

Etat de l'art et stratégie d'approche

PARTIE 1.1. Le virus de l'hépatite E, du porc à l'homme

I. Le virus de l'hépatite E : caractéristiques générales et maladie associée chez l'homme

I.1. Brève approche historique de l'hépatite E

Des premières descriptions de jaunisse 2 000 ans avant notre ère à la caractérisation des hépatites virales au XX^{ème} siècle, l'histoire des hépatites est longue. Dès 1947, McCallum différencie deux grands types d'hépatites : l'une transmissible par voie orale, l'autre par voie parentérale, qu'il nomme respectivement hépatite A et hépatite B. L'identification du virus de l'hépatite B (HBV) par Baruch Blumberg dans les années 1960 et du virus de l'hépatite A (HAV) par Stephen Feinstone dans les années 1970 permet de mettre en évidence l'existence de cas d'hépatites virales causés ni par le HAV ni par le HBV (Feinstone *et al.*, 1975). Ces **hépatites dites « non A - non B »** se présentent elles-mêmes sous deux formes différentes : (i) les hépatites non A - non B à transmission parentérale et à évolution chronique, présentes dans les pays industrialisés et dans les pays en voie de développement, et dont l'agent responsable, le virus de l'hépatite C, est identifié en 1989 ; (ii) les hépatites non A - non B à transmission féco-orale, circulant majoritairement sous forme de larges épidémies dans les pays en voie de développement, et dont l'agent responsable, **le virus de l'hépatite E (HEV), est décrit en 1983 par Mikhail Balayan** (Balayan *et al.*, 1983). Virologue russe, Balayan conduit une expérience consistant en l'ingestion volontaire d'un filtrat de selles provenant d'un patient ayant présenté une hépatite de type épidémique non-A à Tashkent en Asie centrale. Balayan développe alors une hépatite aiguë et observe des particules de 27 à 32 nm de diamètre en microscopie électronique dans ses propres selles. Il classe alors le virus dans la famille des Picornaviridae, en le décrivant comme filtrable et transmissible. Un modèle animal est alors développé, avec transmission de l'agent infectieux chez des primates non humains (PNH) (Abe *et al.*, 1986). En 1989, l'équipe de Daniel Bradley, qui avait développé le modèle animal d'infection du virus non A - non B chez le macaque, publie la découverte de l'agent viral responsable des hépatites

non A - non B de type entérique : le virus de l'hépatite E (Krawczynski et Bradley, 1989; Purcell, 1993). C'est en 1991 que la structure génomique du HEV est caractérisée par des techniques de clonage et de séquençage par Tam *et al.* (1991). En 2002, éclairée par la structure et l'organisation génomique du virus, l'équipe d'Emerson classe le HEV dans la famille des Hepeviridae (Emerson et Purcell, 2004).

Si la caractérisation moléculaire et génomique du HEV a été tardive, le virus était déjà responsable à la fois d'épidémies d'hépatites aiguës mais également de cas sporadiques depuis plusieurs décennies (Kamar *et al.*, 2014). Les **zones dites « endémo-épidémiques »** se caractérisent par un faible niveau d'hygiène et un accès rare à l'eau potable. Par exemple, en octobre 1955, des pluies diluviennes entraînèrent une contamination d'une station de pompage de la banlieue de New Delhi, alimentant un million d'habitants en eau potable. Entre décembre 1955 et janvier 1956, 29 300 habitants de la région développèrent une hépatite aiguë (Viswanathan, 2013). Rétrospectivement, il a été montré qu'il s'agissait d'un virus d'hépatite non A - non B, probablement le HEV (Chuttani *et al.*, 1966; Wong *et al.*, 1980). Le HEV a ensuite été incriminé dans d'autres épidémies, notamment au Cachemire, en Afrique et au Mexique. Plus récemment, en 2004, une épidémie d'hépatite E a eu lieu au Soudan et au Tchad, avec 6 861 cas et 87 décès, et 1 442 cas et 46 décès, respectivement.⁴ Des **cas sporadiques importés** ont également été décrits dans les pays industrialisés, généralement liés aux voyages et à l'immigration depuis les zones endémiques (Kamar *et al.*, 2014).

Des **cas sporadiques autochtones** ont également été rapportés en Europe, au Japon et aux Etats-Unis (Kamar *et al.*, 2014). Des souches génétiquement différentes des souches endémiques ont été isolées et des souches animales ont été caractérisées. En particulier, en 1995, des anticorps anti-HEV et des ARN (acide ribonucléique) du HEV ont été mis en évidence chez des porcs au Népal (Clayson *et al.*, 1995), puis une souche animale du HEV a été isolée et caractérisée chez un porc aux Etats-Unis (Meng *et al.*, 1997). C'est dans ce contexte que l'hypothèse de « maladie exotique » a progressivement été remise en cause, pour laisser place à celle de « **maladie émergente** ». Ainsi, alors que les épidémies d'hépatite E dans les pays en voie de développement sont liées à l'eau souillée, les cas sporadiques semblent s'expliquer par la présence d'une transmission inter-espèces du virus et l'existence d'un ou de plusieurs réservoirs animaux (Pavio *et al.*, 2017).

⁴ World Health Organization, 2004. Hepatitis E in Sudan - update 3. Hepatitis E in Chad - update 4. Disponibles à : http://www.who.int/csr/don/2004_09_28/en/ et http://www.who.int/csr/don/2004_09_27a/en/

I.2. Etiologie de l'hépatite E

I.2.a. Caractéristiques générales du virus de l'hépatite E

- (i) Structure du virus de l'hépatite E et de son génome

Le HEV est un **virus sphérique, non enveloppé, à symétrie icosaédrique, de 32 à 34 nm de diamètre** (Tam *et al.*, 1991). Le génome du HEV est constitué d'un **ARN monocaténaire de polarité positive** d'une longueur d'environ **7,2 kilobases**, terminé aux extrémités par deux séquences non codantes impliquées probablement dans la régulation de la réplication virale (Figure 2). Il comporte **trois Open-Reading Frame (ORF, Cadre Ouvert de Lecture)** (Purcell et Emerson, 2008). L'ORF1 code des protéines non structurales (environ 1 700 acides aminés) impliquées dans la réplication virale, la transcription et la coupure des polyprotéines (Kaur *et al.*, 1992; Koonin *et al.*, 1992; Sehgal *et al.*, 2006; Suppiah *et al.*, 2011). L'ORF2 code la protéine constituant la capsid (660 acides aminés). Elle est impliquée dans l'assemblage du virus, l'encapsidation et la réponse immunitaire de l'hôte au virus (Jameel *et al.*, 1996; Zafrullah *et al.*, 1999; Surjit *et al.*, 2004). L'ORF3 code, lui, pour une petite phosphoprotéine de 113 acides aminés, VP13 (Tang *et al.*, 2011). Le rôle de la protéine VP13 n'est pas encore complètement élucidé mais, en plus d'être associée au cytosquelette, elle **réduirait la réponse inflammatoire de l'hôte** et protégerait les cellules infectées par le virus (Graff *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2011). Elle interagit avec différentes protéines cellulaires et jouerait un rôle dans les voies d'induction de l'interféron et la libération des virions (Takahashi *et al.*, 2008; Dong *et al.*, 2012; Nan *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2014; Osterman *et al.*, 2015; Ding *et al.*, 2017). L'ORF3 pourrait également inhiber la réponse inflammatoire en **réduisant la phagocytose par les macrophages** via la régulation négative de l'expression des protéines CD14 et CD64 (Lei *et al.*, 2019). Récemment, un **nouvel ORF** a été découvert dans le génome des souches de HEV-1 : l'ORF4 code une protéine exprimée en cas de stress du réticulum endoplasmique ; associée à d'autres protéines, elle forme un complexe capable d'augmenter la réplication virale (Nair *et al.*, 2016).

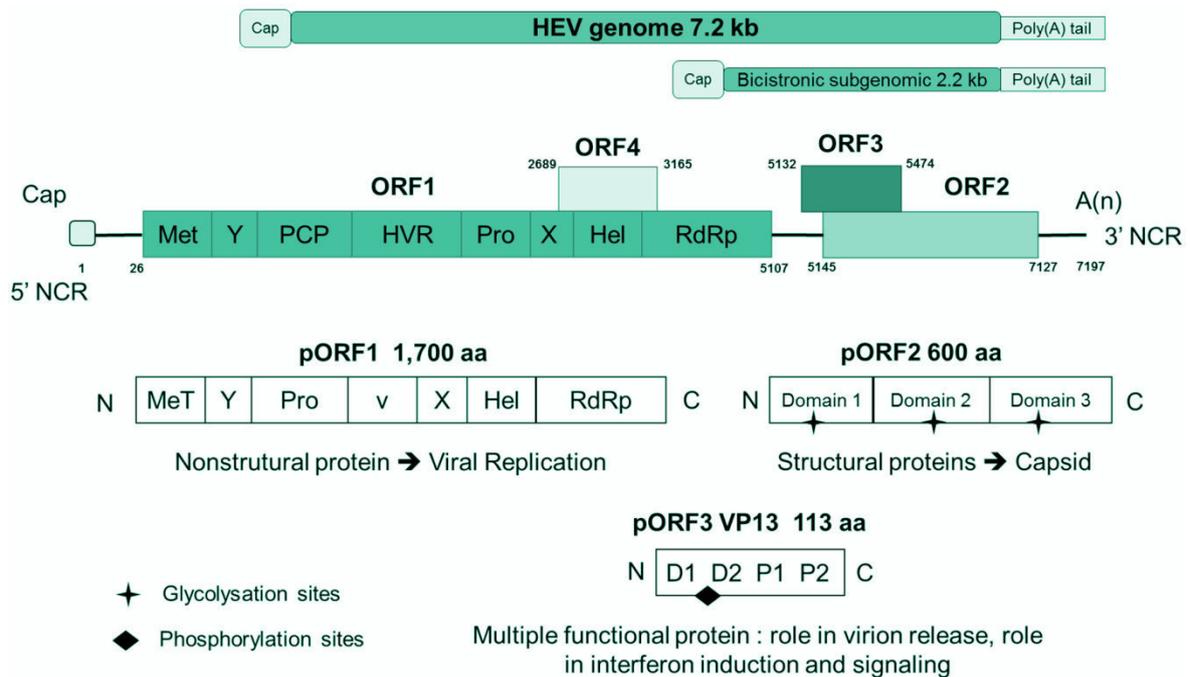


Figure 2 - Organisation du génome du virus de l'hépatite E et structure protéique associée

Source : d'après Capai *et al.* (2018)

(ii) Cycle de réplication virale

Les mécanismes hypothétiques de réplication virale du HEV sont présentés dans la Figure 3. Le virus se multiplie **principalement dans les hépatocytes** mais un intermédiaire de la réplication (ARN de polarité négative) a été détecté dans le **colon, l'intestin et les nœuds lymphatiques de porcs** (Williams *et al.*, 2001) ainsi que dans le **liquide cérébro-spinal et le cœur de patients infectés** (Kamar *et al.*, 2010b). Le récepteur cellulaire du HEV n'est pas encore connu mais la présence de **protéoglycanes à héparane sulfate**, associée à des protéines de stress (*Heat Shock Proteins Hsc 70*), apparaissent nécessaires pour l'attachement du virus aux cellules cibles (*Etapes 2 et 3*) (Zhou et Emerson, 2006; Kalia *et al.*, 2009). Ensuite, le HEV entre dans la cellule par endocytose (*Etape 4*) (Kapur *et al.*, 2012; Holla *et al.*, 2015). L'ARN viral est libéré dans le cytoplasme (*Etape 5*) et est traduit en une protéine non structurale de l'ORF1 (pORF1) (*Etape 6*). L'ARN génomique de polarité positive est ensuite copié en un brin d'ARN de polarité négative (*Etape 7*), qui permet ensuite la synthèse d'ARN génomiques et sous-génomiques (*Etapes 8a et 8b*) (Purdy *et al.*, 1993b). Les ORF2 et ORF3 sont traduits (*Etape 9*) pour produire les protéines structurales qui permettent l'encapsidation des brins d'ARN nouvellement produits (*Etape 10*) (Graff *et al.*, 2006; Yamada *et al.*, 2009). Les virions

quittent alors la cellule par des protéines de l'ORF3 fixées sur les membranes endoplasmiques (*Etape 11a*) ou sur la paroi cellulaire (*Etape 11b*). Les virions sont libérés à l'extérieur de la cellule (*Etape 12*), soit sous **forme quasi-enveloppée** en étant attachés à des protéines de l'ORF3 et des lipides (dans le sang), soit sous forme libre (dans la bile) (Nagashima *et al.*, 2011; Nagashima *et al.*, 2014).

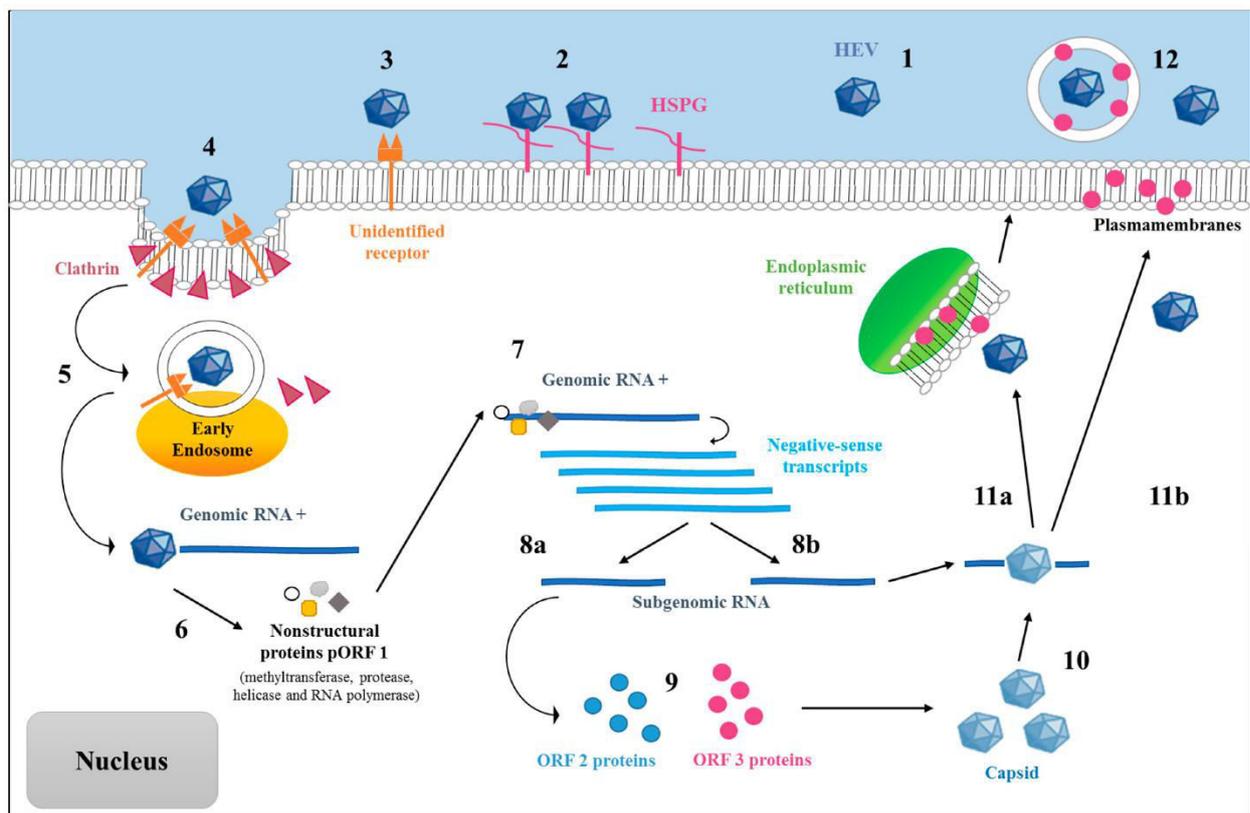


Figure 3 - Cycle de réplication supposé du virus de l'hépatite E

Source : Capai *et al.* (2018)

1.2.b. Diversité du virus de l'hépatite E et taxonomie

Le virus de l'hépatite E appartient à la famille des **Hepeviridae** et au genre des *Orthohepevirus*, qui comprend quatre espèces (A à D). Les souches de HEV humaines et zoonotiques font partie de l'espèce *Orthohepevirus A*, qui comprend huit génotypes (Figure 4) (Smith *et al.*, 2014).

