S. military contributions to the study of viral hepatitis. *Mil. Med.*, 2005, **170**, 71-76.
- 41.** DROBENIUC J., FAVOROV M.O., SHAPIRO C.N., BELL B.P., MAST E.E., DADU A. *et al.* Hepatitis E virus antibody prevalence among persons who work with swine. *J. Infect. Dis.*, 2001, **184**, 1594-1597.
- 42.** DUCANCELLÉ A., PAYAN C., NICAND E., LE GUILLOU H., CALES P., LUNEL-FABIANI F. Intrafamilial hepatitis E in France. *J. Clin. Virol.*, 2007, **39**, 51-53.
- 43.** ELKADY A., TANAKA Y., KURBANOV F., HIRASHIMA N., SUGIYAMA M., KHAN A. *et al.* Evaluation of anti-hepatitis E virus (HEV) immunoglobulin A in a serological screening for HEV infection. *J. Gastroenterol.*, 2007, **42**, 911-917.
- 44.** ELOIT M. Anthropozoonoses : La barrière d'espèce. *Bull. Acad. Natl. Med.*, 1999, **59**, 435-441.
- 45.** EMERSON S.U., ARANKALLE V.A., PURCELL R.H., Thermal stability if hepatitis E virus. *J. Infect. Dis.*, 2005, **192**, 930-933.

- 46.** EMERSON S.U., CLEMENTE-CASARES P., MOIDUDDIN N., ARANKALLE V.A., TORIAN U., PURCELL R.H. Putative neutralization epitopes and broad cross-genotype neutralization of hepatitis E virus confirmed by a quantitative cell-culture assay. *J. Gen. Virol.*, 2006, **87**, 697-704.
- 47.** EMERSON S.U., NGUYEN H., GRAFF J., STEPHANY D.A., BROCKINGTON A., PURCELL R.H. *In vitro* replication of hepatitis E virus (HEV) genomes and of an HEV replicon expressing green fluorescent protein. *J. Virol.*, 2004, **78**, 4838-4846.
- 48.** EMERSON S.U., PURCELL R.H. Hepatitis E virus. *Rev. Med. Virol.*, 2003, **13**, 145-154.
- 49.** EMERSON S.U., PURCELL R.H. Recombinant vaccines for hepatitis E. *Trends Mol. Med.*, 2001, **7**, 462-466.
- 50.** EMERSON S.U., ZHANG M., MENG X-J., NGUYEN H., ST CLAIRE M., GOVINDARAJAN S. *et al.* Recombinant hepatitis E virus genomes infectious for primates: Importance of capping and discovery of cis-reactive element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, **98**, 15270-15275.
- 51.** ENGLE R.E., YU C., EMERSON S.U., MENG X-J., PURCELL R.H. Hepatitis E virus (HEV) capsid antigens derived from viruses of human and swine origin are equally efficient for detecting anti-HEV by enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 4576-4580.
- 52.** ERKER J.C., DESAI S.M., SCHLAUDER G.G., DAWSON G.J., MUSHAHWAR I.K. A hepatitis E virus variant from the United States: molecular characterization and transmission in cynomolgus macaques. *J. Gen. Virol.*, 1999, **80**, 681-690.
- 53.** ESCRIBA J.M., NAKOUNE E., RECIO C., MASSAMBA P.M., MATSIKA-CLAUQUIN M.D., GOUMBA C. *et al.* Hepatitis E, Central Africa Republic. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, **14**, 681-682.

- 54.** FAUQUET C.M., FARGETTE D., International Committee on Taxonomy of viruses and the 3,142 unassigned species. *Virol. J.*, [online] 2005, 2. [<http://www.virologyj.com/content/2/1/64>]. (consulté le 8 Décembre 2008].
- 55.** FAUQUET C.M., MAYO M.A., MANILOFF J., DESSELBERGER U., BALL L.A. *Virus taxonomy: VIIth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. 2nd Ed. London: Elsevier Academic Press, 2005, 1162p.
- 56.** FAVOROV M.O., KOSOY M.Y., TSAREV S.A., CHILDS J.E., MARGOLIS H.S. Prevalence of antibody to hepatitis E virus among rodents in the United States. *J. Infect. Dis.*, **181**, 449-455.
- 57.** FEAGINS A.R., OPRIESSNIG T., GUENETTE D.K., HALBUR P.G., MENG X-J. Detection and characterisation of infectious hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *J. Gen. Virol.*, 2007, **88**, 912-917.
- 58.** FEAGINS A.R., OPRIESSNIG T., GUENETTE D.K., HALBUR P.G., MENG X-J. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int. J. Food. Microbiol.*, 2008, **123**, 32-37.
- 59.** FEAGINS A.R., OPRIESSNIG T., HUANG Y.W., HALBUR P.G., MENG X-J. Cross-species infection of specific-pathogen-free pigs by a genotype 4 strain of Human hepatitis E virus. *J. Med. Virol.*, 2008, **80**, 1379-1386.
- 60.** FEINSTONE S.M., KAPIKIAN A.Z., PURCELL R.H. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science*, 1973, **182**, 1026-1028.
- 61.** FRY K.E., TAM A.W., SMITH M.M., KIM J.P., LUK K-C., YOUNG L.M. *et al.* Hepatitis E virus (HEV): strain variation in the non-structural gene region encoded consensus motifs for an RNA-dependant RNA polymerase and an ATP/GTP binding site. *Virus Genes*, 1992, **6**, 173-185.

- 62.** FUKUDA S., SUNAGA J., SAITO N., FUJIMURA K., ITOH Y., SASAKI M. *et al.* Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among Japanese blood donors: identification of three donors infected with a genotype 3 hepatitis E virus. *J. Med. Virol.*, 2004, **74**, 554-561.
- 63.** GARKAVENKO O., OBRIADINA A., MENG J., ANDERSON D.A., BENARD H.J., SCHROEDER B.A. *et al.* Detection and characterization of swine hepatitis E virus in New Zealand. *J. Med. Virol.*, 2001, **65**, 525-529.
- 64.** GHABRAH T.M., TSAREV S., YARBOURGH P.O., EMERSON S.U., STRICKLAND G.T., PURCELL R.H. Comparison of tests for antibody to hepatitis E virus. *J. Med. Virol.*, 1998, **55**, 134-137.
- 65.** GOENS S.D., PERDUE M.L. Hepatitis E viruses in humans and animals. *Anim. Health. Res. Rev.*, 2004, **5**, 145-156.
- 66.** GORBALENYA A.E., BLINOV V.M., DONCHENKO A.P., KOONIN E.V. An NTP-binding motif is the most conserved sequence in a highly diverged monophyletic group of proteins involved in positive strand RNA viral replication. *J. Mol. Evol.*, 1989, **28**, 256-268.
- 67.** GORBALENYA A.E., DONCHENKO A.P., BLINOV V.M., KOONIN E.V. Cysteine proteases of positive strand RNA viruses and chymotrypsin-like serine proteases. A distinct protein superfamily with a common structural fold. *FEBS Lett.*, 1989, **243**, 103-114.
- 68.** GORBALENYA A.E., KOONIN E.V., DONCHENKO A.P., BLINOV V.M. A novel superfamily of nucleoside triphosphate-binding motif containing proteins which are probably involved in duplex unwinding in DNA and RNA replication and recombination. *FEBS Lett.*, 1988, **235**, 16-24.

69. GORBALENYA A.E., KOONIN E.V., LAI M.M-C. Putative papain-related thiol proteases of positive-strand RNA viruses. Identification of rubi- and aphtovirus proteases and delineation of a novel conserved domain associated with proteases of rubi-, alpha- and coronaviruses. *FEBS Lett.*, 1991, **288**, 201-205.
70. GOUVEA V., SNELLINGS N., JAY COHEN S., WARREN R.L., MYINT K.S.A., SHRESTHA M.P. *et al.* Hepatitis E virus in Nepal: similarities with the Burmese and Indian variants. *Virus Res.*, 1997, **52**, 87-96.
71. GRAFF J., NGUYEN H., YU C., ELKINS W.R., ST CLAIRE M., PURCELL R.H. *et al.* The opening reading frame 3 gene of hepatitis E virus contains a cis-reactive element and encoded a protein required for infection of macaques. *J. Virol.*, 2005, **79**, 6680-6689.
72. GRANDADAM M., TEBBAL S., CARON M., SIRIWARDANA M., LAROUZE B., KOECK J-L. *et al.* Evidence for hepatitis E virus quasispecies. *J. Gen. Virol.*, 2004, **85**, 3189-3194.
73. GREEN K.Y., ANDO T., BALAYAN M.S., BERKE T., CLARKE I.N., ESTES M.K. *et al.* Taxonomy of Caliciviruses. *J. Infect. Dis.*, 2000, **181**, 322-330.
74. GUPTA D.N., SMETANA H.F. The histopathology of viral hepatitis as seen in the Delhi epidemic (1955-56). *Indian J. Med. Res.*, 1957, **45**, 101-113.
75. HAAGSMA E.B., VAN DEN BERG A.P., PORTE R.J., BENNE C.A., VENNEMA H., REIMERINK J.H.J. *et al.* Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transplantation*, 2008, **14**, 547-553.
76. HALBUR P.G., KASORNDORKBUA C., GILBERT C., GUENETTE D., POTTERS M.B., PURCELL R.H. *et al.* Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a Human. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, **39**, 918-923.

77. HAQSHENAS G., SHIVAPRASAD H.L., WOOLCOCK P.R., READ D.H., MENG X-J. Genetic identification and characterization of a novel virus related to Human hepatitis E virus from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in the United-States. *J. Gen. Virol.*, 2001, **82**, 2449-2462.
78. HE S., MIAO J., ZHENG Z., WU T., XIE M., TANG M. *et al.* Putative receptor-binding sites of hepatitis E virus. *J. Gen. Virol.*, 2008, **89**, 245-249.
79. HERREMANS M., DUIZER E., JUSIC E., KOOPMANS M.P.G. Detection f hepatitis E virus specific immunoglobulin A in patients infected with hepatitis E virus genotype 1 and 3. *Clin. Vacc. Immunol.*, 2007, **14**, 276-280.
80. HERREMANS M., VENNEMA H., BAKKER J., VAN DER VEER B., DUIZER E., BENNE C.A. *et al.* Swine-like hepatitis E viruses are caused of unexplained hepatitis in the Netherlands. *J. Viral Hep.*, 2007, **14**, 140-146.
81. HIJKATA M., HAYASHI S., THI TRINH N., DANG HA L., OHARA H., SHIMIZU Y.K. *et al.* Genotyping of hepatitis E virus from Vietnam. *Intervirology*, 2002, **45**, 101-104.
82. HIRANO M., DING X., LI T-C., TAKEDA N., KAWABATA H., KOIZUMI N. *et al.* Evidence for widespread infection of hepatitis E virus among wild rats in Japan. *Hepatol. Res.*, 2003, **27**, 1-5.
83. HSIEH S-Y., MENG X-J., WU Y-H., LIU S-T., TAM A.W., LIN D-Y. *et al.* Identity of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with Taiwan isolates of human hepatitis E virus. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, **37**, 3828-3834.
84. HUANG C.C., NGUYEN D., FERNANDEZ J., YUN K.Y., FRY K.E., BRADLEY D.W. *et al.* Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). *Virology*, 1992, **191**, 550-558.