Les génotypes 1 et 2 n'infectent que l'homme, ils sont génétiquement proches (76 % d'homologie). Si le HEV-1 est bien décrit et comprend six sous-types (1a à 1f), le HEV-2 est

moins bien connu et est divisé en deux sous-types (2a et 2b) (Smith *et al.*, 2016). Les souches de génotype 1 circulent principalement en Asie, en Afrique et au Mexique, celles de génotype 2 sont principalement retrouvées au Mexique, au Tchad et au Nigeria (Huang *et al.*, 1992; Buisson *et al.*, 2000; Nicand *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2006; Zehender *et al.*, 2014).

Les génotypes 3 et 4 sont partagés par l'homme et plusieurs espèces animales. Le **génotype 3** est le mieux décrit et le plus documenté dans Genbank. Il comprend dix sous-types (3a à 3j) et deux clades (3abchij et 3efg) (Oliveira-Filho *et al.*, 2013; Ijaz *et al.*, 2014; Smith *et al.*, 2015; Vina-Rodriguez *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2016). D'autres souches de génotype 3 forment un sous-type nommé sous-type 3ra, car elles infectent le lapin (Smith *et al.*, 2016). Ce sous-type inclut aussi une souche isolée à partir d'un cas humain d'hépatite E en France (Izopet *et al.*, 2012). De **nouveaux isolats** sont régulièrement séquencés et **la classification des sous-types du HEV est évolutive**. Ainsi, très récemment, deux nouveaux sous-types ont été proposés. Le premier, dénommé 3l, correspond à des souches de HEV isolées chez des porcs italiens (De Sabato *et al.*, 2018) ; le second, dénommé 3s, correspond à une souche de HEV isolée du foie d'un porc en Suisse (Wist *et al.*, 2018). Au vu des dernières avancées moléculaires et phylogénétiques, le **réseau HEVnet** a d'ailleurs été récemment créé. Il s'agit d'un réseau de laboratoires européens, coordonné par le RIVM (*Dutch National Institute for Public Health and the Environment*), qui a pour objectif le partage des données moléculaires relatives au HEV. Cette collaboration vise notamment à étudier les évolutions et la diffusion du virus, à conduire des études d'attribution de source et d'épidémiologie moléculaire, à mieux comprendre les relations entre le type de souches et les différentes formes cliniques d'hépatite E décrites chez l'homme (Mulder *et al.*, 2019).

Le **génotype 4** est divisé en neuf sous-types (4a à 4i), principalement isolés chez le **sanglier, le porc et l'homme** (Pavio *et al.*, 2017). Le HEV-4 a aussi été détecté chez les ovins, les bovins et les caprins en Chine mais il n'est pas encore déterminé si ces espèces sont des réservoirs du HEV-4 ou des hôtes accidentels (Wu *et al.*, 2015b; Wu *et al.*, 2015a).

Les génotypes 5 et 6 n'ont été détectés que chez les sangliers, aucune infection humaine par ces génotypes n'a été rapportée (Doceul *et al.*, 2016). Néanmoins, Li *et al.* (2019) ont récemment montré qu'il était possible d'infecter expérimentalement des macaques crabiers avec une souche de HEV-5. Le génotype 7 comprend trois séquences, incomplètes. Deux d'entre elles ont été isolées chez des chameaux (Woo *et al.*, 2014), la troisième provient d'un

patient humain transplanté consommant régulièrement de la viande et du lait de chameau (Lee *et al.*, 2016). D'autres souches isolées chez des chameaux en Chine ont été classifiées comme appartenant au génotype 8 (Woo *et al.*, 2016).

Les souches d'*Orthohepevirus B* ont été isolées chez des poulets ; elles sont divisées en quatre génotypes, avec une large répartition géographique et peu de divergence génétique (Huang *et al.*, 2004; Bilic *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2016). Les souches d'*Orthohepevirus C* ont été détectées chez le rat, des pérégrins et la musaraigne des maisons (C1) ainsi que chez des furets et des visons (C2) (Guan *et al.*, 2013; Krog *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2016). L'espèce *Orthohepevirus D* n'inclut que le HEV de la chauve-souris (Drexler *et al.*, 2012). Récemment, une autre souche de HEV a été caractérisée chez des faucons en Europe, et pourrait constituer une nouvelle espèce d'*Orthohepevirus* (Reuter *et al.*, 2016).

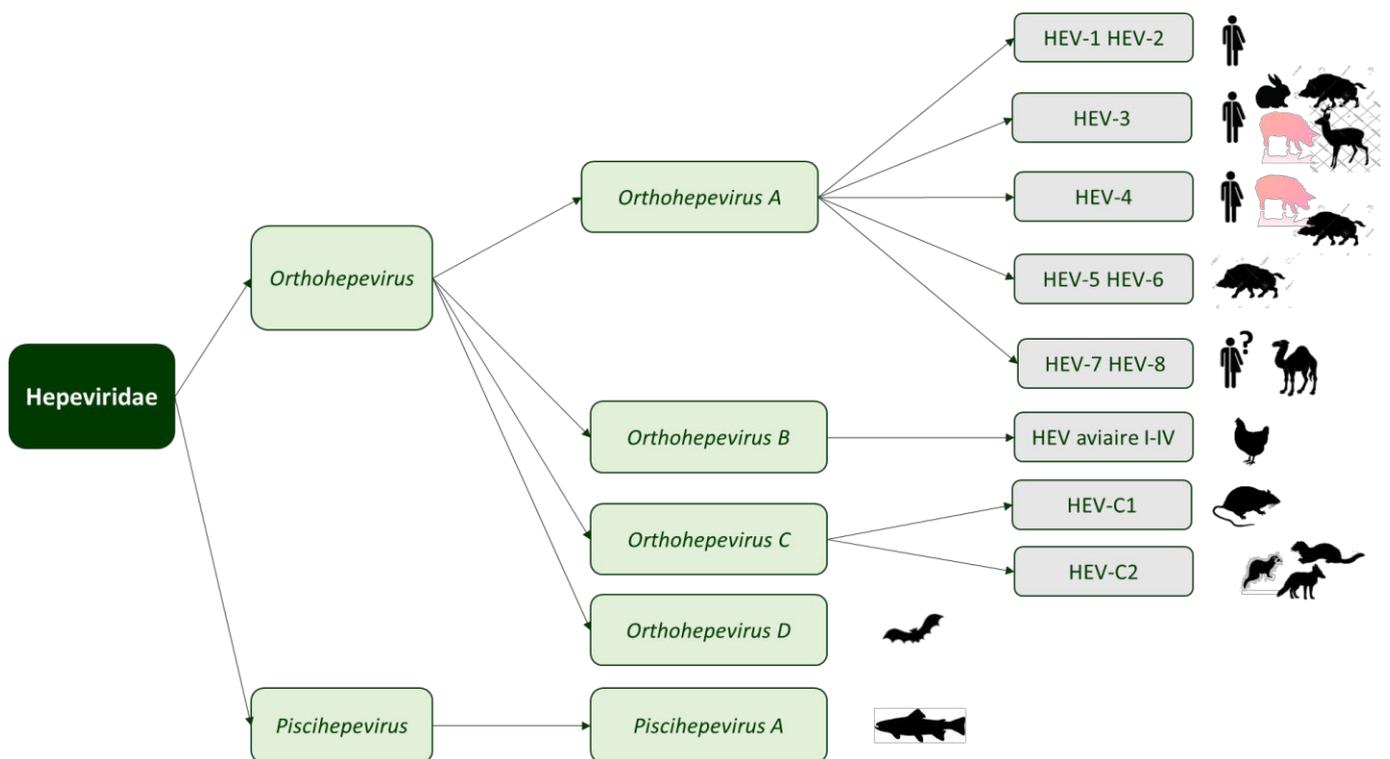


Figure 4 - Classification phylogénétique des génotypes de la famille des Hepeviridae

I.2.c. Méthodes d'étude in vitro et in vivo du virus de l'hépatite E

(i) Culture cellulaire du virus de l'hépatite E

Le HEV est un virus **extrêmement difficile à cultiver *in vitro***, notamment parce qu'il se réplique à des titres très bas. Des essais plus ou moins fructueux de production de HEV *in vitro* ont été réalisés par de nombreuses équipes de recherche, d'abord en utilisant des hépatocytes primaires de primates non humaines (PNH, chimpanzés, macaques crabiers, tamarins) puis à partir de diverses lignées cellulaires humaines, comme des cellules hépatiques embryonnaires (WRL68), des cellules d'hépatomes (PLC/PRF/5, HepG2 et Huh-7), des cellules de carcinomes de colon (Caco-2), des cellules diploïdes embryonnaires pulmonaires (2BS), des cellules de fibroblastes embryonnaires pulmonaires (MRC-5), des cellules cancéreuses pulmonaires (A549). Les deux lignées les plus utilisées sont les **lignées A549 et PLC/PRF/5**.

La réplication du HEV dans les cellules de culture peut être suivie par différentes techniques de détection, notamment l'**observation de l'effet cytopathique (ECP)**, la **détection des ARN viraux ou des protéines virales**. Lorsqu'un ECP peut être observé visuellement, l'essai est relativement facile à mettre en œuvre. Néanmoins, avec certaines lignées cellulaires, il n'y a pas d'ECP, ou la mise en place de l'ECP est longue, ce qui nécessite d'amplifier l'ARN viral par RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) ou de détecter des protéines virales par immunofluorescence ; l'essai est alors plus **long et coûteux** à mettre en place. Bien que certaines lignées cellulaires (PLC/PRF/5 et A549) aient été utilisées avec succès dans plusieurs publications indépendantes, **des études de répétabilité et de reproductibilité inter-laboratoires manquent encore actuellement**. De plus, la plupart des systèmes de culture cellulaire du HEV **ne permet pas d'obtenir des concentrations élevées de HEV infectieux** dans le surnageant.

L'une des principales applications de la culture *in vitro* du HEV est **l'évaluation de l'infectiosité des particules virales détectées dans les aliments**. En effet, les systèmes de culture cellulaire pourraient permettre de mesurer de manière non-ambiguë l'infectiosité du HEV ; l'utilisation de réplicats et d'analyses simultanées d'un grand nombre d'échantillons pourrait conduire à un plus grand degré de confiance dans les résultats qu'en utilisant des expérimentations animales. De plus, la culture *in vitro* devrait être plus facile à standardiser que les essais sur animaux, tout en étant moins coûteuse et plus éthique. Néanmoins, les cellules

cultivées peuvent être détériorées par des substances co-extraites des produits à base de porc lors du traitement des échantillons (Cook *et al.*, 2017), et seulement trois études ont réussi à isoler du HEV de produits porcins en utilisant des systèmes de culture cellulaire (Takahashi *et al.*, 2012; Berto *et al.*, 2013a; Berto *et al.*, 2013b). En particulier, Berto *et al.* (2013b) ont construit un système sophistiqué de culture cellulaire en trois dimensions, grâce auquel ils ont pu détecter la réplication virale par RT-PCR ; cette méthode s'est avérée reproductible dans deux laboratoires. A ce jour, les systèmes de culture *in vitro* du HEV sont donc considérés comme une **approche très prometteuse** pour évaluer le potentiel infectieux du HEV détecté dans les aliments. Les efforts de recherche sont actuellement dirigés vers le **développement de systèmes de culture cellulaire validés, répétables et reproductibles** (Cook *et al.*, 2017).

(ii) Modèles animaux de l'infection humaine par le virus de l'hépatite E

Notamment du fait de la difficulté des approches *in vitro*, de nombreux modèles animaux du HEV ont été développés, soit chez des **PNH**, soit chez des **porcs** ou **petits animaux**. Les modèles animaux⁵ présentent de nombreux avantages : ils permettent d'étudier la pathogénicité, de comprendre les mécanismes de réplication virale, de tester des vaccins ou traitements.

Plusieurs espèces de PNH sont sensibles à l'infection par le HEV (chimpanzés, singes rhésus, tamarins, *etc.*) (Vital *et al.*, 1998). L'infection et la transmission naturelles inter-singes du HEV dans un groupe de PNH ont été montrées au Japon (Yamamoto *et al.*, 2012). De plus, des infections expérimentales par des souches HEV-1 à HEV-4 ont été réalisées chez des macaques rhésus et des macaques crabiers et ont servi à développer les **premiers modèles de l'infection par le HEV** et à **caractériser les réponses clinique et immunitaire** à l'infection, qui sont **similaires chez les PNH et l'homme** (Bradley *et al.*, 1987; Longer *et al.*, 1993; Tsarev *et al.*, 1993; Tsarev *et al.*, 1995; Erker *et al.*, 1999; Aggarwal *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2009). Ces modèles ont également été utilisés pour **tester l'efficacité de vaccins** (Purdy *et al.*, 1993a; Tsarev *et al.*, 1994) et **évaluer le potentiel zoonotique de différentes souches virales** (Meng *et al.*, 1998; Arankalle *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2015).

⁵ « En recherche biomédicale, un modèle animal est un modèle permettant l'étude de données de référence sur la biologie ou le comportement, ou chez lequel on peut étudier un processus pathologique spontané ou induit, celui-ci ayant un ou plusieurs aspects communs avec un phénomène équivalent chez l'humain ou d'autres espèces animales. » *American National Research Council Committee on Animal Models for Research and Aging.*

Des souches porcines de HEV ont été identifiées pour la première fois en 1997 (Meng *et al.*, 1997) ; le porc est un **hôte naturel** du HEV-3 et HEV-4. Les **modèles porcins** servent essentiellement à étudier la **transmission inter-espèces** du HEV – expérimentale ou naturelle, par exemple de l’homme au porc (Meng *et al.*, 1998; Halbur *et al.*, 2001; Feagins *et al.*, 2008b), du sanglier au porc (Schlosser *et al.*, 2014; Schlosser *et al.*, 2015), du lapin au porc (Cossaboom *et al.*, 2012). En revanche, l’infection par le HEV chez le porc diffère de celle chez l’homme : par exemple, le porc ne présente aucun signe clinique après une infection par le HEV, ni d’élévation des enzymes hépatiques. **Le modèle porcin est donc peu approprié pour l’étude de la pathogénie du HEV ni pour le développement de solutions thérapeutiques ou prophylactiques.** Le modèle porcin pourrait néanmoins permettre d’étudier les **hépatites E chroniques** chez l’homme, puisqu’il a été montré que, dans certaines circonstances, le porc pouvait développer une infection chronique par le HEV (Salines *et al.*, 2015b). De même, le lapin ne développe pas d’hépatite clinique après une infection par le HEV. Ainsi, de tels modèles sont utilisés principalement pour l’étude de l’infection causée par des souches cunicoles de HEV et pour l’évaluation de vaccins adaptés à ces souches (Cheng *et al.*, 2012). La pertinence des modèles rat et furet est également discutée, notamment car les souches de HEV infectant ces espèces sont éloignées des souches humaines, ce qui limite les perspectives en termes thérapeutiques et prophylactiques (Doceul *et al.*, 2016).

D’autres modèles ont été développés en utilisant des animaux qui ne sont pas des hôtes naturels du HEV. Par exemple, la **gerbille de Mongolie** (*Meriones unguiculatus*), espèce couramment utilisée en expérimentation animale, pourrait constituer un modèle animal intéressant pour l’étude de la réplication du HEV et de sa pathogénie. En effet, plusieurs études ont conduit avec succès des infections expérimentales de gerbilles de Mongolie avec une souche de HEV-4 provenant de foie de porc contaminés (Li *et al.*, 2009b; Yang *et al.*, 2015). Le virus a été détecté dans le sang et les fèces mais aussi dans le foie, les reins, la rate, et le petit intestin. De plus, les modifications histopathologiques du foie des gerbilles infectées se sont révélées similaires à celles décrites chez l’homme ; de même, l’augmentation des enzymes hépatiques s’est avérée cohérente avec les analyses biochimiques humaines. Il a aussi été montré que les souches porcines de HEV-4 pouvaient se répliquer dans le cerveau et la moelle épinière des gerbilles, ce qui pourrait permettre d’utiliser ces animaux pour étudier les manifestations neurologiques de l’infection par le HEV chez l’homme (Shi *et al.*, 2016). Récemment, Hong *et al.* (2015) ont réussi à infecter des gerbilles de Mongolie avec une souche humaine de HEV-1 isolée chez un patient atteint d’hépatite E aiguë ; le tableau clinique et histopathologique

présenté par les gerbilles était alors cohérent avec les descriptions chez l'homme. Ainsi, **la gerbille de Mongolie pourrait être un modèle animal prometteur pour étudier l'infection par le HEV-1 et HEV-4 chez l'homme.**

Les souris sont également souvent utilisées comme modèles d'infections virales. Cependant, comme les porcs, les souris ne présentent pas d'hépatite clinique après inoculation par le HEV (Doceul *et al.*, 2016). Récemment, des **modèles murins ayant un foie humanisé (*human liver chimeric mice*)** ont été développés. Ainsi, Allweiss *et al.* (2016) ont repeuplé le foie de souris avec des hépatocytes humains, et les souris ont ensuite été inoculées avec des souches de HEV-1 ou HEV-3 provenant de patients infectés par le HEV. Les auteurs décrivent une virémie et une excrétion fécale du HEV chez ces souris chimériques, ainsi qu'une transmission virale entre les souris. De plus, il a été montré que des souris humanisées pouvaient développer une hépatite E chronique (van de Garde *et al.*, 2016; Sayed *et al.*, 2017). Enfin, plusieurs études ont montré que le traitement de souris humanisées infectées par le HEV avec de la ribavirine conduisait à une diminution de la charge virale dans le sang, les fèces et le foie (Allweiss *et al.*, 2016; Sayed *et al.*, 2017). Ainsi, **les modèles murins humanisés ouvrent des perspectives prometteuses pour l'étude des hépatites chroniques et l'évaluation de solutions thérapeutiques.**

1.2.d. Résistance du virus de l'hépatite E

Non enveloppé, le HEV est malgré tout relativement **résistant dans le milieu extérieur.**⁶ Il est **sensible aux désinfectants usuels** (hypochlorite de sodium, glutaraldéhyde), bien que la présence de matières organiques diminue de manière significative l'efficacité de ces désinfectants. Il résiste également à l'acidité gastrique et aux sels biliaires de l'homme et des animaux.

La **résistance thermique du HEV** a été évaluée de différentes manières, notamment par des approches *in vivo* du fait de la difficulté à cultiver le virus *in vitro*. En suivant la

⁶ EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Fernandez Escamez PS, Herman L, Koutsoumanis K, Lindqvist R, Nørrung B, Robertson L, Ru G, Sanaa M, Simmons M, Skandamis P, Snary E, Speybroeck N, Ter Kuile B, Threlfall J, Wahlström H, Di Bartolo I, Johne R, Pavio N, Rutjes S, van der Poel W, Vasickova P, Hempen M, Messens W, Rizzi V, Latronico F and Girones R, 2017. Scientific Opinion on the public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. EFSA Journal 2017;15(7):4886, 89 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4886>

séroconversion de porcs inoculés expérimentalement avec une suspension de cubes de foie contenant une souche de HEV-3 et ayant subi différents traitements thermiques, Feagins *et al.* (2008a) ont montré que l'incubation à 56°C pendant une heure n'affectait pas l'infectiosité du HEV, mais que la suspension n'était plus infectieuse après un traitement thermique à 191°C pendant 5 minutes (frit, température interne de 71°C) ou à 100°C (dans l'eau bouillante). En chauffant des suspensions fécales de HEV à des températures comprises entre 45°C et 70°C et après inoculation dans des systèmes de culture cellulaire, Emerson *et al.* (2005) ont obtenu des résultats similaires. Récemment, Imagawa *et al.* (2018) ont prouvé que des souches de HEV présentes dans de la **viande de porc** pouvaient être inactivées par un chauffage à **70°C pendant 5 minutes** et que la cuisson au bain-marie était plus efficace que la cuisson au grill. L'inactivation était plus rapidement obtenue à partir des échantillons de foie de porc que dans la longe de porc, et pour les souches de génotype 3 que les souches de génotype 4. Une autre étude, conduite sur une **matrice plus complexe**, un pâté de foie préparé selon une recette industrielle, montre qu'un **traitement à 71°C pendant 20 minutes** est nécessaire pour obtenir une inactivation complète du HEV (Barnaud *et al.*, 2012). En utilisant des modèles de culture cellulaire, Johne *et al.* (2016) ont montré que des particules virales infectieuses pouvaient résister jusqu'à **28 jours à température ambiante, et jusqu'à 56 jours à 4°C**. De plus, un traitement thermique à **70°C pendant 2 minutes** permet d'éliminer le HEV de ces cultures cellulaires.

A ce jour, **l'efficacité du séchage et de la salaison des produits alimentaires n'a pas été évaluée.**



Ce qu'il faut retenir

Le virus de l'hépatite E est un virus à ARN non enveloppé, qui présente une grande diversité génétique. Parmi les huit génotypes majeurs, les génotypes 3 et 4 sont les principaux génotypes zoonotiques. Les méthodes d'étude de ce virus sont délicates et les modèles *in vivo* et *in vitro* sont en constant développement.

Le virus est relativement résistant dans l'environnement et aux traitements thermiques.



Take home message

Hepatitis E virus is a non-enveloped RNA virus with a high genetic diversity. Of the eight major genotypes, genotypes 3 and 4 are the main zoonotic ones. The methods for studying this virus are tricky and *in vivo* and *in vitro* models are constantly being improved. The virus is relatively resistant in the environment and to heat treatments.

I.3. L'hépatite E chez l'homme

I.3.a. Epidémiologie descriptive de l'hépatite E chez l'homme

(i) Distribution du virus de l'hépatite E dans le monde

La distribution du HEV dans le monde est **hétérogène**, à la fois en termes de génotype circulant, de forme épidémiologique, et de prévalence (Figure 5). Les génotypes 1 et 2 circulent sous **forme endémo-épidémique** dans les pays en voie de développement où la fourniture en eau potable et l'assainissement ne sont pas maîtrisés. Le génotype 1 touche principalement l'Asie, l'Afrique et l'Amérique centrale, tandis que le génotype 2 affecte majoritairement les populations du Mexique, du Nigéria et du Tchad (Emerson et Purcell, 2003). Les génotypes 3 et 4, quant à eux, sont majoritairement responsables de **cas sporadiques autochtones** dans les pays développés (Etats-Unis, Europe, Taïwan, Japon, *etc.*), survenant principalement par consommation de produits contaminés provenant d'animaux réservoirs du HEV (Pavio *et al.*, 2017; Dalton et Izopet, 2018).

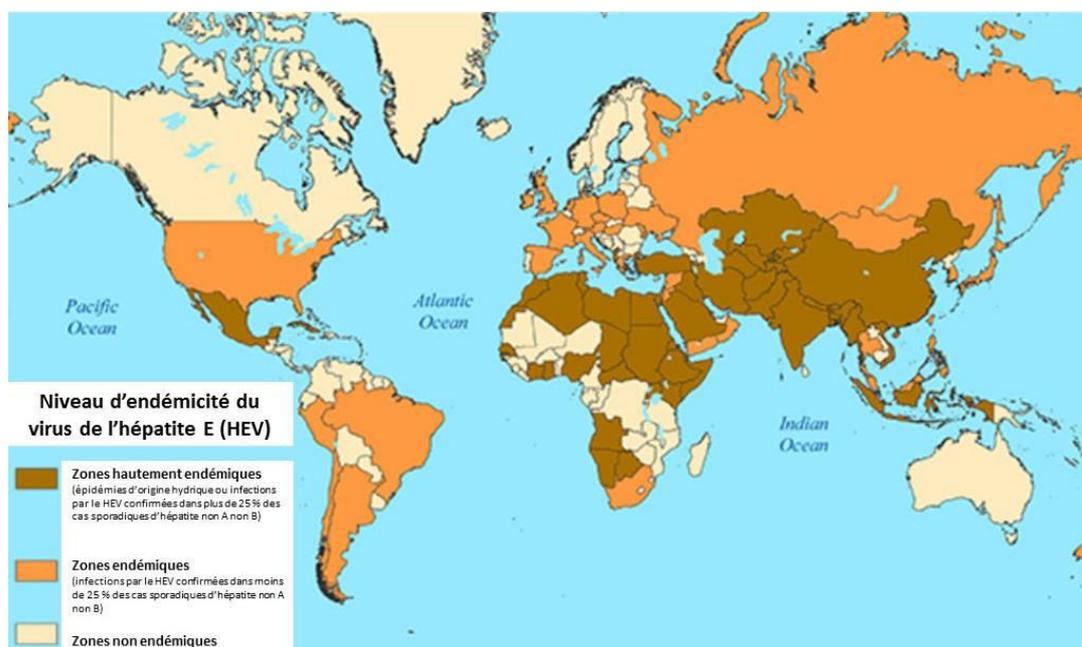


Figure 5 - Niveau d'endémicité du virus de l'hépatite E dans le monde

Source : d'après Center for Disease Control and prevention⁷

⁷ CDC, Center for Disease Control and prevention, disponible à : <https://www.cdc.gov/hepatitis/hev>

(ii) Données de séroprévalence et prévalence dans la population générale dans les pays industrialisés

La séroprévalence du HEV (Immunoglobulines G (IgG) anti-HEV) dans la population générale est classiquement estimée à partir d'échantillons de sera de donneurs de sang. A partir de ces données, Dalton et Izopet (2018) ont proposé de classer les pays industrialisés en **trois catégories selon leur niveau d'endémicité** : élevée (séroprévalence > 20 %), intermédiaire (10-20 %), faible (< 10 %). Une recherche bibliographique sur la période 2010-2018 met en évidence une **grande disparité** de la prévalence des IgG anti-HEV dans la population de donneurs de sang de divers pays industrialisés (Figure 6). Dans certains pays, la circulation du HEV peut ainsi être qualifiée d'**endémo-sporadique**. Néanmoins, ces études ont utilisé des tests sérologiques différents, ainsi que des tailles d'échantillons variables ; leur comparaison doit ainsi se faire avec prudence. Une récente méta-analyse, conduite à partir de 26 études provenant de 15 pays, a permis de calculer une séroprévalence globale de 19 % [14-25] dans les pays industrialisés (Capai *et al.*, 2019). La **prévalence chez les donneurs de sang** a été évaluée dans plusieurs pays, par exemple en Angleterre, où **2,6 pour 10 000** échantillons de sang contenaient de l'ARN du HEV sur la période 2016-2017 (Harvala *et al.*, 2019).

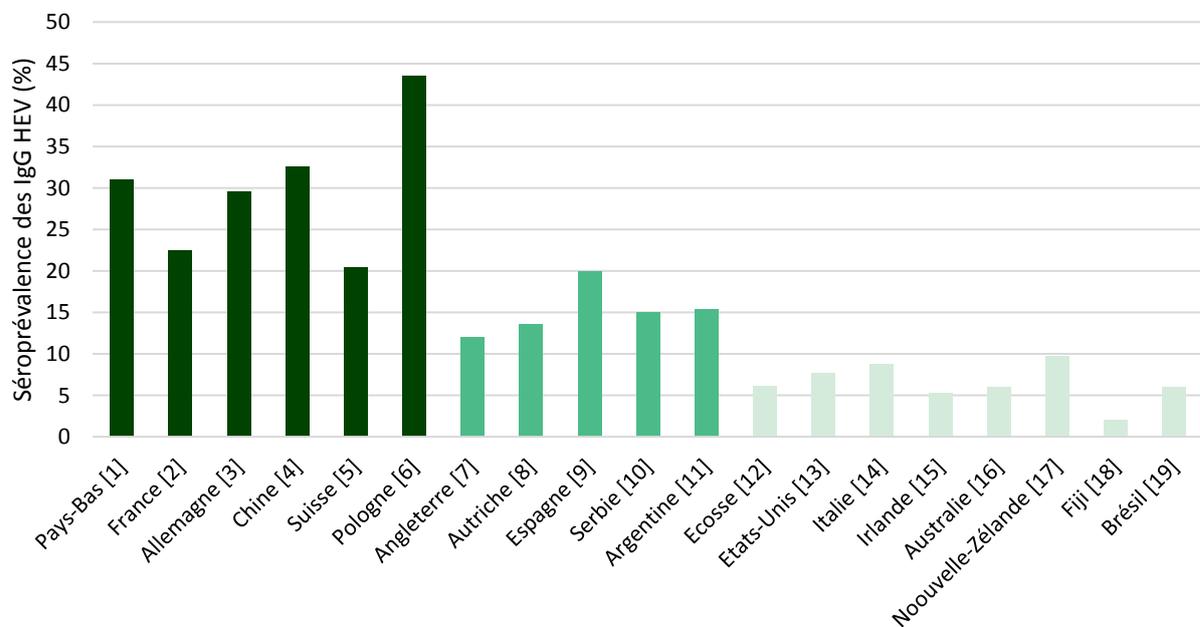


Figure 6 - Séroprévalence du virus de l'hépatite E chez les donneurs de sang dans les pays industrialisés de niveau d'endémicité élevé (séroprévalence > 20 %), intermédiaire (10-20 %) et faible (< 10 %)

Sources : [1] Mooij *et al.* (2018) [2] Mansuy *et al.* (2016) [3] Vollmer *et al.* (2012) [4] Guo *et al.* (2010) [5] Niederhauser *et al.* (2018) [6] Grabarczyk *et al.* (2018) [7] Beale *et al.* (2011) [8] Fischer *et al.* (2015) [9] Sauleda *et al.* (2015) [10] Petrovic *et al.* (2014) [11] Munne *et al.* (2014) [12] Thom *et al.* (2018) [13] Stramer *et al.* (2016) [14] Spada *et al.* (2018) [15] O’Riordan *et al.* (2016) [16] Shrestha *et al.* (2014) [17] Hewitt *et al.* (2018) [18] Halliday *et al.* (2014) [19] Tengan *et al.* (2019)

Par ailleurs, la plupart des études montre que la séroprévalence HEV est plus élevée chez les **hommes de plus de 50 ans** que dans le reste de la population générale (Dalton *et al.*, 2007b; Mansuy *et al.*, 2009a). Aucune explication n’est à ce jour avancée.