- 85.** HUANG F.F., HAQSHENAS G., GUENETTE D.K., HALBUR P.G., SCHOMMER S.K., PIERSON F.W. *et al.* Detection by Reverse Transcriptase-PCR and genetic characterization of field isolates of swine hepatitis E virus from pigs in different geographic regions of the United States. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 1326-1332.
- 86.** HUANG F.F., SUN Z.F., EMERSON S.U., PURCELL R.H., SHIVAPRASAD H.L., PIERSON F.W. *et al.* Determination and analysis of the complete genomic sequence of avian hepatitis E virus (avian HEV) and attempts to infect rhesus monkeys with avian HEV. *J. Gen. Virol.*, 2004, **85**, 1609-1618.
- 87.** HUANG R., LI D., WEI S., LI Q., YUAN X., GENG L. *et al.* Cell culture of sporadic hepatitis E virus in China. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 1999, **6**, 729-733.
- 88.** HUANG R., NAKAZONO N., ISHII K., LI D., KAWAMATA O., KAWAGUCHI R. *et al.* Hepatitis E virus (87A strain) propagated in A549 cells. *J. Med. Virol.*, 1995, **47**, 299-302.
- 89.** HUANG W., ZHANG H., HARRISON T.J., LANG S., HUANG G., WANG Y. Cross-protection of hepatitis E virus genotype 1 and 4 in Rhesus macaques. *J. Med. Virol.*, 2008, **80**, 824-832.
- 90.** HUSSAINI S.H., SKIDMORE S.J., RICHARDSON P., SHERRATT L.M., COOPER B.T., O'GRADY J.G. Severe hepatitis E infection during pregnancy. *J. Viral Hep.*, 1997, **4**, 51-54.
- 91.** IBARRA H. Cambios en la epidemiología de las hepatitis virales en Chile y consideraciones en estrategias de prevención. *Rev. Med. Chile*, 2007, **135**, 229-239.
- 92.** IJAZ S., ARNOLD E., BANKS M., BENDALL R.P., CRAMP M.E., CUNNINGHAM R. *et al.* Non-travel associated hepatitis E in England and Wales: Demographic, clinical, and molecular epidemiological characteristics. *J. Infect. Dis.*, 2005, **192**, 1166-1172.

93. INOUE J., TAKAHASHI M., ITO K., SHIMOSEGAWA T., OKAMOTO H. Analysis of human and swine hepatitis E virus (HEV) isolates of genotype 3 in Japan that are only 81-83% similar to reported HEV isolates of the same genotype over the entire genome. *J. Gen. Virol.*, 2006, **87**, 2363-2369.
94. JIANG X., WANG M., WANG K., ESTES M.K. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology*, 1993, **195**, 51-61.
95. JILANI N., DAS B.C., HUSAIN S.A., BAWEJA U.K., CHATTOPADHYA D., GUPTA R.K. *et al.* Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007, **22**, 676-682.
96. JUNG K., KANG B., SONG D.S., CHAE C. Prevalence and genotyping of hepatitis E virus in swine population in Korea between 1995 and 2004: a retrospective study. *Vet. J.*, 2007, **173**, 683-687.
97. KABRANE-LAZIZI Y., FINE J.B., ELM J., GLASS G.E., HIGA H., DIWAN A. *et al.* Evidence for widespread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1999, **61**, 331-335.
98. KABRANE-LAZIZI Y., MENG X-J., PURCELL R.H., EMERSON S.U. Evidence that the genomic RNA of hepatitis E virus is capped. *J. Virol.*, 1999, **73**, 8848-8850.
99. KABRANE-LAZIZI Y., ZHANG M., PURCELL R.H., MILLER K.D., DAVEY R.T., EMERSON S.U. Acute hepatitis caused by a novel strain of hepatitis E virus most closely related to United States strains. *J. Gen. Virol.*, 2001, **82**, 1687-1693.
100. KACI S., NOCKLER K., JOHNE R. Detection of hepatitis E virus in archived German wild boar serum samples. *Vet. Microbiol.*, 2008, **128**, 380-385.

101. KAMAR N., MANSUY J-M., ESPOSITO L., LEGRAND-ABRAVANEL F., PERON J-M., DURAND D. *et al.* Acute hepatitis and renal function impairment related to infection by hepatitis E virus in a renal allograft recipient. *Am. J. Kid. Dis.*, 2005, **45**, 193-196.
102. KAMAR N., SELVES J., MANSUY J-M., OUEZZANI L., PERON J-M., GUITARD J. *et al.* Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N. Eng. J. Med.*, 2008, **358**, 811-817.
103. KAR P., JILANI N., HUSAIN S.A., PASHA S.T., ANAND R., RAI A. *et al.* Does hepatitis E viral load and genotypes influence the final outcome of acute liver failure during pregnancy? *Am. J. Gastroenterol.*, 2008, **103**, 2495-2501.
104. KASORNDORKBUA C., GUENETTE D.K., HUANG F.F., THOMAS P.J., MENG X-J., HALBUR P.G. Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 5047-5052.
105. KASORNDORKBUA C., OPRIESSNIG T., HUANG F.F., GUENETTE D.K., THOMAS P.J., MENG X-J. *et al.* Infectious swine hepatitis E virus is present in pig manure storage facilities on United States farms, but evidence of water contamination is lacking. *App. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 7831-7837.
106. KASORNDORKBUA C., THACKER B.J., HALBUR P.G., GUENETTE D.K., BUITENWERF R.M., ROYER R.L. *et al.* Experimental infection of pregnant gilts with swine hepatitis E virus. *Can. J. Vet. Res.*, 2003, **67**, 303-306.
107. KHUROO M.S. Study of an epidemic of non-A non-B hepatitis. Possibility of another human hepatitis virus distinct from post transfusion non-A non-B type. *Am. J. Med.*, 1980, **6**, 818-824.

108. KHUROO M.S., DUERMEYER W., ZARGAR S.A., AHANGER M.A., SHAH M.A. Acute sporadic non-A non-B hepatitis in India. *Am. J. Epidemiol.*, 1983, **118**, 360-364.
109. KHUROO M.S., KAMILI S., JAMEEL S. Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet*, 1995, **345**, 1025-1026.
110. KHUROO M.S., RUSTGI V.K., DAWSON G.J., MUSHAHWAR I.K., YATTOO G.N., KAMILI S. *et al.* Spectrum of hepatitis E virus infection in India. *J. Med. Virol.*, 1994, **43**, 281-286.
111. KOIZUMI Y., ISODA N., SATO Y., IWAKI T., ONO K., IDO K. *et al.* Infection of a Japanese patient by genotype 4 hepatitis E virus while travelling in Vietnam. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 3883-3885.
112. KOONIN E.V. The phylogeny of RNA-dependent RNA polymerases of positive-strand RNA viruses. *J. Gen. Virol.*, 1991, **72**, 2197-2206.
113. KOONIN E.V., GORBALENYA A.E., PURDY M.A., ROZANOV M.N., REYES G.R., BRADLEY D.W. Computer-assisted assignment of functional domains in the non-structural polyprotéine of hepatitis E virus. Delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, **89**, 8259-8263.
114. KRAWCZYNSKI K., AGGARWAL R., KAMILI S. Hepatitis E. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 2000, **14**, 669-687.
115. KRAWCZYNSKI K., McCaUSTLAND K., MAST E., YARBOURGH P.O., PURDY M., FOVOROV M.O. *et al.* Elements of pathogenesis of HEV infection in man and in experimentally infected primates. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds). *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 317-328.

116. KULKARNI M., ARANKALLE V.A. The detection and characterization of hepatitis E virus in pig livers from retail markets of India. *J. Med. Virol.*, 2008, **80**, 1387-1390.
117. KUMAGAI M., NISHII Y., KOIZUMI Y., AKAHANE Y. Domestic infection of hepatitis E in Japan. *Int. Med.*, 2004, **43**, 807-810.
118. KUMAR A., BENIWAL M., KAR P., SHARMA J.B., MURTHY N.S. Hepatitis E in pregnancy. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 2004, **85**, 240-244.
119. KUMAR M., SHARMA B.C., SARIN S.K. Hepatitis E virus as an aetiology of acute exacerbation of previously unrecognized asymptomatic patients with hepatitis B virus-related chronic liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2008, **23**, 883-887.
120. KUMAR R.M., UDUMAN S., RANA S., KOCHIYIL J.K., USMANI A., THOMAS L. Sero-prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Repro. Biol.*, 2001, **100**, 9-15;
121. KUMAR S.I., NAIK S., SHARMA B., AGGARWAL R. Presence of hepatitis E virus in sewage in Northern India: frequency and seasonal pattern. *J. Med. Virol.*, 2007, **79**, 1827-1831.
122. KUNO A., IDO K., ISODA N., SATOH Y., ONO K., SATOH S. *et al.* Sporadic acute hepatitis E of a 47-years-old man whose pet cat was positive for antibody to hepatitis E virus. *Hepatol. Res.*, 2003, **26**, 237-242.
123. KWON P.Y., SCHLAUDER G.G., CARPENTER H.A., MURPHY P.J., ROSENBLATT J.E., DAWSON G.J. *et al.* Acute hepatitis E by a new isolate acquired in the United States. *Mayo. Clin. Proc.*, 1997, **72**, 1133-1136.

124. LEBLANC D., WARD P., GAGNE M-J., POITRAS E., MULLER P., TROTTIER Y-L. *et al.* Presence of hepatitis E virus in a naturally infected swine herd from nursery to slaughter. *Int. J. Food. Microbiol.*, 2007, **117**, 160-166.
125. LEE S-H., KANG S-C., KIM D-Y., BAE J-H., KIM J-H. Detection of swine hepatitis E virus in the porcine hepatic lesion in Jeju Island. *J. Vet. Sci.*, 2007, **8**, 51-55.
126. LEE Y.H., HA Y., AHN K.K., CHAE C. Localisation of swine hepatitis E virus in experimentally infected pigs. *Vet. J.*, “sous presse”.
127. LEWIS H.C., BOISSON S., IJAZ S., HEWITT K., NGUI S.L., BOXALL E. *et al.* Hepatitis E in England and Wales. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, **14**, 165-167.
128. LI R-C., GE S-X., LI Y-P., ZHENG Y-J., NONG Y., GUO Q-S. *et al.* Seroprevalence of hepatitis E virus infection, rural Southern people's Republic of China. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**, 1682-1688.
129. LI T-C., CHIJIWA K., SERA N., ISHIBASHI T., ETOH Y., SHINOHARA Y. *et al.* Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 1958-1960.
130. LI T-C., MIYAMURA T., TAKEDA N. Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2007, **76**, 170-172.
131. LI T-C., TAKEDA N., MIYAMURA T., MATSUURA Y., WANG J.C.Y., ENGVALL H. *et al.* Essential elements of the capsid protein for self-assembly into empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J. Virol.*, 2005, **79**, 12999-13006.