L’ECDC (*European Centre for Disease Control*) rapporte une augmentation du nombre de cas en Europe de 514 en 2005 à 5 617 en 2015, avec un total de 21 018 cas déclarés sur l’ensemble de la période. La France, le Royaume-Uni et l’Allemagne concentrent à eux seuls 80 % des cas (Aspinall *et al.*, 2017).

(iii) Quelle situation en France ?

En France, la **séroprévalence du HEV** dans la population générale a récemment été estimée à **22,4 %** [21,6-23,2] à partir de 10 569 échantillons de sérum de donneurs de sang (Mansuy *et al.*, 2016). Plusieurs études montrent l’**existence d’un gradient Nord-Sud**. En effet, la séroprévalence des donneurs de sang est comprise entre 34,0 et 52,5 % dans les régions du Sud-Ouest de la France (Mansuy *et al.*, 2011; Izopet *et al.*, 2015) contre 3,2 % pour les régions Ile-de-France et Pays de la Loire (Boutrouille *et al.*, 2007). Il convient cependant de noter que les tests sérologiques utilisés dans les deux études ne sont pas identiques, ceux de Boutrouille *et al.* (2007) se révélant moins sensibles. Ces données conduisent à qualifier la France de **pays endémique** vis-à-vis du HEV, voire **hyper-endémique dans certaines zones géographiques comme le Sud-Ouest**.

En 2014, une étude réalisée en France à partir de 57 101 échantillons de sérum de donneurs de sang a estimé la **prévalence du HEV à 2,65 pour 10 000** [1,6-3,7] soit 1/3800 dons de sang retrouvés ARN-HEV positifs (Pillonel *et al.*, 2014).

En France, le **nombre de cas rapportés au CNR en 2017** s’élève à 2 245, dont **2 219 cas autochtones** (Figure 7). Depuis 2007, plus de 90 % des souches autochtones étaient de

génotype 3 (Couturier *et al.*, 2018). De 2002 à 2011, le nombre total de cas rapportés au CNR a régulièrement augmenté (13 *versus* 266), avec ensuite une très forte augmentation entre 2012 et 2017. L'augmentation portait essentiellement sur le nombre de cas autochtones (**9 en 2002 versus 2 219 en 2017**). Cette incidence croissante du HEV est à mettre en relation avec le nombre de tests diagnostiques réalisés. En effet, en 15 ans de surveillance de l'hépatite E (2002-2016), le nombre de personnes pour lesquelles des échantillons ont été adressés pour un diagnostic d'hépatite E a augmenté de façon exponentielle (209 *versus* 76 000). Ainsi, à partir de 2010, la disponibilité des tests diagnostiques, une meilleure connaissance de l'hépatite E, et la nomination d'un nouveau CNR en 2012 ont entraîné une **augmentation considérable du nombre de personnes testées**, d'où une incidence croissante du nombre de cas autochtones. Au cours de la période 2002-2011, la **proportion de cas** diagnostiqués parmi les personnes testées est restée relativement stable, entre 6 et 10 % puis à partir de 2012, une **tendance à la diminution** a été observée, de 5 à 3 %.

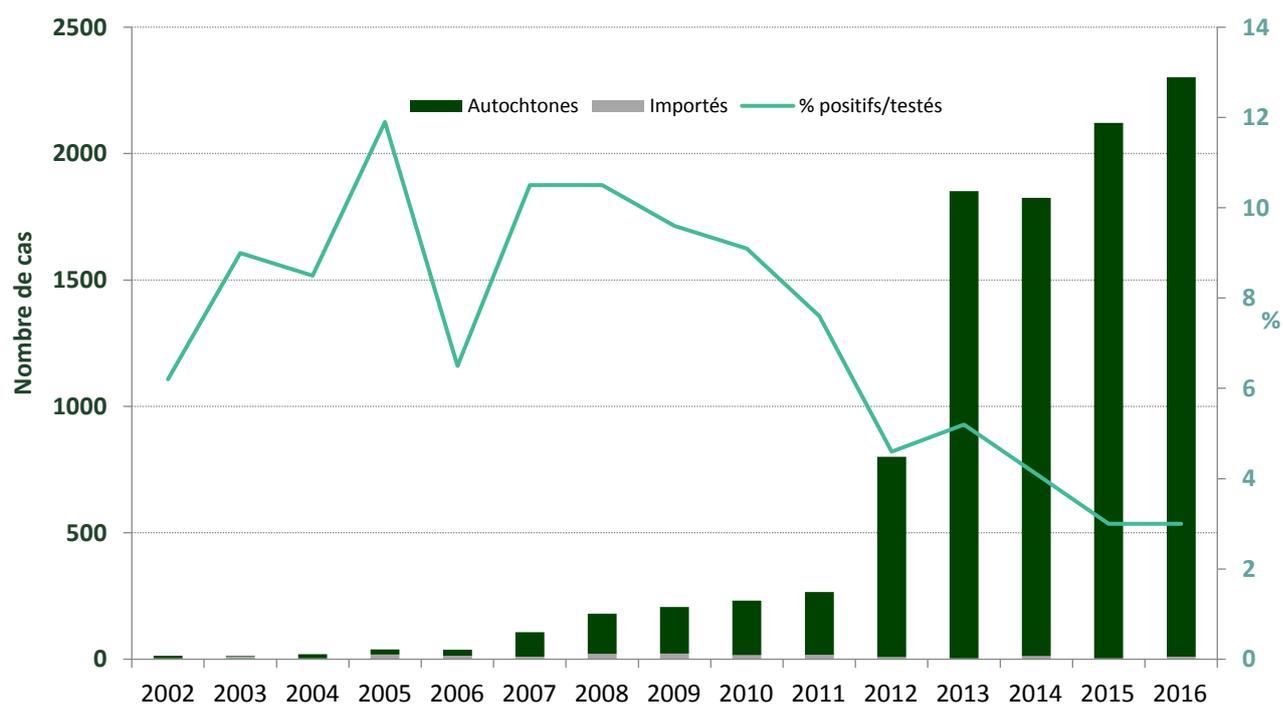


Figure 7 - Nombre de cas d'hépatite E diagnostiqués par an, en France métropolitaine, entre 2012 et 2016

Source : Centre National de Référence des hépatites à transmission entérique⁸

⁸ CNR, Centre National de Référence des hépatites à transmission entérique, disponible à : <http://www.cnrvhvhe.org/>

Le nombre de personnes hospitalisées pour cas d'hépatite E en France a augmenté sur la période considérée (de 57 en 2002 à 653 en 2016) (Couturier *et al.*, 2018). Les caractéristiques des cas autochtones en termes de sexe ou d'âge ont peu évolué depuis 2002. Les cas autochtones étaient plutôt des **hommes, âgés de 50 ans** et plus en moyenne. Tout comme les données de séroprévalence, les cas d'hépatite E n'ont pas une répartition géographique homogène sur le territoire français et suivent un **gradient Nord-Sud (Figure 8)**.

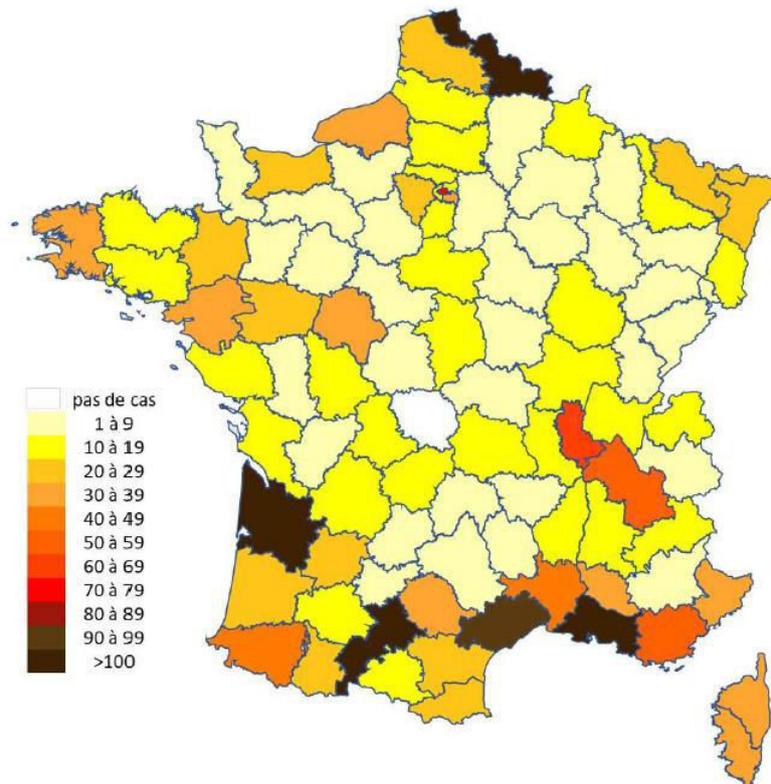


Figure 8 - Répartition géographique des cas d'hépatite E rapportés au CNR en 2017

Source : Rapport annuel d'activité du Centre national de référence des virus des hépatites à transmission entérique, 2018, année d'exercice 2017

Récemment, une équipe de chercheurs a développé un modèle statistique ayant pour objectif d'estimer le nombre de cas, d'hospitalisation et de décès dus, chaque année, à des pathogènes d'origine alimentaire (Van Cauteren *et al.*, 2017). Dans le cas du HEV, ce modèle utilise, entre autres, les données de prévalence et séroprévalence issues des enquêtes nationales précitées ainsi que la proportion d'infections asymptomatiques lors de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). A partir de ce modèle, les auteurs ont estimé le nombre de cas d'hépatite E en France sur la période 2008-2013 à **68 007 infections par an** [46 032-101 279],

dont **546 hospitalisations** [540-553] et **20 décès** [18-22]. Le fossé entre le nombre de cas rapportés au CNR et le nombre d'infections estimé dans cette publication peut notamment s'expliquer par la forte proportion d'infections asymptomatiques et la sous-déclaration des cas (méconnaissance, confusion avec une hépatite médicamenteuse...).

1.3.b. Manifestations cliniques de l'hépatite E

L'infection par le HEV peut conduire à différentes formes d'hépatite E, comme présenté dans la Figure 9.

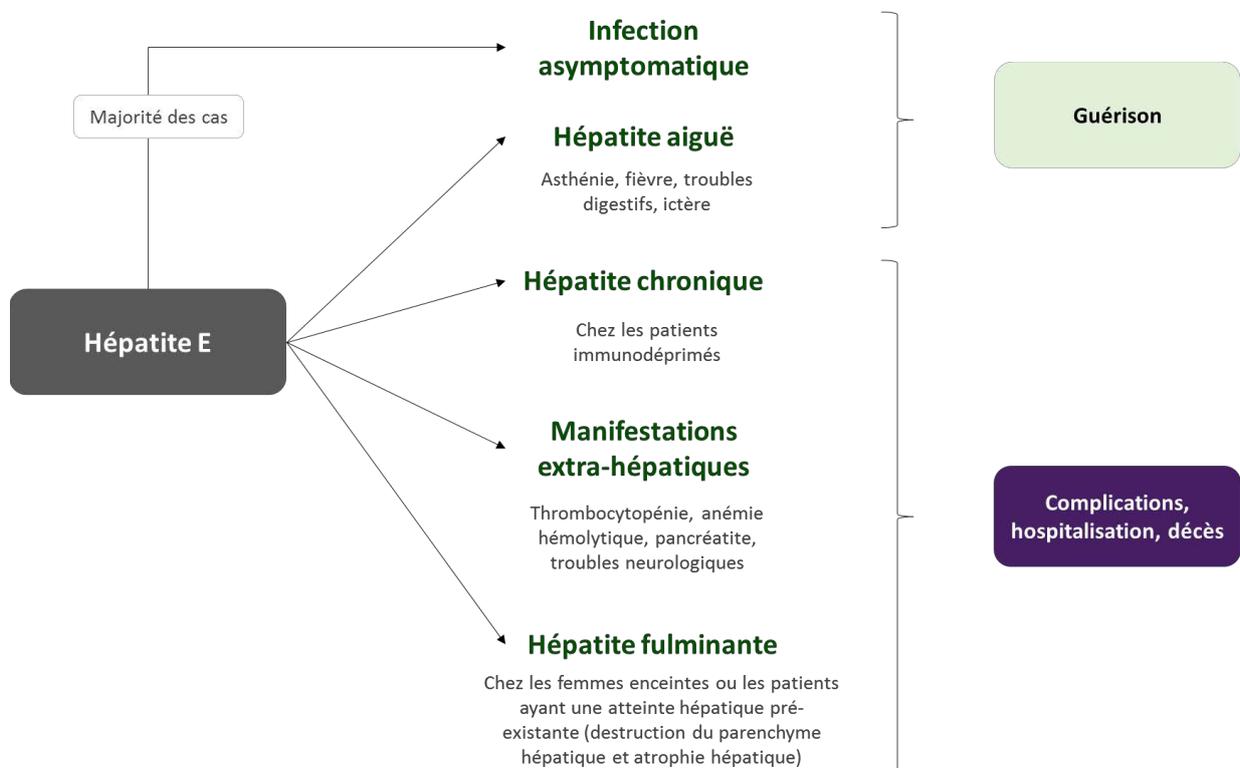


Figure 9 - Formes cliniques possibles d'une infection par le virus de l'hépatite E

(i) Formes asymptomatiques et aiguës

L'infection par le HEV est le **plus fréquemment asymptomatique**. Plusieurs publications ont estimé la proportion d'infections asymptomatiques lors de cas groupés d'infections par le HEV : en Chine, Zhang *et al.* (2016) rapportent 78,6 % d'infections

asymptomatiques (11/14) lors d'un cas groupé dans la province de Shandong ; lors d'un cas groupé sur un bateau de croisière, 66,6 % des personnes infectées (22/33) ne présentaient pas de manifestation clinique d'hépatite (Said *et al.*, 2009) ; en France, des infections groupées lors d'un repas de mariage montrent que 70,6 % des infections (12/17) étaient asymptomatiques (Guillois *et al.*, 2016).

L'infection par le HEV peut également se traduire par une **hépatite aiguë**. La période d'incubation est comprise entre 15 jours et 9 semaines, avec une **incubation moyenne de 40 jours**. Les symptômes suivants sont généralement décrits pendant la phase prodromique : **asthénie, fièvre, arthralgie, troubles digestifs** (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales) pendant plusieurs jours. Ensuite, dans 75 % des cas, une **phase ictérique** survient pendant deux semaines. Les tests de laboratoire détectent généralement une augmentation des niveaux d'alanine et aspartate aminotransférase (ALT, AST), ainsi que de l'alcaline phosphatase (AP), des gamma-glutamyl transférases (γ GT) et de la bilirubine. Dans la majorité des cas, la maladie est **spontanément résolutive**, avec une **évolution favorable dans les 4 à 6 semaines** (Wedemeyer *et al.*, 2012).

Par ailleurs, il a été récemment montré que des auto-anticorps pouvaient être produits lors d'hépatite E aiguë (Terziroli Beretta-Piccoli *et al.*, 2018), ce qui peut conduire à envisager de manière erronée un diagnostic d'hépatite auto-immune (HAI). La part des hépatites E dans les HAI est encore inconnue, mais l'hépatite E doit être exclue avant de traiter une HAI avec des traitements immunosuppresseurs, car de tels traitements peuvent conduire à une hépatite E chronique (*cf. infra*).

(ii) Formes fulminantes

Dans 2 à 3 % des cas, les hépatites aiguës peuvent évoluer vers une **forme fulminante** (Kamar *et al.*, 2014). Les premiers cas d'hépatite fulminante ont été rapportés en Italie, en Espagne, en France et au Japon (Suzuki *et al.*, 2002; Sainokami *et al.*, 2004; Mateos Lindemann *et al.*, 2010; Mateos-Lindemann *et al.*, 2013; Doudier *et al.*, 2014; Festa *et al.*, 2014; Doudier *et al.*, 2015). Les hépatites fulminantes surviennent généralement chez des patients présentant une **pathologie hépatique préexistante et chez les femmes enceintes** (Kamar *et al.*, 2014). Ces formes peuvent nécessiter une transplantation hépatique et conduisent parfois au décès. En Inde, l'étude d'une large cohorte de patients souffrant d'une pathologie hépatique chronique a

montré que le pronostic de patients ayant une décompensation hépatique du fait d'une infection par le HEV était significativement moins bon que pour des patients dont la décompensation était due à une autre cause (Kumar Acharya *et al.*, 2007). Une étude française a montré que l'infection d'un patient par le génotype 4 du HEV conduisait à des signes cliniques particulièrement sévères (Jeblaoui *et al.*, 2013), mais des études incluant un plus grand nombre de cas seraient nécessaires pour étudier l'existence éventuelle d'un lien entre le génotype impliqué et la gravité de la maladie.

Les formes aiguës et fulminantes d'hépatite E peuvent être confondues avec une hépatite médicamenteuse, ou *drug-induced liver injury* (DILI), car les manifestations cliniques sont similaires. Néanmoins, le diagnostic d'une DILI repose sur plusieurs critères : une relation temporelle entre le démarrage d'un traitement et le développement d'une hépatite (entre cinq et 30 jours), une relation temporelle entre l'arrêt du traitement et la résolution de l'hépatite, et l'exclusion des autres causes possibles d'hépatite (Kamar *et al.*, 2014). Une étude anglaise et une étude américaine ont montré qu'une DILI avait été diagnostiquée de manière erronée chez 13 % et 3 % respectivement d'un groupe de patients qui étaient en fait atteints d'hépatite E (Dalton *et al.*, 2007a; Davern *et al.*, 2011).

(iii) Formes chroniques

Les hépatites E chroniques se caractérisent par une **virémie persistant** entre 3 et 6 mois après le diagnostic (Kamar *et al.*, 2011b). Les niveaux d'AST et d'ALT sont également moins élevés chez les patients développant une hépatite E chronique que ceux atteints d'une forme aiguë (Murali *et al.*, 2015). Les formes chroniques d'hépatite E sont principalement décrites chez les **patients immunodéprimés en raison d'une greffe d'organe, d'une hémopathie maligne ou d'autres pathologies avec immunodépression** (infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), *etc.*) (Peron *et al.*, 2006; Tamura *et al.*, 2007; Kamar *et al.*, 2008; Dalton *et al.*, 2009; Behrendt *et al.*, 2014). La majorité des hépatites E chroniques sont dues au génotype 3 mais récemment, des formes chroniques liées à des souches de génotype 4 ont été rapportées, avec une évolution rapide vers la cirrhose et le rejet de greffe (Geng *et al.*, 2014).

(iv) Manifestations extra-hépatiques

Le HEV peut également être responsable de **symptômes extra-hépatiques**. Des **troubles neurologiques** ont notamment été décrits lors d'infections par le HEV-1 et le HEV-3 : **syndrome de Guillain-Barré, de Parsonage-Turner**, paralysie faciale *a frigore*, méningoencéphalite aiguë, myélite transverse aiguë (Kamar *et al.*, 2014). Belbezier *et al.* (2018) ont récemment conduit une revue systématique de la littérature et rapportent 130 cas de troubles neurologiques décrits entre 2000 et 2017. La majorité des cas ont été rapportés en Europe ou en Asie et étaient secondaires à une infection par une souche de génotype 3. L'âge médian était de 52 ans, il s'agissait principalement d'hommes, non immunodéprimés. Les syndromes de Guillain-Barré étaient les plus fréquemment rapportés (54 cas), suivis par les syndromes de Parsonage-Turner (35 cas), les méningites et/ou méningoencéphalites (9 cas) et diverses mononeuropathies (6 cas). Une analyse rétrospective de 126 patients infectés par le HEV a aussi montré que 7 patients (5,5 %) avaient présenté des symptômes neurologiques, dont 3 patients immunocompétents, 3 ayant reçu une greffe et un patient séropositif VIH (Kamar *et al.*, 2011a). Récemment, une étude rétrospective conduite à partir des cas rapportés au CNR français en 2015 a montré que 16,5 % des patients atteints d'hépatite E (33/200) avaient présenté des symptômes neurologiques, dont 14 avec des douleurs neuropathiques suggérant une neuropathie des petites fibres, 9 avec des troubles sensoriels, 6 présentant le syndrome de Parsonage-Turner, 1 le syndrome de Guillain-Barré, 1 une méningite, 1 une encéphalite et 1 une diplopie. Les manifestations neurologiques étaient plus fréquentes chez les patients immunocompétents (22,6 % *versus* 3,2 %) (Abravanel *et al.*, 2018b). En étudiant les séquences retrouvées dans le fluide cébrospinal et le sérum d'un patient atteint d'hépatite E chronique associée à des troubles neurologiques, une étude a mis en évidence une compartimentation de quasi-espèces (*i.e.* des souches présentant des différences génomiques retrouvées dans le sang et le fluide cébrospinal) ; ceci suggère que les manifestations neurologiques liées à l'infection par le HEV pourraient être liées à l'**émergence de variants neurotropiques** (Kamar *et al.*, 2010b).

Des **troubles rénaux** sont également décrits à la fois lors d'hépatite E aiguë et chronique, avec une atteinte glomérulaire (glomérulonéphrite membrano-proliférative ou membranaire) (Kamar *et al.*, 2005; Kamar *et al.*, 2012). Ces manifestations rénales ont été observées tant chez des patients immunocompétents que chez des patients ayant reçu une transplantation rénale ou hépatique. Des **pancréatites aiguës** ont également été décrites chez des patients infectés par le

HEV-1 (Bhagat *et al.*, 2008; Thapa *et al.*, 2009; Deniel *et al.*, 2011). Des **troubles hématologiques** (thrombocytopénie et anémie aplastique) peuvent aussi survenir (Colson *et al.*, 2008; Fourquet *et al.*, 2010; Shah *et al.*, 2012).

(v) L'infection par le HEV chez les femmes enceintes

Dans les pays en voie de développement, les infections par le HEV-1 et HEV-2 entraînent des formes graves d'hépatite chez les femmes enceintes. Pour exemple, Labrique *et al.* (2012) ont estimé le nombre de décès de femmes enceintes attribuables au HEV au Bangladesh à 1 000 par an. Dans ces zones hautement endémiques, **la mortalité en cas d'infection par le HEV est de 20-25 %** et survient généralement pendant le troisième trimestre (Labrique *et al.*, 2010). Le taux de transmission verticale est également élevé (Khuroo *et al.*, 1995). Dans les pays industrialisés, quelques cas d'hépatite E liés au HEV-3 ont été rapportés chez des femmes enceintes. **Plusieurs cas ont été décrits en France, sans complications** chez les mères ni chez les bébés (Anty *et al.*, 2012; Bouthry *et al.*, 2018). Une étude prospective en France à partir d'une cohorte de 315 femmes enceintes a estimé la prévalence du HEV chez les femmes enceintes à 7,7 % (Renou *et al.*, 2014a). Le HEV-3 et HEV-4 ne semblent cependant pas conduire à des infections fatales ou des hépatites fulminantes chez les femmes enceintes contrairement au génotype 2 (Lachish *et al.*, 2015).

1.3.c. Pathogénie et réponse immunitaire lors d'infection par le virus de l'hépatite E

Lors d'hépatite E aiguë, la virémie persiste généralement moins d'un mois (Figure 10). L'apparition des anticorps anti-HEV et des signes cliniques suit la phase de virémie (Walker, 2018). Plusieurs études ont suggéré que les signes cliniques de l'hépatite E seraient davantage liés à la réponse immunitaire qu'aux dommages cellulaires causés par le virus (Krain *et al.*, 2014). Ceci serait également confirmé par l'augmentation du titre en anticorps et la décroissance de la charge virale lors de l'apparition des symptômes. De plus, il a également été montré que l'activité des **cellules Natural Killer et des lymphocytes T** était réduite chez les patients infectés par le virus de l'hépatite E (Krain *et al.*, 2014). La concentration en **cytokines pro-inflammatoires** est, elle, très élevée chez des patients souffrant d'hépatite E aiguë (Saravanabalaji *et al.*, 2009). Toutes ces modifications immunitaires semblent être responsables des manifestations cliniques de l'hépatite E. Sur le plan histopathologique, la structure lobulaire

du foie est modifiée, on observe une infiltration de lymphocytes et de leucocytes polynucléaires, une prolifération des cellules de Kupffer et une nécrose focale des hépatocytes (Malcolm *et al.*, 2007). Lors d'hépatite E fulminante, une expansion et une prolifération des capillaires biliaires sont en outre rapportées, avec une accumulation de bile et une infiltration interstitielle massive de lymphocytes (Agrawal *et al.*, 2012).

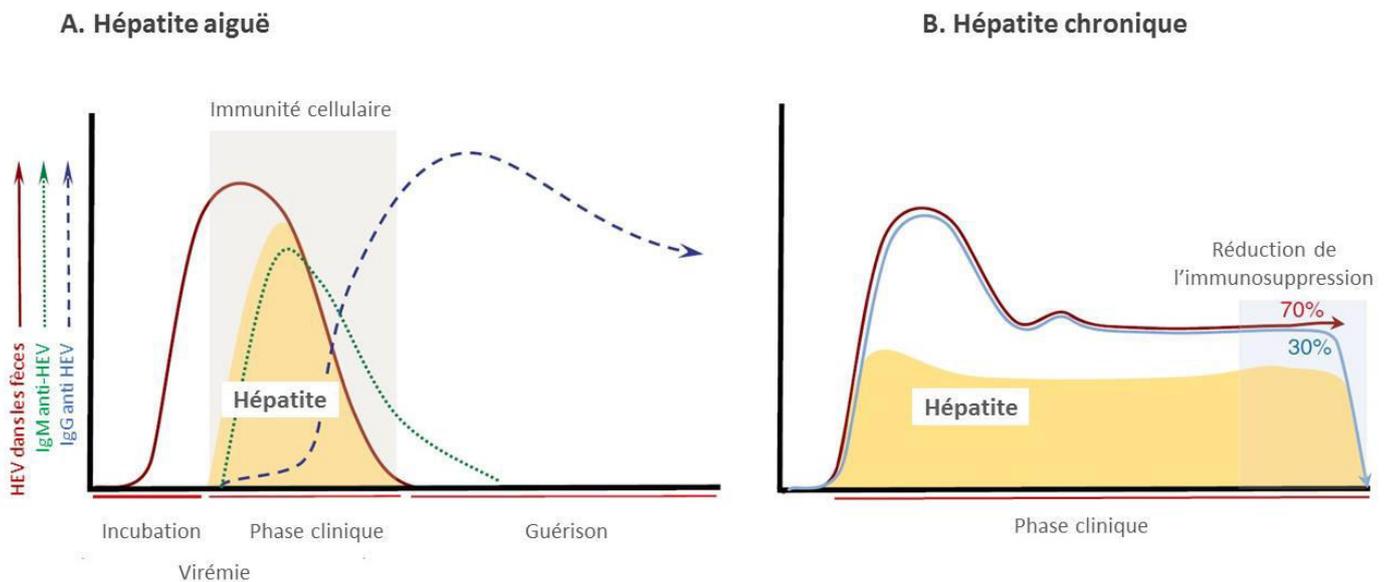


Figure 10 - Représentation schématique d'une hépatite E aiguë (A) ou chronique (B) chez l'homme

Source : d'après Walker (2018)

Les mécanismes immunopathogéniques entrant en jeu lors d'hépatite chronique sont encore mal compris (Figure 10). Le délai et l'amplitude des réponses humorales IgM et IgG chez des patients ayant une hépatite E chronique est très variable et difficilement généralisable, et la réponse IgM n'est donc pas représentée sur la Figure 10. La persistance du HEV en l'absence de séroconversion a été décrite chez certains patients, tandis que d'autres développaient une réponse IgM et IgG détectable (Dalton *et al.*, 2009; Legrand-Abravanel *et al.*, 2010; Pas *et al.*, 2012; Suneetha *et al.*, 2012; Kamar *et al.*, 2013; Moal *et al.*, 2013a). Des études conduites chez des patients ayant reçu une transplantation montrent que la séroconversion IgM peut prendre des mois à se mettre en place, et que les IgM persistent ensuite tout au long de l'infection chronique (Legrand-Abravanel *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2018). Le rôle de l'immunité cellulaire dans le développement de la chronicité a aussi été montré (Kenfak-Foguena *et al.*, 2011; Suneetha *et al.*, 2012; Moal *et al.*, 2013b). Une étude a été conduite chez des patients infectés par le VIH et ayant une hépatite E chronique ; l'un d'entre eux présentait

un faible taux de lymphocytes T CD4+ anti-HEV, une virémie persistante (plus de 24 mois) et une séroconversion anti-HEV retardée (Kenfak-Foguena *et al.*, 2011). Même si les mécanismes immunitaires méritent encore d'être clarifiés, la littérature suggère ainsi qu'**une réponse immunitaire humorale et cellulaire déficiente pourrait conduire à une hépatite E chronique** chez l'homme.

1.3.d. Diagnostic, traitement et prophylaxie des infections par le virus de l'hépatite E

(i) Méthodes et défis diagnostiques

Les méthodes de diagnostic de l'infection par le HEV sont celles communément employées pour détecter les infections virales.