132. LI W., SHE R., WEI H., ZHAO J., WANG Y., SUN Q. *et al.* Prevalence of hepatitis E virus in swine under different breeding environment and abattoir in Beijing, China. *Vet. Microbiol.*, 2009, **133**, 75-83.
133. LI X., ZHAO C., HARRISON T.J., SONG A., FAN J., ZHANG J. *et al.* Investigation of hepatitis E virus infection in swine from Hunan province, China. *J. Med. Virol.*, 2008, **80**, 1391-1396.
134. LOPES DOS SANTOS D.R., LAMARCA VITRAL C., SALATE DE PAULA V., MARCHEVSKY R.S., FREITAS LOPES J., COIMBRA GASPAR A.M. *et al.* Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. *Vet. J.*, “sous presse”.
135. LORENZO F.R., TSATSRALT-OD B., GANBAT S., TAKAHASHI M., OKAMOTO H. Analysis of the full-length genome of hepatitis E virus isolates obtained from farm pigs in Mongolia. *J. Med. Virol.*, 2007, **79**, 1128-1137.
136. LU L., LI C., HADEDORN C.H. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev. Med. Virol.*, 2006, **16**, 5-36.
137. MAGDEN J., TAKEDA N., LI T., AUVINEN P., AHOLA T., MIYAMURA T. *et al.* Virus-specific mRNA capping enzyme encoded by hepatitis E virus. *J. Virol.*, 2001, **75**, 6249-6255.
138. MAILA H.T., BOWYER S.M., SWANEPOEL R. Identification of a new strain of hepatitis E virus from an outbreak in Namibia in 1995. *J. Gen. Virol.*, 2004, **85**, 89-95.

139. MANEERAT Y., CLAYSON E.T., MYINT K.S., YOUNG G.D., INNIS B.L. Experimental infection of the laboratory rat with the hepatitis E virus. *J. Med. Virol.*, 1996, **48**, 121-128.
140. MANSUY J-M., ABRAVANEL F., MIEDOUGE M., MENGELLE C., MERVIEL C., DUBOIS M. *et al.* Acute hepatitis E in South-west France over a 5-year period. *J. Clin. Virol.*, “sous presse”.
141. MANSUY J-M., LEGRAND-ABRAVANEL F., CALOT J-P., PERON J-M., ALRIC L., AGUDO S. *et al.* High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. *J. Med. Virol.*, 2008, **80**, 289-293.
142. MANSUY J-M., PERON J-M., BUREAU C., ALRIC L., VINEL J-P., IZOPET J. Immunologically silent autochthonous acute hepatitis E virus infection in France. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 912-913.
143. MARTELLI F., CAPRIOLI A., ZENGARINI M., MARATA A., FIEGNA C., DI BARTOLO I. *et al.* Detection of hepatitis E virus (HEV) in demographic managed wild boar (*Sus scrofa scrofa*) population in Italy. *Vet. Microbiol.*, 2008, **126**, 74-81.
144. MASUDA J-I., YANO K., TAMADA Y., TAKII Y., ITO M., OMAGARI K. *et al.* Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. *Hepatol. Res.*, 2005, **31**, 178-183.
145. MATHIESEN L.R., SKINOJ P., NIELSEN J.O., PURCELL R.H., WONG D., RANEK L. Hepatitis type A, B, and non-A non-B in fulminant hepatitis. *Gut.*, 1980, **21**, 72-77.
146. MATSUBAYASHI K., KANG J-H., SAKATA H., TAKAHASHI K., SHINDO M., KATO M. *et al.* A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion*, 2008, **48**, 1368-1375.

147. MATSUDA H., OKADA K., TAKAHASHI K., MISHIRO S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from wild boar. *J. Infect. Dis.*, 2003, **188**, 944-944.
148. MATSUURA Y., SUZUKI M., YOSHIMATSU K., ARIKAWA J., TAKASHIMA I., YOKOYAMA M. *et al.* Prevalence of antibody to hepatitis E virus among sika deer, *Cervus nippon*, in Japan. *Arch. Virol.*, 2007, **152**, 1375-1381.
149. McCALLUM F.O. Homologous serum jaundice. *Lancet*, 1947, **2**, 691-692.
150. McCARTLAND K.A., KRAWCZYNSKI K., EBERT J.W., BALAYAN M.S., ANDJAPARIDZE A.G., SPELBRING J.E. *et al.* Hepatitis E virus infection in chimpanzees: a retrospective analysis. *Arch. Virol.*, 2000, **145**, 1909-1918.
151. McCREARY C., MARTELLI F., GRIERSON S., OSTANELLO F., NEVEL A., BANKS M. Excretion of hepatitis E virus by pigs of different ages and its presence in slurry stores in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 2008, **163**, 261-265.
152. MECHNIK L., BERGMAN N., ATTALI M., BEERGABEL M., MOSENKIS B., SOKOLOWSKI N. *et al.* Acute hepatitis E virus infection presenting as a prolonged cholestatic jaundice. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2001, **33**, 421-422.
153. MENG X-J., DEA S., ENGLE R.E., FRIENDSHIP R., LYOO Y.S., SIRINARUMITR T. *et al.* Prevalence of antibodies to the hepatitis E virus in pigs from countries where hepatitis E is common or is rare in the human population. *J. Med. Virol.*, 1999, **59**, 297-302.
154. MENG X-J., HALBUR P.G., HAYNES J.S., TSAREVA T.S., BRUNA J.D., ROYER R.L. *et al.* Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis E virus (swine HEV), but not with human strains of HEV. *Arch. Virol.*, 1998, **143**, 1405-1415.

155. MENG X-J., HALBUR P.G., SHAPIRO M.S., GOVINDARAJAN S., BRUNA J.D., MUSHAHWAR I.K. *et al.* Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J. Virol.*, 1998, **72**, 9714-9721.
156. MENG X-J., PURCELL R.H., HALBUR P.G., LEHMAN J.R., WEBB D.M., TSAREVA T.S. *et al.* A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1997, **94**, 9860-9865.
157. MENG X-J., WISEMAN B., ELVINGER F., GUENETTE D.K., TOTH T.E., ENGLE R.E. *et al.* Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 117-122.
158. MENNECIER D., NICAND E., GRANDADAM M., BRONSTEIN J.A., THIOLET C., FARRET O. *et al.* Hépatite virale E subfulminante en France. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 2000, **24**, 467-468.
159. MILLER M.J., Viral taxonomy, *Clin. Infect. Dis.*, 1997, **25**, 18-20.
160. MOCHIZUKI M., OUCHI A., KAWAKAMI K., ISHIDA T., LI T-C., TAKEDA N. *et al.* Epidemiological study of hepatitis E virus infection of dogs and cats in Japan. *Vet. Record.*, 2006, **159**, 853-854.
161. MONGA R., GARG S., TYAGI P., KUMAR N. Superimposed acute hepatitis E infection in patients with chronic liver disease. *Indian J. Gastroenterol.*, 2004, **23**, 50-52.
162. MUNNE M.S., VLADIMIRSKY S., OTEGUI L., CASTRO R., BRAJTERMAN L., SOTO S. *et al.* Identification of the first strain of hepatitis E virus in South America and prevalence of anti-HEV antibodies in swine in Argentina. *J. Med. Virol.*, 2006, **78**, 1579-1583.

163. MYINT K.S.A., GIBBONS R.V. Hepatitis E: a neglected threat. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2008, **102**, 211-212.
164. NAKAI I., KATO K., MIYAZAKI A., YOSHII M., LI T-C., TAKEDA N. *et al.* Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis E virus at three Japanese swine farms. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2006, **75**, 1171-1177.
165. NAKAMURA M., TAKAHASHI K., TAIRA K., TAIRA M., OHNO A., SAKUGAWA H. *et al.* Hepatitis E virus infection in wild mongooses of Okinawa, Japan: Demonstration of anti-HEV antibodies and a full-genome nucleotide sequence. *Hepatol. Res.*, 2006, **34**, 137-140.
166. NAKANO Y., YAMAUCHI A., YANO T., NAKAYAMA O., SAKAI H., NAGASAKA Y. *et al.* A diffuse outbreak of hepatitis E in Mie Prefecture, 2005. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2006, **59**, 136-138.
167. NAOUMOV N.V. Hepatitis A and E. *Medecine*, 2006, **35**, 35-38.
168. NICAND E., ARMSTRONG G.L., ENOUF V., GUTHMANN J-P., GUERIN J-P., CARON M. *et al.* Genetic heterogeneity of hepatitis E virus in Darfur, Sudan, and neighboring Chad. *J. Med. Virol.*, 2005, **77**, 519-521.
169. NICAND E., BIGAILLON C., TESSE S. Hépatite E : maladie émergente ? *Patho. Biol.*, "sous presse".
170. NICAND E., GRANDADAM M., TEYSSOU R., REY J-L., BUISSON Y. Viraemia and fecal shedding of HEV in symptom-free carriers. *Lancet*, 2001, **357**, 68-69.
171. NING H., YU S., ZHU Y., DONG S., YU R., SHEN S. *et al.* Genotype 3 hepatitis E has been widespread in pig farms of Shanghai suburbs. *Vet. Microbiol.*, 2008, **126**, 257-263.

172. NISHIZAWA T., TAKAHASHI M., MIZO H., MIYAJIMA H., GOTANDA Y., OKAMOTO H. Characterization of Japanese swine and human hepatitis E virus isolates of genotype IV with 99% identity over the entire genome. *J. Gen. Virol.*, 2003, **84**, 1245-1251.
173. OKAMOTO H., TAKAHASHI M., NISHIZAWA T., USUI R., KOBAYASHI E. Presence of antibodies to hepatitis E virus in Japanese pet cats. *Infection*, 2004, **32**, 57-58.
174. PAL R., AGGARWAL R., NAIK S.R., DAS V., DAS S., NAIK S. Immunological alterations in pregnant women with acute hepatitis E. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2005, **20**, 1094-1101.
175. PANDA S.K., THAKRAL D., REHMAN S., Hepatitis E Virus. *Rev. Med. Virol.*, 2007, **17**, 151-180.
176. PAVIO N., RENOU C., BOUTROUILLE A., ELOIT M. L'hépatite E: une zoonose méconnue. *Virologie*, 2006, **10**, 341-351.
177. PINA S., JOFRE J., EMERSON S.U., PURCELL R.H., GIRONES R. Characterization of a strain of infectious hepatitis E virus isolated from sewage in an area where hepatitis E is not endemic. *App. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**, 4485-4488.
178. PEI Y., YOO D. Genetic characterization and sequence heterogeneity of a canadian isolate of swine hepatitis E virus. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 4021-4029.
179. PERON J-M., DANJOUX M., KAMAR N., MISSOURY R., POIRSON H., VINEL J-P. *et al.* Liver histology in patients with sporadic acute hepatitis E: a study of 11 patients from South-West France. *Virchows Arch.*, 2007, **450**, 405-410.