L'infection par le HEV peut être diagnostiquée indirectement par la **recherche des anticorps anti-HEV**, qui reflètent la réponse immunitaire humorale qui suit l'exposition au virus. La détection des **IgM** révèle une infection récente, tandis que celle des **IgG** est le marqueur d'une infection ancienne, les IgG pouvant persister jusqu'à plusieurs années après une infection par le HEV (Al-Sadeq *et al.*, 2018). La recherche des **IgA** peut également appuyer le diagnostic d'une hépatite E aiguë, en complément de la recherche des IgM ou lorsque les tests IgM sont négatifs (Takahashi *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2009). Notons que si la matrice utilisée est majoritairement le sérum, un **test salivaire** de détection des IgG et des IgM a récemment été développé (Pisanic *et al.*, 2017). Ceci pourrait permettre un diagnostic plus rapide et facile de l'hépatite E, notamment dans les zones dans lesquelles le système de santé est encore peu développé. Les tests sérologiques sont relativement **faciles à réaliser et moins chers** que les tests moléculaires. La réactivité croisée de ces tests entre les différents sous-types de HEV est importante, ce qui conduit à considérer qu'il n'existe qu'**un seul sérotype du HEV** (Engle *et al.*, 2002; Emerson *et al.*, 2006). De nombreux **kits commerciaux** existent, tant pour la détection des IgG et des IgM, les plus fréquemment utilisés étant Wantai et MP diagnostics. Les performances de ces tests sérologiques en termes de **sensibilité et spécificité sont variables**. De nombreuses études ont montré que les tests commerciaux ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) disponibles conduisaient à des résultats très différents, même sur des échantillons identiques (Mast *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 2000; Bendall *et al.*, 2010; Abravanel *et al.*, 2013; Pas *et al.*, 2013; Avellon *et al.*, 2015; Shrestha *et al.*, 2016). Il faut noter que, chez

des patients immunodéprimés, les tests sérologiques peuvent être faussement négatifs du fait d'une séroconversion retardée (*cf. supra*). C'est très récemment que le premier test sérologique automatisé, VIDAS® ANTI-HEV IgM et IgG, a été validé pour la détection des IgG et IgM anti-HEV, tant sur des patients immunocompétents que des patients immunodéprimés (Abravanel *et al.*, 2019). Notons également que le diagnostic sérologique d'une infection par le HEV peut être délicat car les résultats de ces tests ELISA peuvent être contradictoires ou incertains du fait de la **réactivité croisée avec d'autres virus** (par exemple avec le cytomégalovirus ou le virus d'Epstein-Barr) (Hyams *et al.*, 2014). Pour toutes ces raisons, la confirmation d'une infection par le HEV repose de plus en plus sur des méthodes de détection des antigènes viraux ou du génome viral.

L'infection par le HEV peut être mise en évidence en détectant des **antigènes viraux** en utilisant des tests ELISA sandwich. Cependant le diagnostic par détection du génome viral par RT-PCR est le plus communément mis en œuvre. Après une phase d'extraction, la détection et la quantification des acides nucléiques viraux se base sur une **méthode RT-PCR classique ou en temps réel**. Les matrices sont généralement les selles, le foie et/ou le sang. Chez des patients ayant une hépatite E aiguë, le pic de virémie intervient durant la période d'incubation et le début de la phase symptomatique (Aggarwal *et al.*, 2000). Les ARN du HEV ne sont ainsi plus détectables dans le sang environ trois semaines après le début des symptômes mais peuvent encore être détectés dans les fèces pendant deux semaines supplémentaires. La RT-PCR en temps réel présente l'avantage d'être plus rapide, plus sensible et plus spécifique que la RT-PCR classique ; de plus, elle permet de quantifier la charge virale dès lors qu'une gamme de quantification a été établie. Le risque de contamination croisée est également réduit. Plusieurs **kits commerciaux** de RT-PCR en temps réel existent pour le HEV, les plus fréquemment utilisés étant RealStar HEV RT-PCR 1.0, AmpliCube HEV 2.0 et Ceeram kit, **de sensibilités et spécificités variables** (Al-Sadeq *et al.*, 2018). La recherche des ARN peut s'avérer faussement négative lorsque la virémie du patient est particulièrement faible. Un **test salivaire** de détection des ARN viraux dans la salive a également été récemment étudié, avec des résultats prometteurs (Rivero-Juarez *et al.*, 2018).

D'autres techniques de détection des ARN du HEV sont également employées. Par exemple, la **technique LAMP** (*Loop-Mediated Isothermal Amplification assay*), est une technique similaire à la RT-PCR en temps réel, mais réalisée à température constante (60-65°C) et qui ne nécessite pas de thermocycleur. Une étude a montré que la LAMP pour la détection

des ARN du HEV était plus rapide, plus sensible et plus spécifique qu'une RT-PCR nichée (Lan *et al.*, 2009). Les techniques d'**amplification par transcription** (*Transcription-mediated amplification*, TMA) se révèlent également sensibles, spécifiques et rapides pour la détection et la quantification des ARN du HEV dans plusieurs études (Abravanel *et al.*, 2018a).

Le **typage et la caractérisation moléculaire** des souches de HEV sont généralement effectués par une phase de transcription réverse de l'ARN, suivie d'une PCR nichée et d'un séquençage de Sanger de la cible amplifiée. Le génotypage du HEV est classiquement réalisé en séquençant les produits de PCR de l'ORF2 et de l'ORF1 (Al-Sadeq *et al.*, 2018).

Finalement, tous ces éléments montrent que la détection d'une infection par le HEV peut être délicate. Le **développement de tests standards de détection du HEV** est encore une problématique dans ce domaine, notamment pour permettre le screening des dons du sang au regard du risque HEV (*cf. infra*).

(ii) Possibilités thérapeutiques des infections par le virus de l'hépatite E

Il n'existe à ce jour **aucun traitement de routine** de l'hépatite E. Les hépatites E aiguës régressent généralement spontanément et ne nécessitent pas d'hospitalisation prolongée. Un **traitement symptomatique** est administré et du repos est préconisé. Pour les formes graves et chroniques, des recherches prometteuses sont en cours depuis 2010 pour l'utilisation de la **ribavirine**, un analogue nucléosidique de la guanosine à large spectre antiviral. Cet antiviral est principalement utilisé pour traiter les patients atteints d'hépatite C, mais plusieurs essais ont démontré son efficacité sur des cas d'hépatite E (Kamar *et al.*, 2010c; Mallet *et al.*, 2010; Gerolami *et al.*, 2011; Hajji *et al.*, 2013; Junge *et al.*, 2013; Pischke *et al.*, 2013; Debing et Neyts, 2014; Klein *et al.*, 2015). Néanmoins, les traitements à base de ribavirine présentent plusieurs inconvénients, notamment le fait que cette molécule ne peut pas être utilisée chez la femme enceinte, du fait de ses propriétés tératogènes, ainsi que la survenue d'effets secondaires nombreux (anémie hémolytique, insomnie, dyspnée, irritabilité) (Anang *et al.*, 2018).

Des essais de traitement par l'**interféron alpha** ont également été menés et les résultats sont prometteurs (Alric *et al.*, 2010; Haagsma *et al.*, 2010; Kamar *et al.*, 2010a; Dong *et al.*, 2012). Une **bi-thérapie** associant la ribavirine à l'interféron alpha semble particulièrement efficace (Debing et Neyts, 2014). Là encore, des effets secondaires variés peuvent apparaître

lors d'un traitement par l'interféron alpha (syndrome grippal, troubles neuropsychiatriques, neurologiques, cardiovasculaires, insuffisance rénale, *etc.*) (Raison *et al.*, 2005).

De nouvelles pistes thérapeutiques sont explorées depuis quelques années. En particulier, plusieurs études ont montré l'efficacité du **sofosbuvir** (analogue nucléosidique, inhibiteur d'une polymérase utilisé dans le traitement de l'hépatite C), en association avec la ribavirine, tant *in vitro* que chez des patients infectés par le HEV (Dao Thi *et al.*, 2016; van der Valk *et al.*, 2017; Biliotti *et al.*, 2018; Drinane *et al.*, 2018). Une étude récente a aussi montré qu'*in vitro*, les **sels de zinc** étaient capables d'inhiber la réplication du HEV (Kaushik *et al.*, 2017), ce qui pourrait également ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

(iii) Prophylaxie médico-sanitaire des infections par le virus de l'hépatite E

Des **mesures de prévention non spécifiques** peuvent être mises en place pour lutter contre les infections par le HEV. Dans les pays en voie de développement, le **traitement des eaux usées et l'amélioration de la qualité de l'eau de boisson** sont les points clés pour limiter le risque d'infection. Dans les pays industrialisés, la prévention des cas autochtones d'hépatite E repose sur les **mesures générales d'hygiène individuelle** notamment lors de la préparation des aliments ou de leur consommation : **lavage des mains** à la sortie des toilettes, avant de préparer les repas, après un contact avec des animaux ou les produits d'origine animale ; **nettoyage des ustensiles et surfaces** après la manipulation de produits à base de foie de porc cru, de viande de sanglier, de cerf ; **cuisson à cœur** des aliments destinés à être consommés cuits ; respect des consignes de cuisson et de consommation indiquées sur l'étiquette des produits ; non consommation d'eau non traitée (puits, source, torrent, *etc.*). Il est en particulier recommandé de cuire à cœur les produits les plus à risque à base de foie cru de porc (saucisses de foie fraîches ou sèches, figatelli), les produits à base de sanglier ou de cerf (viande et abats) notamment la fressure (cœur, foie, rate, poumons). La consommation de ces produits même cuits est déconseillée chez les personnes à risque de développer une forme grave d'hépatite E (patients immunodéprimés, patient atteint d'une hépatopathie chronique préexistante et les femmes enceintes).⁹

⁹ Santé Publique France, 2014. Hépatite E : point sur les connaissances, disponible à : <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Hepatites-virales/Hepatite-E/Points-sur-les-connaissances>

Plusieurs études ont été conduites dans le but de développer un **vaccin** contre le HEV. Au moins 11 vaccins expérimentaux contre le HEV ont été évalués chez les PNH avec une inoculation d'épreuve (WHO, 2015). A ce jour, seuls deux de ces vaccins ont progressé jusqu'au stade de l'essai clinique chez l'homme. Shrestha *et al.* (2007) ont produit un vaccin recombinant et obtenu une efficacité de 95,5 % avec trois doses. Néanmoins, cette étude n'a pas dépassé le stade II des essais cliniques. Le second vaccin développé est un **vaccin recombinant** basé sur un peptide recombinant de l'ORF2 du HEV, dérivé d'une souche chinoise du HEV-1 (Zhang *et al.*, 2013). L'étude clinique conduite auprès de 50 000 personnes montre une efficacité vaccinale de 100 % après 12 mois et 86,8 % après un suivi de quatre ans et demi. Les personnes ayant reçu trois doses (à zéro, un et six mois) ont maintenu leur niveau d'anticorps anti-HEV pendant au moins quatre ans et demi (Zhang *et al.*, 2015). Il n'existe pas de donnée sur la protection spécifique conférée par ce vaccin contre l'infection par les géotypes 2, 3 ou 4 du HEV mais la protection croisée est probable. Ce vaccin contre le HEV a été **homologué en Chine** pour les personnes de plus de 16 ans (**Hecolin®**). Le fabricant, Xiamen Innovax Biotech Co., Ltd., recommande l'administration de ce vaccin aux sujets présentant un risque élevé d'infection par le HEV, notamment les éleveurs, les manipulateurs de produits alimentaires, les étudiants, les membres des forces armées, les femmes en âge de procréer et les voyageurs se rendant dans des zones à risque. Un programme vaccinal accéléré a également été testé en phase IV sur 126 participants et montre une bonne protection, qui pourrait être utile pour des personnes devant se rendre rapidement dans des zones à risque (Chen *et al.*, 2019). Ce vaccin n'est actuellement **pas commercialisé dans le reste du monde**. A ce jour, en raison du manque d'informations sur l'innocuité, l'immunogénicité et l'efficacité du vaccin dans les sous-groupes suivants de la population, **l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ne recommande pas son utilisation systématique** chez les enfants de moins de 16 ans, les femmes enceintes, les personnes atteintes d'une affection chronique du foie, les patients en attente d'une transplantation et les voyageurs. En revanche, elle recommande d'envisager son utilisation **dans des cas spécifiques**, par exemple pour **combattre ou prévenir une épidémie** d'hépatite E, ainsi que pour en atténuer les effets chez les personnes à haut risque, telles que les femmes enceintes (WHO, 2015). Une étude récente a également montré que ce vaccin était bien toléré et suffisamment immunogène chez les personnes âgées de plus de 65 ans (Yu *et al.*, 2019).

La production de vaccins vivants atténués repose encore sur des techniques empiriques qui ne permettent pas le bon contrôle ou la stabilisation des phénotypes atténués. Les

déterminants moléculaires de l'atténuation sont souvent liés à un petit nombre de modifications protéiques ; ainsi, il y a un risque de réversion phénotypique ou, à l'inverse, les modifications protéiques peuvent conduire à une pathogénie différente de celle de la souche sauvage (Capai *et al.*, 2018). Enfin, le HEV pouvant circuler dans le sang sous forme quasi-enveloppée et ainsi protégé de la neutralisation par les anticorps (*cf. supra*), l'efficacité vaccinale peut être limitée (Feng *et al.*, 2014; Nagashima *et al.*, 2017). Ces problématiques restent des enjeux centraux dans les recherches actuelles en vaccinologie.

1.3.e. Transmission inter-humaine du virus de l'hépatite E

Lors d'épidémies dans les pays en voie de développement, la transmission inter-humaine est possible par contact de main à main ou par l'intermédiaire du réservoir hydrique (par exemple lorsque deux personnes se lavent les mains dans le même contenant) (Teshale *et al.*, 2010). Des cas de transmission de la mère à l'enfant sont également documentés dans les pays en développement (Andersson *et al.*, 2008; Anty *et al.*, 2012; Tabatabai *et al.*, 2014).

Des cas de transmission inter-humaine par l'intermédiaire de **transfusions de produits sanguins** contaminés ont été décrits, notamment dans les pays industrialisés (Matsubayashi *et al.*, 2004; Boxall *et al.*, 2006; Tamura *et al.*, 2007; Matsubayashi *et al.*, 2008; Haim-Boukobza *et al.*, 2012; Coilly *et al.*, 2013; Hauser *et al.*, 2014; Hewitt *et al.*, 2014; Mallet *et al.*, 2016; Riveiro-Barciela *et al.*, 2017; Satake *et al.*, 2017). Parmi les plus récents, en France, un patient hospitalisé en raison d'un grave accident de ski a reçu une transfusion de plaquettes sanguines qui s'est, *a posteriori*, révélée contaminée par le HEV ; le patient a développé une hépatite qui a nécessité l'utilisation prolongée de la ribavirine pendant trois mois (Loyrion *et al.*, 2017). En Australie, un garçon de six ans a également contracté une hépatite E à la suite d'une transfusion sanguine dont le donneur était virémique HEV (Hoad *et al.*, 2017). Une récente étude rétrospective conduite en Allemagne a montré que des produits sanguins contenant du HEV avaient été transfusés à 14 patients, dont 12 immunodéficients. Un patient immunocompétent a développé une hépatite aiguë spontanément résolutive à évolution favorable. Un patient immunodéficient a développé un syndrome *Acute-on-Chronic Liver Failure* (ACLF) caractérisé par la décompensation aiguë d'une hépatopathie chronique qui a conduit à son décès (Westholter *et al.*, 2018). En Espagne, une étude conduite à partir d'échantillons de sang de 11 313 donneurs de sang a montré que de l'ARN du HEV avait été détecté dans 0,035 % des

dons, et que cinq patients avaient reçu des transfusions provenant de donneurs virémiques (Rivero-Juarez *et al.*, 2019). En 2017, au Royaume-Uni, un cas de transmission du HEV par l'intermédiaire d'une transfusion contaminée a été rapporté (Reynolds *et al.*, 2019). Aux Etats-Unis, une étude rétrospective a permis de montrer que, parmi 2 348 patients transfusés, 40 (1,7 %) présentaient des IgG anti-HEV après la transfusion, et qu'un échantillon de sang transfusé contenait de l'ARN du HEV (Ticehurst *et al.*, 2019). Pour l'instant, seuls **le Royaume-Uni et l'Irlande recommandent et commencent à mettre en place le screening des dons de sang. En France, ce sujet est actuellement en discussion** (Domanovic *et al.* 2017). Une étude récente conduite en Allemagne a simulé l'impact du screening des dons de sang et conclut que tester des pools de produits sanguins par des techniques d'amplification des acides nucléiques du HEV conduirait à une réduction de 80 % de la transmission du HEV (Kamp *et al.*, 2018).