180. PERON J-M., MANSUY J-M., RECHER C., BUREAU C., POIRSON H., ALRIC L. *et al.* Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2006, **21**, 1223-1224.
181. PREVISANI N., LAVANCHY D. Hepatitis E. WHO/CDS/CSR/EDC/2001.12. In: *Health topics. Hepatitis. Hepatitis E.* [online], 2001, Geneva: World Health Organization, Departement of Communicable Disease Surveillance and Response. [http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisE_whocdscsredc2001_12.pdf]. (consulté le 22 Septembre 2008).
182. PURCELL R.H., EMERSON S.U. Animal models of hepatitis A and E. *Inst. Lab. Anim. Resources J.*, 2001, **42**, 161-177.
183. PURCELL R.H., EMERSON S.U. Hepatitis E: A emerging awareness of an old disease. *J. Hepatol.*, 2008, **48**, 494-503.
184. PURCELL R.H., EMERSON S.U. Hepatitis E virus. In: KNIPE D.M., HOWLEY P.M. (Eds), *Fields Virology*, Vol. 2, 4^{ème} Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, 3051-3061.
185. PURCELL R.H., NGUYEN H., SHAPIRO M., ENGLE R.E., GOVINDARAJAN S., BLACKWELDER W.C. *et al.* Pre-clinical immunogenicity and efficacy trial of a recombinant hepatitis E vaccine. *Vaccine*, 2003, **21**, 2607-2615.
186. REHMAN S., KAPUR N., DURGAPAL H., PANDA S.K. Subcellular localisation of hepatitis E virus (HEV) replicase. *Virology*, 2008, **370**, 77-92.
187. RENOU C., CADRANEL J-F., BOURLIERE M., HALFON P., OUZAN D., RIFFLET H. *et al.* Possible zoonotic transmission of hepatitis E from pet pig to its owner. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, **13**, 1094-1096.

188. RENOU C., MOREAU X., PARIENTE A., CADRANEL J-F., MARINGE E., MORIN T. *et al.* A national survey of acute hepatitis E in France. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2008, **27**, 1086-1093.
189. RUTJES S.A., LODDER W.J., BOUWKNEGT M., DE RODA HUSMAN A.M. Increased hepatitis E virus prevalence on Dutch pig farms from 33 to 55% by using appropriate internal quality controls for RT-PCR. *J.Viro. Meth.*, 2007, **143**, 112-116.
190. SAAD M.D., HUSSEIN H.A., BASHANDY M.M., KAMEL H.H., EARHART K.C., FRYAUFF D.J. *et al.* Hepatitis E virus infection in work horses in Egypt. *Inf. Gen. Evol.*, 2007, **7**, 368-373.
191. SAKATA H., MATSUBAYASHI K., TAKEDA H., SATO S., KATO T., HINO S. *et al.* A nationwide survey for hepatitis E virus prevalence in Japanese blood donors with elevated alanine aminotransferase. *Transfusion*, 2008, **48**, 2568-2576.
192. SANSONETTI P., TUBIANA M., BINET J-L., NORDMANN R., NEZEOF C. Les zoonoses, passé, présent et avenir. *Bull. Acad. Natl. Med.*, 2006, **190**, 611-623.
193. SATOU K., NISHIURA H. Transmission dynamics of hepatitis E among swine: potential impact upon human infection. *BMC Vet. Res.*, [online] 2007, 3. [<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/3/9>]. (consulté le 8 décembre 2008).
194. SCHLAUDER G.G., DAWSON G.J., ERKER J.C., KWO P.Y., KNIGGE M.F., SMALLEY D.L. *et al.* The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States. *J. Gen. Virol.*, 1998, **79**, 447-456.

195. SCHLAUDER G.G., FRIDER B., SOOKIAN S., CASTANO G.C., MUSHAHWAR I.K. Identification of 2 novel isolates of hepatitis E virus in Argentina. *J. Infect. Dis.*, 2000, **182**, 294-297.
196. SCHLAUDER G.G., MUSHAHWAR I.K. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J. Med. Virol.*, 2001, **65**, 282-292.
197. SEDYANINGSIH-MAMAHIT E.R., LARASATI R.P., LARAS K., SIDEMEN A., SUKRI N., SABARUDDIN N. *et al.* First documented outbreak of hepatitis E virus transmission in Java, Indonesia. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2002, **96**, 398-404.
198. SEMINATI C., MATEU E., PERALTA B., DE DEUS N., MARTIN M. Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *Vet. J.*, 2008, **175**, 130-132.
199. SHEIKH A., SUGITANI M., KINUKAWA N., MORIYAMA M., ARAKAWA Y., KOMIYAMA K. *et al.* Hepatitis E virus infection in fulminant hepatitis patients and an apparently healthy population in Bangladesh. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2002, **66**, 721-724.
200. SHEN Q., ZHANG W., CAO X., MOU J., CUI L., HUA X. Cloning of full genome sequence of hepatitis E virus of Shangai swine isolate using RACE method. *Virol. J.*, 2007, **4**, 98-105.
201. SHRESTHA M.P., SCOTT R.M., JOSHI D.M., MANNEM M.P. Jr., THAPA G.B., THAPA N. *et al.* Safety and efficacy of a recombinant Hepatitis E vaccine. *N. Engl. J. Med.*, 2007, **356**, 895-903.

202. SHUKLA P., CHAUBAN U.K., NAIK S., ANDERSON D., AGGARWAL R. Hepatitis E virus infection among animals in northern India: an unlikely source of human disease. *J. Viral. Hep.*, 2007, **14**, 310-317.
203. SINHA S., JHA R., LAKHTAKIA S., NARAYAN G. Acute pancreatitis following kidney transplantation - role of viral infections. *Clin. Transplant.*, 2003, **17**, 32-36.
204. SONODA H., ABE M., SUGIMOTO T., SATO Y., BANDO M., FUKUI E. *et al.* Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, 5371-5374.
205. SRIVASTAVA R., AGGARWAL R., JAMEEL S., PURI P., GUPTA V.K., RAMESH V.S. *et al.* Cellular immune responses in acute hepatitis E virus infection to the viral Open Reading Frame 2 protein. *Viral Immunol.*, 2007, **20**, 56-65.
206. SURJIT M., JAMEEL S., LAL S.K. The ORF2 protein of hepatitis E virus binds the 5' region of viral RNA. *J. Virol.*, 2004, **78**, 320-328.
207. SUZUKI K., AIKAWA T., OKAMOTO H. Fulminant hepatitis E in Japan. *N. Engl. J. Med.*, 2002, **347**, 1456-1456.
208. TAKAHASHI K., KANG J-H., OHNISHI S., HINO K., MIYAKAWA H., MIYAKAWA Y. *et al.* Full-length sequences of six hepatitis E virus isolates of genotypes III and IV from patients with sporadic acute or fulminant hepatitis in Japan. *Intervirology*, 2003, **46**, 308-318.
209. TAKAHASHI K., KITAJIMA N., ABE N., MISHIRO S. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer and four patients who ate the deer. *Virology*, 2004, **330**, 501-505.

210. TAKAHASHI M., NISHIZAWA T., YOSHIKAWA A., SATO S., ISODA N., IDO K. *et al.* Identification of two distinct genotypes of hepatitis E virus in a Japanese patient with acute hepatitis who had not travelled abroad. *J. Gen. Virol.*, 2002, **83**, 1931-1940.
211. TAKAHASHI M., NISHIZAWA T., TANAKA T., TSATSRAULT-OD B., INOUE J., OKAMOTO H. Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *J. Gen. Virol.*, 2005, **86**, 1807-1813.
212. TAKAHASHI M., TANAKA T., AZUMA M., KUSANO E., AIKAWA T., SHIBAYAMA T. *et al.* Prolonged fecal shedding of hepatitis E virus (HEV) during sporadic acute hepatitis E: evaluation of infectivity of HEV in fecal specimens in a cell culture system. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, **45**, 3671-3679.
213. TAM A.W., SMITH M.M., GUERRA M.E., HUANG C-C., BRADLEY D.W., FRY K.E. *et al.* Hepatitis E Virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*, 1991, **185**, 120-131.
214. TAM A.W., WHITE R., REED E., SHORT M., ZHANG Y., FUERST T.R. *et al.* *In vitro* propagation and production of hepatitis E virus from *in vivo*-infected primary macaque hepatocytes. *Virology*, 1996, **215**, 1-9.
215. TAM A.W., WHITE R., YARBOURGH P.O., MURPHY B.J., McATEE C.P., LANFORD R.E. *et al.* *In vitro* infection and replication of hepatitis E virus in primary Cynomolgus Macaque hepatocytes. *Virology*, 1997, **238**, 94-102.
216. TAMADA Y., YANO K., YATSUHASHI H., INOUE O., MAWATARI F., ISHIBASHI H. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J. Hepatol.*, 2004, **40**, 869-873.

217. TAMURA A., SHIMIZU Y.K., TANAKA T., KURODA K., ARAKAWA Y., TAKAHASHI K. *et al.* Persistant infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol. Res.*, 2007, **37**, 113-120.
218. TANAKA H., YOSHINO H., KOBAYASHI E., TAKAHASHI M., OKAMOTO H. Molecular investigation of hepatitis E virus infection in domestic and miniature pigs used for medical experiments. *Xenotransplantation*, 2004, **11**, 503-510.
219. TANAKA T., TAKAHASHI M., KUSANO E., OKAMOTO H. Development and evaluation of an efficient cell-culture system for hepatitis E virus. *J. Gen. Virol.*, 2007, **88**, 903-911.
220. TANAKA Y., TAKAHASHI K., ORITO E., KARINO Y., KANG J-H., SUZUKI K. *et al.* Molecular tracing of Japan-indigenous hepatitis E viruses. *J. Gen. Virol.*, 2006, **87**, 949-954.
221. TEI S., KITAJIMA N., OHARA S., INOUE Y., MIKI M., YAMATANI T. *et al.* Consumption of uncooked deer meat as a risk factor for hepatitis E virus infection: an age- and sex-matched case control study. *J. Med. Virol.*, 2004, **74**, 67-70.
222. TEI S., KITAJIMA N., TAKAHASHI K., MISHIRO S., Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*, 2003, **362**, 371-373.
223. THOMAS D.L., YARBOUGH P.O., VLAHOV D., TSAREV S.A., NELSON K.E., SAAH A.J. *et al.* Seroactivity to hepatitis E virus in areas where the disease is not endemic. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, **35**, 1244-1247.
224. TICEHURST J., RHODES L.L. JR., KRAWCZYNSKI K., ASHER L.V., ENGLER W.F., MENSING T.L. *et al.* Infection of owl monkeys (*Aotus trivirgatus*) and cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) with hepatitis E virus from Mexico. *J. Infect. Dis.*, 1992, **165**, 835-845.

225. TOMA B., THIRY E. Qu'est ce qu'une maladie émergente ? *Epidémiol. Santé Anim.*, 2003, **44**, 1-11.
226. TONG M.J., ROUE R., NAHOR N'GAWARA M., DESRAME J., BUISSON Y., COURSAGET P. Clinical aspects of hepatitis E and hepatitis A : A comparison. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds), *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 1-10.
227. TSAREV S., BINN L.N., GOMATOS P.J., ARTHUR R.R., MONIER M.K., VAN CUYCK-GANDRE H. *et al.* Phylogenetic analysis of hepatitis E virus isolates from Egypt. *J. Med. Virol.*, 1999, **57**, 68-74.
228. TSAREV S.A., EMERSON S.U., REYES G.R., TSAREVA T.S., LEGTERS L.J., MALIK I.A. *et al.* Characterization of a prototype strain of hepatitis E virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1992, **89**, 559-563.
229. VABRET A. Emergences et barrières d'espèces. *Méd. Mal. Infect.*, 2004, **34**, 506-513.
230. VAN CUYCK H., FAN J., ROBERTSON D.L., ROQUES P. Evidence of recombination between divergent hepatitis E viruses. *J. Virol.*, 2005, **79**, 9306-9314.
231. VAN CUYCK H., JUGE F., ROQUES P. Phylogenetic analysis of the first complete hepatitis E virus (HEV) genome from Africa. *FEMS Imm. Med. Microbiol.*, 2003, **39**, 133-139.
232. VAN CUYCK-GANDRE H., COCKMAN-THOMAS R., CAUDILL J.D., ASHER L.S., ARMSTRONG K.L., CLEMENTS N.J. *et al.* Experimental African HEV infection in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Virol.*, 1998, **55**, 197-202.

233. VAN CUYCK-GANDRE H., ZHANG H.Y., CLEMENTS N.J., COHEN S.G., CAUDILL J.D., COURSAGET P. *et al.* Partial sequence of HEV isolates from North Africa and Pakistan: comparison with known HEV sequences. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds). *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 301-310.
234. VISHWANATHAN R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-1956). A critical study: epidemiology. *Indian J. Med. Res.*, 1957, **45**, 49-58.
235. VON BRUNN A., SEEBACH J., THYAGARAJAN S.P., MOHANAVALLI B., MENON T., FROSNER G. PCR amplification, cloning and sequence characterization of hepatitis E virus fragments from Madras, India. In: BUISSON Y., COURSAGET P., KANE M. (Eds). *Enterically-transmitted hepatitis viruses*. Tours: La Simarre, 1996, 311-313.
236. WARD P., MULLER P., LETELLIER A., QUESSY S., SIMARD C., TROTTIER Y-L. *et al.* Molecular characterization of hepatitis E virus detected in swine farms in the province of Quebec. *Can. J. Vet. Res.*, 2008, **72**, 27-31.
237. WICHMANN O., SCHIMANSKI S., KOCH J., KOHLER M., ROTHE C., PLENTZ A. *et al.* Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J. Infect. Dis.*, 2008, **198**, 1732-1741.
238. WILLIAMS T.P.E., KASORNDORKBUA C., HALBUR P.G., HAQSHENAS G., GUENETTE D.K., TOTH T.E. *et al.* Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in swine model. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, **39**, 3040-3046.
239. WONG D.C., PURCELL R.H., SREENIVASAN M.A., PRASAD S.R., PRAVI K.M. Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for a non-A // non-B hepatitis virus aetiology. *Lancet*, 1980, **2**, 876-879.

240. WORM H.C., SCHLAUDER G.G., WURZER H., MUSHAHWAR I.K. Identification of a novel variant of hepatitis E virus in Austria: sequence, phylogenetic and serological analysis. *J. Gen. Virol.*, 2000, **81**, 2885-2890.
241. WU J-C., CHEN C-M., CHIANG T-Y., TSAI W-H., JENG W-J., SHEEN I-J. *et al.* Spread of hepatitis E virus among different-aged pigs: two years survey in Taiwan. *J. Med. Virol.*, 2002, **66**, 488-492.
242. XIA H., LIU L., LINDE A-M., BELAK S., NORDER H., WIDEN F. Molecular characterization and phylogenetic analysis of the complete genome of a hepatitis E virus from European swine. *Virus Genes*, 2008, **37**, 39-48.
243. XING L., KATO K., LI T., TAKEDA N., MIYAMURA T., HAMMAR L. *et al.* Recombinant hepatitis E capsid protein self-assembles into a dual-domain T=1 particle presenting native virus epitopes. *Virology*, 1999, **265**, 35-45.
244. YAMAMOTO H., LI T-C., KOSHIMOTO C., ITO K., KITA M., MIYASHITA N. *et al.* Serological evidence for hepatitis E virus infection in laboratory monkeys and pigs in animal facilities in Japan. *Exp. Anim.*, 2008, **57**, 367-376.
245. YAMAMOTO T., SUZUKI H., TOYOTA T., TAKAHASHI M., OKAMOTO H. Three male patients with sporadic acute hepatitis E in Sendai, Japan, who were domestically infected with hepatitis E virus of genotype III and IV. *J. Gastroenterol.*, 2004, **39**, 292-298.
246. YAN Y., ZHANG W., SHEN Q., CUI L., HUA X. Prevalence of four different subgenotypes of genotype 4 hepatitis E virus among swine in the Shanghai area of China. *Acta Vet. Scan.*, [online] 2008, 50. [<http://www.actavetscand.com/content/50/1/12>]. (consulté le 8 décembre 2008).

247. YARBOUGH P.O., TAM A.W., FRY K.E., KRAWCZYNSKI K., McCAUSTLAND K.A., BRADLEY D.W. *et al.* Hepatitis E virus: identification of type-common epitopes. *J. Virol.*, 1991, **65**, 5790-5797.
248. YAZAKI Y., MIZO H., TAKAHASHI M., NISHIZAWA T., SASAKI N., GOTANDA Y. *et al.* Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J. Gen. Virol.*, 2003, **84**, 2351-2357.
249. YOO D., WILLSON P., PEI Y., HAYES M.A., DECKERT A., DEWEY C.E. *et al.* Prevalence of hepatitis E virus antibodies in Canadian swine herds and identification of a novel variant of swine hepatitis E virus. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 2001, **8**, 1213-1219.
250. ZAAIJER H.L., KOK M., LELIE P.N., TIMMERMAN R.J., CHAU K., VAN DER PAL H.J.H. Hepatitis E in the Netherlands: imported and endemic. *Lancet*, 1993, **341**, 826-826.
251. ZAFRULLAH M., KHURSHEED Z., YADAV S., SAHGAL D., JAMEEL S., AHMAD F. Acidic pH enhances structure and structural stability of the capsid protein of hepatitis E virus. *Biochem. Biophys. Res. Commu.*, 2004, **313**, 67-73.
252. ZAFRULLAH M., OZDENER M.H., KUMAR R., PANDA S.K., JAMEEL S. Mutational analysis of glycosylation, membrane translocation, and cell surface expression of the hepatitis E virus ORF2 protein. *J. Virol.*, 1999, **73**, 4074-4082.
253. ZAFRULLAH M., OZDENER M.H., PANDA S.K., JAMEEL S. The ORF3 protein of hepatitis E virus is a phosphoprotein that associates with the cytoskeleton. *J. Virol.*, 1997, **71**, 9045-9053.

254. ZHANG M., PURCELL R.H., EMERSON S.U. Identification of the 5' terminal sequence of the SAR-55 and MEX-14 strains of hepatitis E virus and confirmation that the genome is capped. *J. Med. Virol.*, 2001, **65**, 293-295.
255. ZHANG W., SHEN Q., MOU J., GONG G., YANG Z., CUI L. *et al.* Hepatitis E virus infection among domestic animals in Eastern China. *Zoon. Pub. Health.*, 2008, **55**, 291-298.
256. ZHANG Y., McATEE P., YARBOUGH P.O., TAM A.W., FUERST T. Expression, characterization, and immunoreactivities of a soluble hepatitis E virus putative capsid protein species expressed in insect cells. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 1997, **4**, 423-428.
257. ZHENG Y., GE S., ZHANG J., GUO Q., NG M.H., WANG F. *et al.* Swine as a principal reservoir of hepatitis E virus that infects Humans in Eastern China. *J. Infect. Dis.*, 2006, **193**, 1643-1649.
258. ZHOU Y-H., PURCELL R.H., EMERSON S.U. An ELISA for putative neutralizing antibodies to hepatitis E virus detects antibodies to genotypes 1, 2, 3 and 4. *Vaccine*, 2004, **22**, 2578-2585.
259. ZHU G., QU Y., JIN N., SUN Z., LIU T., LEE H. *et al.* Seroepidemiology and molecular characterization of hepatitis E virus in Jilin, China. *Infection*, 2008, **36**, 140-146.