Le HEV peut aussi être transmis lors de **transplantation de foie**. Une étude décrit notamment le cas d'un patient ayant développé une grave cirrhose et étant décédé d'une décompensation hépatique après une transplantation d'un foie contenant du HEV (Schlosser *et al.*, 2012). Des cas d'infection par le HEV ont aussi été rapportés après une **greffe de rein** (Pourbaix *et al.*, 2017). Il a aussi été montré que les cellules souches hématopoïétiques (CSH) pouvaient être infectées par le HEV, mais aucun cas de transmission du HEV par transplantation de CSH n'est à ce jour décrit dans la littérature (Koenecke *et al.*, 2014; Frange *et al.*, 2015; O'Donghaile *et al.*, 2017). Récemment, le HEV a été détecté dans la moelle osseuse de macaques crabiers expérimentalement infectés par le HEV (Bottino *et al.*, 2018). Le risque de transmission du virus lors de greffe de moelle osseuse pourrait ainsi être exploré. Un cas de transmission nosocomiale, non lié à une transfusion ou une transplantation, a également été décrit en France (Mansuy *et al.*, 2009b). Enfin, la transmission par voie sexuelle est controversée. Une transmission parentérale et/ou oro-fécale lors de pratiques sexuelles à risque a été décrite et les relations homosexuelles semblent être un facteur de risque de l'infection par le HEV (Bali *et al.*, 2005; Payne *et al.*, 2013). Néanmoins, une étude récente conduite auprès de patients atteints du VIH n'a pas mis en évidence de transmission du HEV par voie sexuelle (Abravanel *et al.*, 2017b), et Heil *et al.* (2018) ont montré que la séroprévalence du HEV était comparable chez les personnes ayant des pratiques sexuelles à risque et dans la population générale.



Ce qu'il faut retenir

La distribution géographique du virus de l'hépatite E est hétérogène, avec une circulation sous forme endémo-épidémique des génotypes 1 et 2 dans les pays en voie de développement, et sous forme endémo-sporadique des génotypes 3 et 4 dans les pays industrialisés.

En France, la séroprévalence du HEV dans la population générale est de 22,4 %. La répartition géographique suit un gradient Nord-Sud, avec des zones hyper-endémiques dans le Sud de la France. Le nombre de cas autochtones rapportés au Centre National de Référence en 2017 était de 2 219. Un modèle statistique a permis d'estimer le nombre d'infections à 68 000 par an.

L'infection par le HEV est le plus souvent asymptomatique. Les manifestations cliniques sont variables : hépatite aiguë, fulminante (principalement chez les femmes enceintes ou patients atteints d'une pathologie hépatique), chronique (principalement chez les patients immunodéprimés), atteintes extra-hépatiques (notamment troubles neurologiques). Le diagnostic de l'infection peut être délicat lors de faibles charges virales. Les possibilités thérapeutiques et prophylactiques sont encore limitées et font actuellement l'objet d'efforts de recherche.

La transmission inter-humaine peut survenir par transfusion de produits sanguins ou transplantation d'organes contaminés. Le screening des dons de sang est actuellement un sujet en discussion dans de nombreux pays Européens.



Take home message

The geographical distribution of hepatitis E virus is heterogeneous, with endemo-epidemic circulation of genotypes 1 and 2 in developing countries and endemo-sporadic circulation of genotypes 3 and 4 in industrialised countries.

In France, HEV seroprevalence in the general population reaches 22.4%. HEV is distributed according to a North-South gradient, with hyper-endemic areas in Southern France. The number of locally-acquired cases reported to the National Reference Centre in 2017 was 2,219. A statistical model estimated the number of infections to 68,000 per year.

HEV infection in humans is most often asymptomatic. If present, clinical manifestations are variable: acute, fulminant (mainly in pregnant women or patients with another liver disease), chronic hepatitis (mainly in immunocompromised patients) or extra-hepatic disorders (particularly neurological disorders). Diagnosis of infection can be difficult at low viral loads. Therapeutic and prophylactic options are still limited and are currently the subject of research efforts.

Human-to-human transmission can occur through the transfusion of blood products or the transplantation of contaminated organs. Screening of blood donations is currently a topic under discussion in many European countries.

I.4. Transmission zoonotique du virus de l'hépatite E

I.4.a. Arguments moléculaires et expérimentaux d'une transmission inter-espèces

Les différents génotypes du HEV possèdent de 72 à 77 % d'homologie de séquences et les sous-types de 85 à 90 % (Pavio *et al.*, 2008). Des homologies de 99 % (séquençage ORF2) entre les séquences virales d'origine humaine et porcine de souches de génotype 3 collectées sur la même période ont été mises en évidence (Bouquet *et al.*, 2011). Ceci est une indication du possible **franchissement de la barrière inter-espèces** par le HEV, **démontré expérimentalement** à de nombreuses reprises (Figure 11). Par exemple, des porcs sains ont pu être infectés expérimentalement avec une souche humaine du HEV de génotype 3 (Halbur *et al.*, 2001). Des primates ont également pu être infectés par des souches porcines du HEV (Meng *et al.*, 1998). Ainsi plusieurs arguments viennent corroborer l'hypothèse d'une transmission inter-espèces du HEV et en particulier du porc à l'homme.

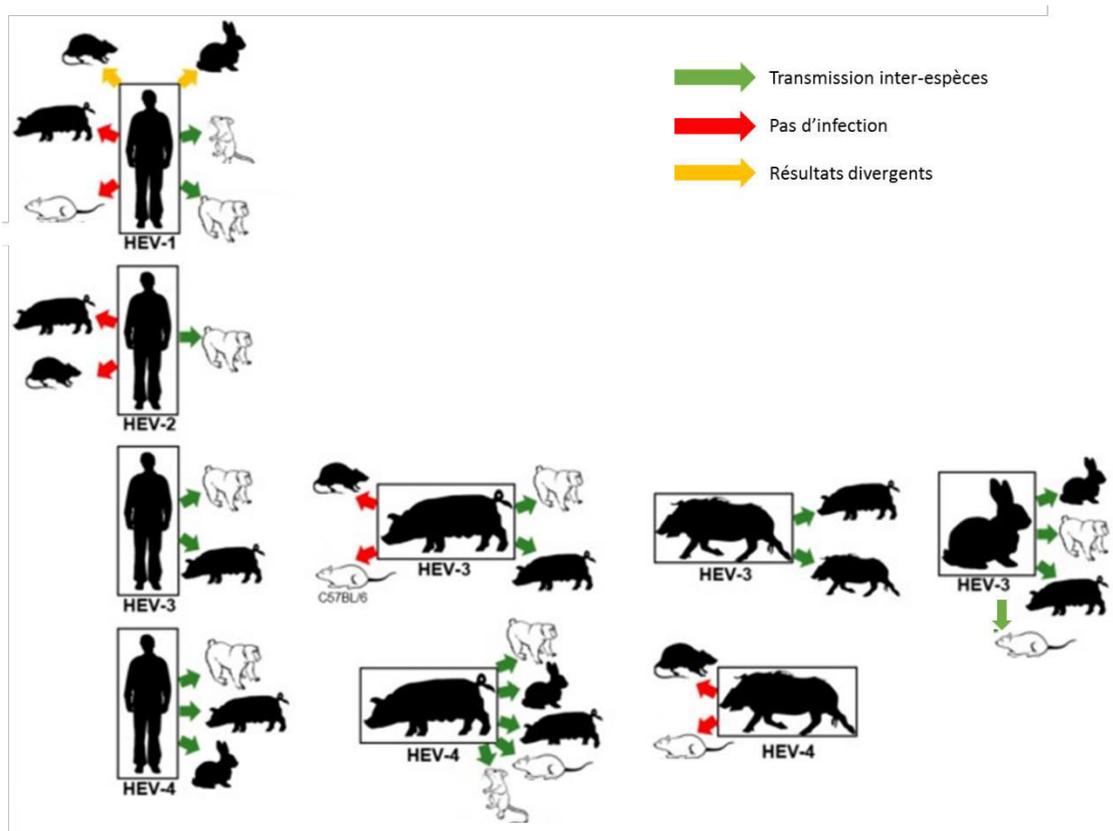


Figure 11 - Preuves expérimentales du passage de la barrière d'espèce par le virus de l'hépatite E

Source : d'après Doceul *et al.* (2016)

I.4.b. Preuves d'une transmission par l'intermédiaire de denrées alimentaires

De nombreux cas d'hépatite E groupés ou sporadiques ont été décrits dans les pays industrialisés (Tableau I). Si la transmission alimentaire est très souvent suspectée, elle est généralement difficile à prouver avec certitude et la source précise de l'infection n'est pas toujours confirmée. Les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) le plus souvent incriminées sont la viande et les produits à base de porc, et la viande et les produits de gibier.

Tableau I - Investigation des cas d'hépatite E groupés ou sporadiques avec une transmission alimentaire suspectée ou avérée¹⁰

Pays	Année	Génotype	Nombre de cas	Source de l'infection	Source / référence
Allemagne	2006		2	Non identifiée	Données ECDC (<i>European Center for Disease Control and Prevention</i>) non publiées
Allemagne	2008		2	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Allemagne	2009		2	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Allemagne	2011		2 foyers, 4 cas	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Allemagne	2012		3 foyers, 6 cas	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Allemagne	2013		2 foyers, 4 cas	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Allemagne	2014		3 foyers, 8 cas	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Allemagne	2015		6 foyers, 14 cas	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Autriche	2015		2	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Espagne	2014	3	1	Viande de porc *	Riveiro-Barciela <i>et al.</i> (2015)
Espagne	2015	3	7	Viande de sanglier *	Rivero-Juarez <i>et al.</i> (2017)
Espagne	2015	3f	8	Viande de sanglier *	Rivero-Juarez <i>et al.</i> (2017)

¹⁰ EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Fernandez Escamez PS, Herman L, Koutsoumanis K, Lindqvist R, Nørrung B, Robertson L, Ru G, Sanaa M, Simmons M, Skandamis P, Snary E, Speybroeck N, Ter Kuile B, Threlfall J, Wahlström H, Di Bartolo I, John R, Pavio N, Rutjes S, van der Poel W, Vasickova P, Hempen M, Messens W, Rizzi V, Latronico F and Girones R, 2017. Scientific Opinion on the public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. EFSA Journal 2017;15(7):4886, 89 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4886>

France	2007		2	Probablement consommation de viande de porc séchée	Données ECDC non publiées
France	2007		3	Consommation de figatelles crues	Données ECDC non publiées
France	2007-2009	3	7	Consommation de figatelles crues	Colson <i>et al.</i> (2010)
France	2009		1	Consommation de figatelles crues	Données ECDC non publiées
France	2010		2	Consommation de figatelles crues	Renou <i>et al.</i> (2011)
France	2011		7	Non identifiée	Données ECDC non publiées
France	2011		1	Probablement consommation de figatelles crues	Anty <i>et al.</i> (2012)
France	2011	3	1	Consommation de figatelles crues	Moal <i>et al.</i> (2012)
France	2012		4	Non identifiée	Données ECDC non publiées
France	2011-2012	4	4	Consommation de figatelles crues et de viande de porc insuffisamment cuite	Colson <i>et al.</i> (2012), Tesse <i>et al.</i> (2012)
France	2013		2	Non identifiée	Données ECDC non publiées
France	2013	3	17	Consommation de farce à base de foie de porc dans un porcelet rôti insuffisamment cuit	Guillois <i>et al.</i> (2016)
France	2013	3	2	Consommation de figatelles crues *	Renou <i>et al.</i> (2014b)
France	2014	3	1	Probablement consommation de figatelles crues	Doudier <i>et al.</i> (2015)
France	2015		7	Eau de forage privé	Données ECDC non publiées
Hongrie	2004	3	1	Saucisses de porc faites maison	Reuter <i>et al.</i> (2006)
Hongrie	2012		2	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Hongrie	2014		2 foyers, 4 cas	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Hongrie	2015		2	Non identifiée	Données ECDC non publiées
Italie	2011	3	1	Probablement consommation de figatelles crues	Garbuglia <i>et al.</i> (2015)
Italie	2011	4	5	Non identifiée	Garbuglia <i>et al.</i> (2013)
Japon	2003	3	4	Consommation de sushis de cerf	Tei <i>et al.</i> (2003)

Japon	2003	4	2	Probablement consommation de foie cru de sanglier	Matsuda <i>et al.</i> (2003)
Japon	2003	3, 4	10	Probablement consommation de foie de porc grillé, insuffisamment cuit	Yazaki <i>et al.</i> (2003)
Japon	2004	3	5	Probablement consommation de viande de sanglier cuite au barbecue	Tamada <i>et al.</i> (2004)
Japon	2005	3	1	Consommation de viande de sanglier grillée	Li <i>et al.</i> (2005)
Japon	2005	3	1	Probablement consommation de viande de sanglier cuite au barbecue	Masuda <i>et al.</i> (2005)
République Tchèque	2011		36	Saucisses de tripes faites à la ferme et vendues dans une boucherie	Données ECDC non publiées
République Tchèque	2009		1	Viande de porc insuffisamment cuite	Holub <i>et al.</i> (2009)
République Tchèque	2009-2011		2 foyers, 13 et 8 cas	Probablement consommation de viande de porcs et produits à base de porc lors de fêtes	Trmal <i>et al.</i> (2012)
République Tchèque	2009-2012		27	Probablement consommation de viande de porcs et produits à base de porc	Chalupa <i>et al.</i> (2014)
Royaume-Uni	2008		33	Probablement consommation de mollusques	Said <i>et al.</i> (2009)

* confirmation moléculaire de la source de l'infection

- (i) Viandes et produits à base de porc

Plusieurs cas d'hépatite E ont été attribués avec certitude à la consommation de produits à base de porc contaminés par le HEV (Tableau I). Par exemple, Colson *et al.* (2010) ont décrit des cas groupés d'hépatite E en France chez sept personnes qui avaient consommé des **figatelles** (ou figatelli, saucisses fraîches composées de viande et de foie de porc, spécialités corses). En 2013, des infections groupées par le HEV ont été rapportées à Belle-Île en Mer, parmi lesquelles trois cas cliniques. Les patients avaient consommé un porcelet rôti à la broche farci avec une farce crue contenant le foie du porcelet. Les mêmes souches de HEV que celles impliquées dans les cas humains ont aussi été détectées dans le lisier échantillonné dans l'élevage d'origine du porcelet et dans des eaux usées non traitées provenant

du système d'épuration de la commune (Guillois *et al.*, 2016). Riveiro-Barciela *et al.* (2015) rapportent également le cas d'une infection aiguë par le HEV contractée par voie alimentaire : le HEV a pu être détecté et analysé dans de la viande de porc consommée par le patient, démontrée ainsi avec certitude comme la source de l'infection.