Annexe 1

Type ^a	Isolate	Complete ^b	ORF1 ^c	ORF1 ^d	ORF2 ^e	ORF2 ^f	ORF2 ^g	Country	Host	Reference
1a	Ahm-76-1	AF106870						India (Ahmedabad)	Human	[65]
	Ahm-84	AF107895						India (Ahmedabad)	Human	[65]
	AKL-90	AF124407						India (Akluj)	Human	[65]
	AMRAV99	AF446093						India (Maharashtra)	Human	Unpublished
	ANIGR2K							India	Human	Unpublished
	AUR2K							India	Human	Unpublished
	B1 (Bur-82)	M73218						Burma	Human	[2]
	B2 (Bur-86)	D10330						Burma	Human	[71]
	BCN							Spain	Human	[73]
	BHANDARA99	AF058679						India	Human	Unpublished
	BULDH2K							India (Maharashtra)	Human	Unpublished
	BurmaEpi							Burma	Human	[74]
	E89-SJ02							Japan	Human	Unpublished
	I2 [Mad-93]	X99441						India	Human	[65]
I3		AF076239						India (Hyderabad)	Human	[70]
JMM-Sai								Japan (Saitama)	Human	[10]
K45								India (Karnal)	Human	[64]
K74								India (Karnal)	Human	[64]
KOL2K								India	Human	Unpublished
KOL81								India (Kolhapur)	Human	[65]
LON2K-2								India (Lonawala)	Human	Unpublished
LON88								India (Lonawala)	Human	[65]
Hollow Particle								?	?	JP Patent
Hyd-87		E17109						India (Hyderabad)	Human	[69]
M67								India (Meerut)	Human	[64]
M70								India (Meerut)	Human	[64]
M75								India (Meerut)	Human	[64]
M82								India (Meerut)	Human	Unpublished
NANDED99								India (Maharashtra)	Human	Unpublished
NAS99								India	Human	Unpublished
Ne008-2000		AF446103						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne013-2002		AB116176						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne014-2002		AB116190						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne015-1999		AB116191						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne018-1999		AB116160						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne023-2002		AB116161						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne026		AB116194						Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ne036-2000		AB085950						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ne036-2002		AB116178						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
		AB116199						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
		AB116173						Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
		Ne038-1999								

Type ^a	Isolate	Complete ^b	ORF1 ^c	ORF1 ^d	ORF2 ^e	ORF2 ^f	ORF2 ^g	Country	Host	Reference
Ned49			AB085952					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ned52-2000			AB116181					Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ned56-2002			AB116207					Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ned59-2000			AB116186					Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ned68			AB085955					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ned68-2000			AB116188					Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ned72			AB085958					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ned75-2002			AB116210					Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Ned80			AB085960					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ned81			AB085961					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ned112			AB085967					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Ned131			AB085969					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Nel39-2002			AB116207					Nepal (Kathmandu)	Human	[63]
Nel46			AB085977					Nepal (Kathmandu)	Human	[62]
Nep4/94/Nepal			AF020607					Nepal (Kathmandu)	Human	[60]
NP1 (TK15/92)								Nepal	Human	[61]
P2 [Abb-2B]								Pakistan (Abbottabad)	Human	[20]
Pun85-1			AF107896					India (Pune)	Human	[65]
PUN2K-1			AF446104					India	Human	Unpublished
RAIGAD2K			AF446106					India	Human	Unpublished
SANGLI2K			AF446107					India	Human	Unpublished
SEW11			AF398911					India (Pune)	Human	[111]
SEW12			AF398912					India (Pune)	Human	[111]
SEW13			AF398913					India (Pune)	Human	[111]
SEW14			AF398914					India (Pune)	Human	[111]
SEW15			AF398915					India (Pune)	Human	[111]
SEW17			AF398917					India (Pune)	Human	[111]
SEW18			AF398918					India (Pune)	Human	[111]
SPR1			AF446108					India	Human	Unpublished
SPR3			AF446110					India	Human	Unpublished
SPR4			AF446111					India (Talegaon)	Human	[65]
Tai88			AF107899					Nepal	Human	[60]
TK4/95								Nepal	Human	[60]
TK5/95								AF020492	Human	[60]
TK15/92								AF020496	Human	[60]
TK78/87								AF020495	Human	[60]
TK104/91								AF020493	Human	[60]
Viet								Vietnam	Human	Unpublished
Y3								India (Yamunanagar)	Human	[64]
			AF093891							

Type ^a	Isolate	Complete ^b	ORFI ^c	ORFI ^d	ORF2 ^e	ORF2 ^f	ORF2 ^g	Country	Host	Reference
	Tanef 86/87 C				AY586364	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 D				AY586363	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 E				AY586362	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 F				AY586361	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 G				AY586360	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 H				AY586462	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 I				AY586359	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 J				AY586358	Algeria		Human	Human	[116]
	Tanef 86/87 K				AY586357	Algeria		Human	Human	[116]
	TCH04E44				AY903949	Chad		Unknown	Unpublished	[91]
	VH5				AY570905	Spain		Human	Human	[91]
2a	M1	M74506				Mexico		Human	Human	[22]
2b	Nig7				AF173231	Nigeria		Human	Human	[117]
	Nig9				AF173232	Nigeria		Human	Human	[117]
	TCH04E75				AY903950	Chad		Unknown	Unpublished	
3a	01-9913					US (Oklahoma)		Pig	Pig	[56]
	01-21160-1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-12116-2					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-14185-1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-15025-3					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-15555A					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-16139-1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-18356-1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-18934C1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-18934D1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-18934D2					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-19248-3					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-22807-2					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	01-31692C1					US (Iowa)		Pig	Pig	[56]
	BCN15					Spain		Sewage	Human	[96]
	HE-JA4							Japan (Hokkaido)	Human	[13]
	HE-JA7							Japan (Iwate)	Human	[13]
	HE-JA8							Japan (Iwate)	Human	[13]
	HE-JA10							Japan (Tokyo)	Human	[88]
	HE-JA15							Japan (Hokkaido)	Human	[87]
	HE-JA16							Japan (Hokkaido)	Human	[87]
	HE-JA20							Japan	Human	[90]
	HE-JA22							Japan (Iwate)	Human	[90]
	HE-JA51							Japan (Sendai)	Human	[89]

HE-JAS3	AB107368	Japan (Sendai)	Human	[89]	
HE-JI3	AB080579	Japan (Tochigi)	Human	[11]	
HKOR	AY641398	Korea	Human	Unpublished	
HKOR-DYL	AY714270	Korea	Human	Unpublished	
HKOR-HJY	AY714272	Korea	Human	Unpublished	
HKOR-HSY	AY714268	Korea	Human	Unpublished	
HKOR-JMA	AY714267	Korea	Human	Unpublished	
HKOR-NAB	AY714271	Korea	Human	Unpublished	
HKOR-SGK	AY714269	Korea	Human	Unpublished	
HRC-HE5	AB113309	Japan (Hokkaido)	Human	[106]	
JHA-Sap	AB074916	Japan (Hokkaido)	Human	[10]	
JKN-Sap	AB074918	Japan (Hokkaido)	Human	[10]	
JMY-HAW	AB074920	Japan (Hokkaido)	Human	[10]	
KOR1	AF516178	Korea	Pig	[47]	
KOR2	AF516179	Korea	Pig	[47]	
KOR3	AF527942	Korea	Pig	[47]	
NLSW22	AF336002	Netherlands	Pig	[52]	
NLSW122	AF336014	Netherlands	Pig	[52]	
swJ1-1	AB094203	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ2-1	AB094207	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ3-1	AB094212	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ4-1	AB094215	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ6-1	AB094217	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ10-1	AB094238	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ11-1	AB094240	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]	
swJ16-1	AB094267	Japan (Aomori)	Pig	[48]	
swJ17-1	AB094272	Japan (Aomori)	Pig	[48]	
swJL234	AB108665	Japan (Hokkaido)	Pig	[87]	
swJL325	AB108666	AB105903	Japan (Hokkaido)	Pig	[87]
swUS1	AF082843	AB105904	US (Midwest)	Pig	[39,58]
UMC7A	AF466667	US (Missouri)	Pig	[56]	
UMC7B	AF466664	US (Missouri)	Pig	[56]	
UMC12B	AF466665	US (Missouri)	Pig	[56]	
UMC13A	AF466678	US (Missouri)	Pig	[56]	
US1	AF060668	US	Human	[14,27]	
US2	AF060669	US	Human	[14]	
W1	AF490998	US (Washington)	Sewage	[96]	
ETM-NGS04	AY684244	Japan	Human	Unpublished	
E21-YHK00	AY684248	Japan	Human	Unpublished	
E88-SGM02	AY427951	Japan	Human	Unpublished	
E110-OIT02	AY684249	Japan	Human	Unpublished	
E3752-YHK96	AY684247	Japan	Human	Unpublished	
ENK-NGS03 (Boar related)	AY427956	Japan (Nagasaki)	Human	[42]	
EMN-NGS03 (Boar related)	AY427957	Japan (Nagasaki)	Human	[42]	
HE-JA5	AB082550	Japan (Iwate)	Human	[13]	

Rapport Gratuit.Com

Type ^a	Isolate	Complete ^b	ORF1 ^c	ORF1 ^d	ORF2 ^e	ORF2 ^f	ORF2 ^g	Country	Host	Reference
HE-JA6		AB082551	AB082562					Japan (Iwate)	Human	[13]
HE-JA9		AB082554	AB082565					Japan (Fukushima)	Human	[13]
HE-JA11		AB082556	AB082567					Japan (Yamanashi)	Human	[13]
HE-JA21			AB115542					Japan (Iwate)	Human	[90]
HE-JA23			AB115544					Japan (Nagano)	Human	[90]
HE-JBD1			AB112743					Japan (Tochigi)	Human	[93]
HE-JBD2			AB154829					Japan (Tochigi)	Human	[93]
HE-JBD3			AB154830					Japan (Tochigi)	Human	[93]
HE-JF2			AB079763					Japan	Human	[103]
HE-JO-1982			AB088418					Japan	Human	[94]
HRC-HF2			AB113306					Japan (Hokkaido)	Human	[106]
HRC-HF4			AB113308					Japan (Hokkaido)	Human	[106]
IBOAR-1Hyo04		AB189070		AB114179				Japan (Hyogo)	Boar	[109]
IDEER-Hyo03				AB189071				Japan (Hyogo)	Deer	[41]
IDEER-Hyo03L				AB091394				Japan (Hyogo)	Deer	[109]
JJT-KAN				AB114180				Japan (Kanagawa)	Human	[12]
JMO-Hyo03*				AB189072				Japan (Hyogo)	Human	[41]
JMO-Hyo03L				AP003430				Japan (Hyogo)	Human	[109]
JRA1					AB114181			Japan	Human	[9]
ISO-Hyo03*					AB189073			Japan (Hyogo)	Human	[41]
ISO-Hyo03L					AB114182			Japan (Hyogo)	Human	[109]
JTH-Hyo03*					AB189074			Japan (Hyogo)	Human	[41]
JTH-Hyo03L					AB114183			Japan (Hyogo)	Human	[109]
JYO-Hyo03*					AB189075			Japan (Aomori)	Human	[41]
JYO-Hyo03L						AB094256		Japan (Akita)	Pg ^g	[48]
swJ15-1						AB094275		Japan (Miyazaki)	Pg ^g	[48]
swJ18-1						AB094279		Japan (Miyazaki)	Pg ^g	[48]
swJ19-1						AB094296		Japan (Miyazaki)	Pg ^g	[48]
swJ22-4						AB094305		Japan (Miyazaki)	Pg ^g	[48]
swJ23-1						AB094306		Japan (Miyazaki)	Pg ^g	[48]
swJ24-1						AB094317		Japan (Kagoshima)	Pg ^g	[48]
swJ25-1							AB073910	Japan (Tochigi)	Pg ^g	[92]
swJ570							AB096756	Japan (Tochigi)	Pg ^g	[92]
swJ681							AB108661	Japan (Hokkaido)	Pg ^g	[95]
swJ1990							AB108662	AB105898	Pg ^g	[87]
swJL82							AB108669	AB105899	Pg ^g	[87]
swJL97							AB108663	AB105900	Pg ^g	[87]
swJL98										

Type ^a	Isolate	Complete ^b	ORF1 ^c	ORF1 ^d	ORF2 ^e	ORF2 ^f	ORF2 ^g	Country	Host	Reference
Sp4 (VH4)					AY540114			Spain	Human	[91]
Sp-E11					AF195063			Spain	Human	[26]
SpswCV2		AF455784			AY323506			Kyrgyzstan	Pig	Unpublished [81]
3g Kyrgyz						AF110387		Italy	Human	[17]
3h H1						AF215661		New Zealand	Pig	[54]
swNZ						AF264009		Argentina	Human	[18]
3i Ar1						AF264010		Argentina	Human	[18]
Ar2						AF279123		Austria	Human	[29]
Au1						AY286304		Argentina	Pig	Unpublished
swAr								Canada (Ontario)	Pig	[55]
3j Arkell								Australia	Pig	Unpublished
swAustralia								Mexico	Pig	Unpublished
swMex								China (Beijing)	Human	[8]
4a Ch87					AJ344171			China (Beijing)	Human	[8]
Ch241					AJ344179			China (Beijing)	Human	[8]
Ch255					AJ344180			China (Beijing)	Human	[8]
Ch266					AJ344193			China (Beijing)	Human	[8]
Ch287					AJ344194			China (Beijing)	Human	[8]
Ch292					AJ344172			China (Beijing)	Human	[8]
HF-030					AF134916			China (Hefei)	Human	[98]
HF-044					AF134812			China (Hefei)	Human	[98]
HF-054					AF134917			China (Hefei)	Human	[98]
swSB2					AJ248852			China (Beijing)	Pig	[45]
T11					AF151962			China (Beijing)	Human	[8,23]
T21					AF151963			China (Beijing)	Human	[8]
TW8E-2					AF112775			Taiwan	Human	[57]
TW11SW					AF302068			Taiwan	Pig	[46]
TW261E					AF296160			Taiwan	Human	Unpublished
TW1108E					AF296159			Taiwan	Human	Unpublished
TW2494E					AF112776			Taiwan	Human	[57]
TW5856E					AF296164			Taiwan	Human	Unpublished
TW6196E					AF112778			Taiwan	Human	[57]
TW6310E					AF112779			Taiwan	Human	Unpublished
TW6345E					AF296162			Taiwan	Human	Unpublished
TW7924E					AF296163			Taiwan	Human	Unpublished
4b Ch181					AJ344188			China (Beijing)	Human	[8]
Ch210					AJ344192			China (Beijing)	Human	[8]
Ch254					AJ344186			China (Beijing)	Human	[8]
Ch297					AJ344177			China (Beijing)	Human	[8]

HE-IVN1	AB168095	Japan	Human	Human	[100]
LZ-105	AF103940	China (Liuzhou)	Human	Human	[98]
swSB66	AF124818	Indonesia (Bali)	Pig	Pig	[51]
swSJ14	AJ428856	China (Zhejiang)	Pig	Pig	[45]
TW32SW	AF117280	Taiwan	Pig	Pig	[46]
TW74SW	AF117281	Taiwan	Pig	Pig	[46]
TW2896E	AF296161	Taiwan	Human	Human	Unpublished
TW543E	AF117277	Taiwan	Human	Human	[57]
V008	A B075965	Vietnam	Human	Human	[107]
V013	A B075966	Vietnam	Human	Human	[107]
V091	A B075967	Vietnam	Human	Human	[107]
V131	A B075969	Vietnam	Human	Human	[107]
V123	A B075968	Vietnam	Human	Human	[107]
HE-J1	AB097812	Japan	Human	Human	[13]
HE-JA1	AB082548	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[101]
HE-JA3	AB108652	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[101]
HE-JA12	AB108653	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JA13	AB108654	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JA14	AB108654	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JA17	AB108657	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JA18	AB108658	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JA19	AB108659	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JA-S2	AB107367	Japan (Sendai)	Human	Human	[89]
HE-JF1	AB079762	Japan	Human	Human	[103]
HE-JF3	AB079764	Japan	Human	Human	[103]
HE-JF4	AB108659	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JF5	AB108660	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[87]
HE-JK4	AB099347	Japan (Tochigi)	Human	Human	[102]
HE-Jl4	AB080575	Japan (Tochigi)	Human	Human	[11]
HRC-HE1	AB113305	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[106]
HRC-IHE3	AB113307	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[106]
HRC-IHE6	AB113310	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[106]
HRC-IM (Recipient)	AB113304	Japan	Human	Human	[106]
HRC-SK (Donor)	AB113303	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[106]
JAK-Sai	AB074915	Japan (Saitama)	Human	Human	[10]
JKK-Sap	AB074917	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[10, 110]
JSF-To03 (Boar related)	AB114178	Japan (Tottori)	Human	Human	[110]
JSM-Sap95	AB161717	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[12]
JSN-Sap-FH	AB091395	Japan (Hokkaido)	Human	Human	Unpublished
JSN-Sap-FH02C	AB200239	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[10]
JSY-Sap	AB074921	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[110]
JTS-SapO2	AB161718	Japan (Hokkaido)	Human	Human	[110]
JYW-SapO2	AB161719	China (Liaoning)	Human	Human	[23]
S15	AF082093				

Type ^a	Isolate	Complete ^b	ORF1 ^c	ORF1 ^d	ORF2 ^e	ORF2 ^f	ORF2 ^g	Country	Host	Reference
	swJ7-5	AB097811	AB108664	AB094223	Japan (Hokkaido)	Pig	[48]			
	swJ13-1			AB105902	Japan (Hokkaido)	Pig	[101]			
	swJL145			AJ428855	Japan (Hokkaido)	Pig	[87]			
	swSH1			AJ344181	China (Henan)	Pig	[45]			
4d	Ch108			AJ344191	China (Beijing)	Human	[8]			
	Ch194			AJ344184	China (Beijing)	Human	[8]			
	Ch202			AY789220	China (Beijing)	Human	[91]			
	CN9802			AY789221	China	?				
	CN9811			AY789222	China	?				
	CN9812			AY789223	China	?				
	CN9817			AY789225	China	?				
	CN9829			AJ428853	China (Guangzhou)	Pig				
	G6			AJ428854	China (Guangzhou)	Pig				
	G8			AY789227	China	?				
	NJ04			AY789228	China	?				
	NJ7			AY789229	China	?				
	NJ016			AY789230	China	?				
	NJ74			AY789231	China	?				
	NJ93			AY596320	China (Uighur)	Pig				
	swCH11			AY596319	China (Uighur)	Pig				
	swCH12			AY596318	China (Uighur)	Pig				
	swCH15			AY596317	China (Uighur)	Pig				
	swCH22			AY596316	China (Uighur)	Pig				
	swCH23			AY596315	China (Uighur)	Pig				
	swCH24			AY594199	China (Uighur)	Pig				
	swCH25			AY596313	China (Uighur)	Pig				
	swCH28			AY596312	China (Uighur)	Pig				
	swCH57			AY596311	China (Uighur)	Pig				
	swCH62			AY596310	China (Uighur)	Pig				
	swCH65			AY596309	China (Uighur)	Pig				
	swCH70			AY596308	China (Uighur)	Pig				
	swCH72			AY621102	China (Uighur)	Pig				
	SwCH100			AY621001	China (Uighur)	Pig				
	SwCH103			AY621100	China (Uighur)	Pig				
	SwCH110			AY621099	China (Uighur)	Pig				
	SwCH111			AY621098	China (Uighur)	Pig				
	SwCH112			AY621097	China (Uighur)	Pig				
	SwCH116			AY621096	China (Uighur)	Pig				
	SwCH119									

4e	T1	AJ272108		
	IND-SW1	AF324501	China (Beijing)	[23]
	IND-SW2	AF324502	India (West)	[49]
	IND-SW3	AF324503	India (West)	[49]
	IND-SW4	AF324504	India (West)	[49]
	IND-SW14	AF505869	India (South)	[49]
	IND-SW16	AF505859	India (South)	[50]
	IND-SW17	AF505860	India (South)	[50]
	IND-SW18	AF505861	India (South)	[50]
	E000-NGS96	AY427953	Japan	Unpublished
	HE-JA2	AB082558	Japan (Hokkaido)	[13]
	V228	AB082547	Vietnam	Human
	CCC220	AB108537	China (Changchun)	[107]
	CN9830	AY789226	China	[99]
4f				Unpublished
4g				

Annexe 2

Centre National de Référence des Virus des Hépatites entero-transmissibles

VIRUS DE L'HEPATITE E

Service de Biologie Médicale

H.I.A. Val de Grâce

74 , boulevard de Port Royal

75230 Paris cedex 05

Responsable scientifique

Docteur Elisabeth NICAND

Tel : 01.40.51.46.35

Fax : 01.40.51.42.98

e-mail:.....

Hôpital :..... ...	Adresse :.....
Laboratoire :.....	Date du prélèvement :.....
NOM :..... Prénom :..... Né(e) le :..... <i>Sexe : M</i> <input type="checkbox"/> <i>F</i> <input type="checkbox"/>	Nature du prélèvement : <input type="checkbox"/> sérum <input type="checkbox"/> selles <input type="checkbox"/> environnement

RENSEIGNEMENTS

<i>Epidémiologiques</i>	<i>Cliniques</i>
<input type="checkbox"/> Notion d'épidémie	<input type="checkbox"/> Hépatite aiguë clinique : date du début :.....
<input type="checkbox"/> Contact avec un cas confirmé	<input type="checkbox"/> Cytolyse hépatite :
<input type="checkbox"/> Séjour outre-mer récent	

(Pays : Date :)	ALAT :
<input type="checkbox"/> Toxi infection alimentaire	ASAT :
	<input type="checkbox"/> Autre affection (<i>préciser</i>) :
	<input type="checkbox"/> Vaccination hépatite A : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

EXAMENS DEMANDES	
<input type="checkbox"/> Anti-VHA <input type="checkbox"/> IgM <input type="checkbox"/> Ig totales	<input type="checkbox"/> Anti-VHE (IgG – IgM)
<input type="checkbox"/> PCR du VHA	<input type="checkbox"/> PCR du VHE
<input type="checkbox"/> Génotype	<input type="checkbox"/> Génotype
Envoi des échantillons : + 4°C, en respectant le transport de substances biologiques	

Médecin prescripteur Date : / 200

(Nom et signature)

Annexe 3

Hépatite E. Questionnaire exploratoire

Nom (initiale) Prénom :

Commune : Département : /__/_

Habitat secondaire Département : /__/_

B-SIGNES CLINIQUES

Date de début des signes cliniques ____/____/____ (et préciser le signe clinique)

Ictère **oui** /__/ **non** /__/ Asthénie **oui** /__/ **non** /__/

Vomissements **oui** /__/ **non** /__/ Anorexie **oui** /__/ **non** /__/

Hospitalisation **oui** /__/ **non** /__/ Fièvre **oui** /__/ **non** /__/

Forme

fulminante

Commentaires

C-SIGNES BIOLOGIQUES

◊ Transaminases : ALAT ____ UI/L (Normale labo ____)

◊ IgM anti VHA :	Positif	/__/	Négatif /__/	Non recherchées /__/
◊ Antigène HBs	Positif	/__/	Négatif /__/	Non recherchées /__/
◊ Anticorps anti-HBc	Positif	/__/	Négatif /__/	Non recherchées /__/
◊ IgM anti-VHE	Positif	/__/	Négatif /__/	Non recherchées /__/
◊ IgG anti-VHE	Positif	/__/	Négatif /__/	Non recherchées /__/
◊ ARN VHE serum selles	Positif	/__/	Négatif /__/	Non recherché /__/
	Positif /__/	Négatif /__/		Non recherché /__/

D-DEMOGRAPHIE

Age : /__/_/_ ans Sexe : Masculin Féminin Profession : _____

E-FACTEURS DE RISQUES

Etes vous :

oui **non** **nsp** **Sans objet**

- personne employée dans un crèche ou garderie

- personnel de petite section de maternelle
- employé d'une collectivité pour handicapé
- enfant gardé en crèche ou garderie (rens. parents)
- enfant en petite section de maternelle (rens. parents)
- handicapé vivant en institution (rens. Médecin)
- personnel d'abattoir, éleveur, vétérinaire

Enfant de moins de 3 ans dans la famille ?

oui non nsp

Si oui porte-t-il des couches

- Est-il gardé :
- * en crèche ou garderie ?
 - * chez une assistante maternelle ?
 - * dans la famille d'un cas ?

Y a t'il une ou des personnes avec lesquelles vous avez pu être en contact qui ait (aient) eu une hépatite ou une jaunisse?

oui non nsp

Si oui, précisez le moment et la nature du contact :

	Nature du contact	2 sem à 8 sem avant le	Autre moment
		/__/_/_/_	
- cas conjoint ou partenaire sexuel	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- cas dans l'entourage familial (enfants...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- cas dans une crèche, garderie ou petite section de maternelle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- cas institution spécialisée (handicapés, malades mentaux...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- cas dans une autre collectivité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Si oui, précisez :</i>			
- Inconnue	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Voyage hors de France 2 à 8 semaines avant le début de la maladie ?

(du /__/_/_/_/ au /__/_/_/_/)

oui non nsp

Si oui, précisez le pays et la date du voyage :

si oui consommation de :

	OUI	NON	Ne sait pas
Coquillages crus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Crudités	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eau non embouteillée	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
glaçons dans des boissons	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Contact avec une personne ayant voyagé ou résident en zone endémique (Asie, Afrique, Mexique)

2 à 8 semaines avant le début de la maladie

oui non

si oui préciser en clair le pays et la date

Consommation de coquillages 2 à 8 semaines avant le début de la maladie

Consommation d'huîtres du / ___ / ___ / ___ au

oui non nsp

/ ___ / ___ / ___ / ?

Si oui :

Date de consom.	Bassin ostréicole (type d'huîtres) voir liste	Quantité (par ½ douzaine)	Lieu d'achat ou de collecte ou restaurant <i>Marché, Supermarché, Poissonnerie, Pêche à pied (précisez la ville)</i>	Crues ? (O/N)
/ ___ / ___ / ___ /				
/ ___ / ___ / ___ /				
/ ___ / ___ / ___ /				
/ ___ / ___ / ___ /				
/ ___ / ___ / ___ /				
/ ___ / ___ / ___ /				

(Liste non limitative de provenance d'huîtres : Toulon, Bouzigue (étang de Thau), Leucate, Bassin d'Arcachon, Estuaire de la Gironde, Marennes Oléron, La Rochelle, Les Sables d'olonne, Noirmoutier, Le Croisic, Golfe du Morbihan, Belon, Brest, Morlaix, Paimpol, Saint Brieuc, Cancale, Saint Vaast, Sygny...)

Consommation d'autres coquillages

Date de consom.	Types de coquillages	Quantité	Lieu d'achat ou de collecte ou restaurant Marché, Supermarché, Poissonnerie, Pêche à pied (précisez la ville)	Crues ? (O/N)
/ ____ / ____ / ____ /				
/ ____ / ____ / ____ /				
/ ____ / ____ / ____ /				

Toujours dans les 2 à 8 semaines avant le début de la maladie

Consommation de crevettes ?	oui	non	ne sait pas
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Eau de boisson d'eau de puits privé, de source, de lac ou de cours d'eau ?
Si oui précisez

Consommation de salaisons, porc

Si oui préciser
Saucisson sec
Saucisse de foie de porc
Foie de porc
Autres produits dérivés du porc
Exclusion totale du porc de l'alimentation

Consommation de gibier

Si oui précisez
Sanglier
Lièvre
Cerf/biche
Autre

Consommation de fraises, ou autres fruits rouges ?

du / ____ / ____ / ____ / au / ____ / ____ /

Si oui :
Fraîches.....

Congelées.....

Consommation de produits rapportés d'un autre pays ? oui non

Si oui précisez le produit _____

Sa provenance _____

Toujours dans les 2 à 8 semaines avant le début de la maladie

Contact avec des animaux de compagnie oui non

Précisez type :

Cochon Vietnamien, Thai

Lieu : domicile autres

Dates si autre que domicile :

Contact avec d'autres animaux oui non

Si oui précisez avec quel(s) animal(s) aux

- Sauvages : cerf/biche sanglier lièvre autres

quel(s) type(s) de contact (décrire): _____

- De ferme/élevage : porcs

Bovin Ovin Caprin Chevaux

quel(s) type(s) de contact (décrire): _____

Pratique de la Chasse ou préparation de produits de la chasse

Si oui préciser cerf/biche sanglier lièvre autres

Visite ou séjour dans une ferme (loisirs) oui non

Précisez date

Lieu _____

Type d'animaux de la ferme _____

	oui	non	Nsp
<u>Baignade en eau douce, ruisseau/fleuve</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Si oui, nature et lieu : _____

<u>Baignade collective (piscine, pataugeoire ou autres)</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<u>Contact avec les égouts</u>			

<u>Activité de jardinage, culture potagère</u>	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------

<u>Arrosage avec eau de forage privé</u>	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------

Toujours dans les 2 à 8 semaines avant le début de la maladie

Repas commun :

Le patient a-t-il participé à une fête, kermesse, mariage ?
du / ____ / ____ / ____ au / ____ / ____ / ____

Si oui date et nature du repas collectif : Date : ____ / ____ / ____
collectif

Des convives ont-ils développés une hépatite ?

Si oui, précisez les dates de survenue : ____ / ____ / ____
____ / ____ / ____
____ / ____ / ____
____ / ____ / ____

Commentaires libres

Annexe 4

Organismes internationaux

- Organisation Mondiale de la Santé (OMS ou World Health Organization WHO en anglais) : www.who.int/fr/
- Eurosurveillance : www.eurosurveillance.org
- Réseau Med.vet.net : www.medvetnet.org/cms/

Organismes nationaux

États-Unis

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) : www.cdc.gov/
- Center for Food Safety and Applied Nutrition : www.cfsan.fda.gov

France

- Ministère de la Santé : www.sante-jeunesse-sports.gouv.fr/
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) : www.afssa.fr/
- Institut de Veille Sanitaire: www.invs.sante.fr
- Centre National de Références des Virus des Hépatites entéro-transmissibles (CNR) : www.cnr.vha-vhe.aphp.fr/
- Institut Pasteur : www.pasteur.fr/sante/
- Hépatite Info Service : www.hepatites-info-service.org/
- Sentiweb : www.b3e.jussieu.fr

L'HÉPATITE E D'ORIGINE ZOONOTIQUE

NOM et Prénoms : MARULIER Fleuriane Marine

Résumé :

Parmi les hépatites virales affectant l'Homme, l'hépatite E est toujours largement méconnue. Dans les pays en voie de développement, l'hépatite E, due au Virus de l'Hépatite E (VHE) est la principale cause d'hépatite entérotransmissible et affecte des milliers de personnes. Dans les pays industrialisés, des formes autochtones de l'hépatite E ont été découvertes depuis une dizaine d'années et leur nombre semble s'accroître. L'origine de ces formes autochtones reste majoritairement indéterminée. Néanmoins l'identification de souches virales chez les suidés, principalement le porc, génétiquement très proches des souches humaines a soulevé la question d'une transmission zoonotique du VHE. Quelques cas de transmission alimentaire au Japon depuis 2003 ont confirmé le caractère zoonotique possible du VHE de génotypes 3 et 4 et permis d'identifier quelques facteurs de risque mais de nombreuses questions restent encore en suspens afin d'établir des mesures préventives.

Mots clés : MALADIE VIRALE – HÉPATITE E – VIRUS – ZOONOSE – PROXIMITE GÉNÉTIQUE – FACTEUR DE RISQUE – HOMME – PORC – PAYS INDUSTRIALISÉS – PAYS EN VOIE DE DEVELOPPEMENT.

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. Marc ELOIT

Assesseur : Pr. Nadia HADDAD – HOANG-XUAN

Invité : Mme Nicole PAVIO

Adresse de l'auteur :

M^{elle} MARULIER Fleuriane
20 allée des Mésanges
95360 MONTMAGNY
FRANCE

HEPATITIS E FROM ZOONOTIC ORIGIN

SURNAME: MARULIER

Given name: Fleuriane

Summary:

Among human viral hepatitis, hepatitis E is still widely unknown. The etiological agent is the Hepatitis E Virus (HEV). In developing countries, hepatitis E, is a major health concern and is today the first enterically-transmitted hepatitis. In industrialized countries, sporadic autochthonous cases have been identified during the past decade and their number seems to be increasing. In most of these cases, the source of infection remains unknown. Nevertheless, the identification of similar HEV strains in humans and pigs suggested that this disease could be of zoonotic origin. To date, only food-borne zoonotic transmission cases in Japan have been evidenced. Thus hepatitis E is a zoonosis but it is still unknown which proportion of human cases are from animal origin, even if several risk factors have been identified. In order to propose preventive measures, several questions remain to be solved.

Keywords: VIRAL DISEASE – HEPATITIS E – VIRUS – GENETIC PROXIMITY – RISK FACTOR – HUMAN – SWINE – INDUSTRIALISED COUNTRIES – DEVELOPPING COUNTRIES.

Jury:

President: Pr.

Director: Pr. Marc ELOIT

Assessor: Pr. Nadia HADDAD– HOANG-XUAN

Guest: Mme Nicole PAVIO

Author's address:

Miss MARULIER Fleuriane
20 allée des Mésanges
95360 MONTMAGNY
FRANCE