Plusieurs études visant à identifier des **facteurs de risque** expliquant la séropositivité HEV ont été conduites dans différents pays. Par exemple, en France, une récente enquête nationale rapporte les facteurs de risque suivants associés à une sérologie HEV positive : la **consommation de viande de porc ou de gibier** (Risque Relatif (RR) = 1,53), de **saucisses à base de foie de porc** (RR = 1,30), d'**abats** (RR = 1,25) (Mansuy *et al.*, 2016). En Italie, la consommation de saucisses à base de foie de porc est également apparue comme un facteur de risque vis-à-vis de la séropositivité HEV (La Rosa *et al.*, 2011). Une étude américaine montre également que la consommation de viande de porc insuffisamment cuite est un facteur de risque (Odds Ratio (OR) = 12,9) (Cossaboom *et al.*, 2016). Une équipe britannique a aussi montré que, parmi un groupe de 76 donneurs de sang présentant une virémie HEV, la majorité d'entre eux consommait des produits à base de viande de porc provenant d'une même chaîne de supermarchés (Tedder *et al.*, 2016). De manière similaire, une étude allemande conduite auprès de donneurs virémiques rapporte que 89 % d'entre eux consomment régulièrement de la viande de porc, et 67 % d'entre eux ont aussi dit avoir consommé du **tartare de porc** dans les deux mois précédents (Westholter *et al.*, 2018). Récemment, deux études néerlandaises ont également pointé la consommation de viande comme un facteur de risque : Slot *et al.* (2017) ont montré que la séoprévalence HEV chez les donneurs de sang consommant de la viande était significativement plus élevée que chez les végétariens (20,5 % *versus* 12,4 %) ; Mooij *et al.* (2018) ont quant à eux décrit la consommation de **saucisses traditionnelles néerlandaises (de type salami, cervelas, etc.)** comme un facteur de risque (OR = 1,5). Une large étude italienne, menée à partir des données relatives aux cas italiens d'hépatite E sur la période 2012-2016, rapporte aussi la consommation de porc et de saucisses de porc comme facteur de risque (OR = 4,6 et OR = 2,9 respectivement) (Alfonsi *et al.*, 2018).

Quelques **études cas-témoins** liant infection et habitudes de consommation ont également été conduites en Europe. Par exemple, en Allemagne, une étude incluant 45 cas et 135 témoins a mis en évidence que la consommation d'**abats** était associée à l'infection par le HEV (OR = 2,7) (Wichmann *et al.*, 2008). Plus récemment, toujours en Allemagne, Faber *et al.* (2018) ont montré, à partir de 270 cas et 1 159 contrôles, que l'infection par le HEV était

associée, entre autres, à la **consommation de foie de porc insuffisamment cuit** (OR = 5,3), de **viande de porc** (OR = 3), de **saucisses de Francfort** (OR = 1,9) et de **saucisses ou pâté de foie** (OR = 2,1). En Angleterre et en Ecosse, Said *et al.* (2014) ont rapporté, à partir de 25 cas et 75 témoins, que l'infection par le HEV était associée à la consommation de **tourte de porc** (*pork pie*, spécialité britannique, OR = 6,33) et de **saucisses et jambon provenant d'une grande chaîne de supermarchés britannique** (OR = 10,12). Récemment, une étude particulièrement médiatisée des mêmes auteurs a mis en évidence que l'infection par une souche particulière de HEV (phylotype HEV-3-2) était liée à la **consommation de saucisses et de jambons provenant de la chaîne de supermarchés britannique Tesco** (OR = 1,85) (Said *et al.*, 2017). Aux Pays-Bas, une étude cas-témoins impliquant 376 cas d'hépatite aiguë sur la période 2015-2017, montre que la consommation de **saucisses traditionnelles crues à base de viande de porc** est rapportée chez 72 % des patients contre 46 % des témoins, conduisant à un OR de 3 [2,2-4,1] et à un pourcentage de risque attribuable de 47 % (Tulen *et al.*, 2019).

De plus, en France, la comparaison des séquences de HEV présentes chez l'homme (données CNR) et chez le porc (isolement des foies à l'abattoir) sur une même période a permis de montrer une circulation active des mêmes sous-types et dans les mêmes proportions dans ces deux populations. Plusieurs arguments permettent d'écarter une origine locale de l'infection : (i) les séquences identiques entre élevages sont géographiquement proches, (ii) les séquences humaines identiques sont géographiquement très distantes (> 200 km), (iii) les séquences identiques chez l'homme et le porc sont également géographiquement très distantes (> 200 km). Ces résultats suggèrent que **la voie alimentaire serait la voie prédominante de contamination, et non une voie environnementale locale** (Bouquet *et al.*, 2011).

D'autre part, de nombreuses données sont disponibles dans la littérature pour évaluer la contamination des produits à base de porc (Tableau II). Parmi eux, les **foies de porcs** se révèlent être particulièrement à risque, avec une prévalence de foie contaminés à l'abattoir ou en supermarché variant entre 1 et 21 % selon les études et les pays. En France, par exemple, une enquête nationale a montré que 4 % des foies de porc à l'abattoir contenaient de l'ARN viral du HEV (Rose *et al.*, 2011). Par conséquent, les **produits à base de foie de porc** (saucisse de foie, pâté de foie) sont également à risque vis-à-vis du HEV, en particulier s'ils sont consommés crus ou insuffisamment cuits. Par exemple, une étude menée en France à partir de 394 produits achetés en supermarchés a montré que 30 % des figatelles et fitones contenaient de l'ARN viral du HEV, ainsi que 3 % des foies séchés et salés, 25 % des quenelles de foie et 29 % des saucisses

de foie sèches ou fraîches (Pavio *et al.*, 2014). Ces produits constituent des spécialités locales majoritairement consommés dans le Sud de la France, mais des équivalents sont commercialisés dans plusieurs autres pays d'Europe et ont également été testés positifs vis-à-vis du HEV (Tableau II). Il faut noter que les figatelles et préparations apparentées sont constituées de mélanges de plusieurs foies de porc, ce qui augmente considérablement le risque de contamination du produit final, même s'il peut diminuer la charge virale moyenne.¹¹ Le facteur « mélange » joue ainsi un rôle majeur dans le processus de transmission du HEV par voie alimentaire, non compensé par la dilution.¹²

Si le risque représenté par les produits à base de foie de porc est largement admis par la communauté scientifique et les autorités sanitaires, le **risque lié à la consommation de viande de porc ou produits à base de porc ne contenant pas de foie** est plus discuté. La plupart des études conduites récemment n'ont pas détecté d'ARN du HEV dans la viande et produits à base de viande (Tableau II) mais les études d'exposition (*cf. supra*), en mettant en évidence le rôle non seulement des produits contenant du foie mais aussi des produits à base de viande, posent question. Expérimentalement, il a été montré que les muscles des porcs peuvent contenir du HEV (Bouwknegt *et al.*, 2009) et l'enquête de Di Bartolo *et al.* (2012) rapporte 3 % de muscles linguaux de porcs positifs HEV à l'abattoir. La présence du HEV dans les muscles pourrait être liée soit à une répllication du virus dans les muscles, soit à une phase de virémie tardive entraînant la détection du virus dans les muscles à l'abattage. En Allemagne, l'enquête de Szabo *et al.* (2015) a montré que 21,7 % des salamis échantillonnés contenaient du HEV. L'étude de Cossaboom *et al.* (2016) rapporte également que 25 % des « andouillettes » échantillonnées dans un supermarché de Virginie aux Etats-Unis sont positives HEV ; ceci est cohérent avec l'étude de Williams *et al.* (2001) qui montre que le HEV peut se répliquer, entre autres, dans l'intestin du porc. Enfin, une enquête conduite récemment au Pays-Bas décrit une contamination de produits sanguins de porcs, entrant dans la fabrication de produits à base de viande (Boxman *et al.*, 2017). Des données polonaises non publiées suggèrent également un risque lié aux produits de porc contenant du sang de porc en grande proportion, avec 2 % (1/50) d'échantillons de boudin noir positifs HEV (communication personnelle).

¹¹ Par exemple, la fabrication d'un lot d'environ 2 100 figatelles nécessite 75 foies. Sur la base de 4 % de foies contaminés, la probabilité que ce lot soit contaminé (contienne au moins un foie contaminé) est de $1-(0.96)^{75}$, soit 95 %. La charge virale moyenne de ce lot sera 1.8 log plus basse que celle du foie initial.

¹² Avis de l'AFSSA n°2009-SA-0146 du 23 septembre 2009 relatif au virus de l'hépatite E : méthodes de détection, risques pour le consommateur et risque lié à l'environnement.

Tableau II - Données de la littérature relative à la contamination des foies, de la viande et des produits à base de porc

Organe / Produit	Pays	Echantillons positifs (%)	Référence
Foie de porc	Brésil	2/118 (2 %)	Gardinali <i>et al.</i> (2012)
	Burkina Faso	1/157 (1 %)	Traore <i>et al.</i> (2015)
	Cameroun	3/345 (1 %)	de Paula <i>et al.</i> (2013)
	Canada	2/19 (10 %)	Mykytczuk <i>et al.</i> (2017)
	Canada	25/283 (9 %)	Wilhelm <i>et al.</i> (2014)
	Canada	9/43 (21 %)	Leblanc <i>et al.</i> (2007)
	Chine	4/114 (4 %)	Li <i>et al.</i> (2009a)
	Chine	7/114 (6 %)	Geng <i>et al.</i> (2019b)
	République Tchèque	2/40 (5 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
	France (Corse)	2/24 (8 %)	Jori <i>et al.</i> (2016)
	France	128/3715 (4 %)	Rose <i>et al.</i> (2011)
	Allemagne	8/200 (4 %)	Wenzel <i>et al.</i> (2011)
	Hong Kong	7/479 (2 %)	Chan <i>et al.</i> (2017)
	Inde	2/240 (1 %)	Kulkarni et Arankalle (2008)
	Italie	2/33 (6 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
	Japon	12/243 (5 %)	Okano <i>et al.</i> (2014)
	Japon	0/110 (0 %)	Sasaki <i>et al.</i> (2013)
	Japon	4/390 (1 %)	Ishida <i>et al.</i> (2012)
	Mexique	26/127 (20 %)	Cantu-Martinez <i>et al.</i> (2013)
	Espagne	1/39 (3 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
	Thaïlande	3/1090 (1 %)	Intharasongkroh <i>et al.</i> (2017)
	Pays-Bas	4/62 (6 %)	Bouwknegt <i>et al.</i> (2007)
	Pays-Bas	10/79 (13 %)	Boxman <i>et al.</i> (2019)
	Royaume-Uni	1/40 (3 %)	Berto <i>et al.</i> (2012)
	Etats-Unis	14/127 (11 %)	Feagins <i>et al.</i> (2007)
	Viande de porc (muscle)	Canada	0/599 (0 %)
Canada		0/43 (0 %)	Leblanc <i>et al.</i> (2007)
République Tchèque		1/40 (3 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
Italie		2/33 (6 %) muscle lingual	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
Espagne		0/39 (0 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
France		0/1134 (0%)	Feurer <i>et al.</i> (2018)
Thaïlande		2/559 (1 %)	Intharasongkroh <i>et al.</i> (2017)
Royaume-Uni		0/40 (0 %)	Berto <i>et al.</i> (2012)
Chine		0/158 (0 %)	Geng <i>et al.</i> (2019b)
Pays-Bas		0/98 (0 %)	Boxman <i>et al.</i> (2019)
Saucisses ou autres produits contenant du foie de porc		Canada	36/76 (47 %)
	France	68/394 (17 %)	Pavio <i>et al.</i> (2014)
	France	22/70 (31 %)	Martin-Latil <i>et al.</i> (2016)
	Allemagne	11/50 (22 %)	Szabo <i>et al.</i> (2015)

	Italie	11/68 (16 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2015)
	Suisse	12/102 (12%)	Giannini <i>et al.</i> (2018)
	Suisse	7/37 (19 %)	Moor <i>et al.</i> (2018)
	Pays-Bas	70/99 (71 %)	Boxman <i>et al.</i> (2019)
		saucisses de foie 62/90 (69 %)	
		pâté de foie	
Saucisses ou autres produits ne contenant pas de foie de porc	Allemagne	13/60 (22 %)	Szabo <i>et al.</i> (2015)
		salami	
	Suisse	0/18 (0 %)	Giannini <i>et al.</i> (2018)
	Pays-Bas	33/36 (92 %)	Boxman <i>et al.</i> (2017)
		produits sanguins liquides 7/24 (29 %)	
		produits sanguins en poudre	
	Pays-Bas	0/103 (0 %)	Boxman <i>et al.</i> (2019)
	saucisses		
	Chine	2/170 (1 %)	Geng <i>et al.</i> (2019b)
		sang	
	Etats-Unis	3/12 (25 %)	Cossaboom <i>et al.</i> (2016)
		andouillettes (<i>pork chitterlings</i>)	
Saucisses (non spécifié)	Canada	0/35 (0 %)	Mykytczuk <i>et al.</i> (2017)
	République Tchèque	0/92 (0 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
	Italie	0/128 (0 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
	Espagne	6/93 (6 %)	Di Bartolo <i>et al.</i> (2012)
	Royaume-Uni	6/63 (10 %)	Berto <i>et al.</i> (2012)

Les **charges génomiques virales** retrouvées dans les foies, muscles, ou produits à base de foie ou de viande de porc sont comprises entre 10 et 10⁷ copies d'ARN par gramme, selon les études et les produits (Pavio *et al.*, 2017). La **dose infectante** par voie orale chez l'homme n'est pas connue, mais elle a été estimée à 10⁵ copies d'ARN par gramme chez le porc (Andraud *et al.*, 2013) et serait supérieure à 10^{5.5} chez les primates non humains.¹³ Les charges virales présentes dans les produits constitueraient donc un risque d'infection chez l'homme. Néanmoins, la détection d'ARN viral dans un produit ne préjuge pas du **caractère infectieux du virus** ; ce point est délicat à évaluer, de par l'absence de modèles de culture *in vitro* validés et utilisables à grande échelle (*cf. supra*). Seules quelques études sont parvenues à démontrer la présence d'HEV infectieux dans des produits à base de porc (Bouwknegt *et al.*, 2007; Feagins *et al.*, 2007; 2008a; Takahashi *et al.*, 2012; Berto *et al.*, 2013b).

¹³ Avis de l'AFSSA n°2009-SA-0146 du 23 septembre 2009 relatif au virus de l'hépatite E : méthodes de détection, risques pour le consommateur et risque lié à l'environnement.

La détection du HEV dans un grand nombre de produits à base de foie de porc, et les questions émergent ces dernières années sur la possible présence du HEV dans la viande et les produits à base de viande de porc, conduisent à insister sur la **nécessité de consommer ces produits cuits à cœur**. Rappelons qu'un traitement thermique à 71°C pendant 20 minutes a prouvé son efficacité pour inactiver le virus dans des matrices complexes (Barnaud *et al.*, 2012). Les **tendances culinaires à risque**, même pour les produits ne contenant pas de foie de porc (rôti de porc à cuisson basse température, carpaccio de porc, tartare de porc, *etc.*, Figure 12), ne sont ainsi pas recommandées.

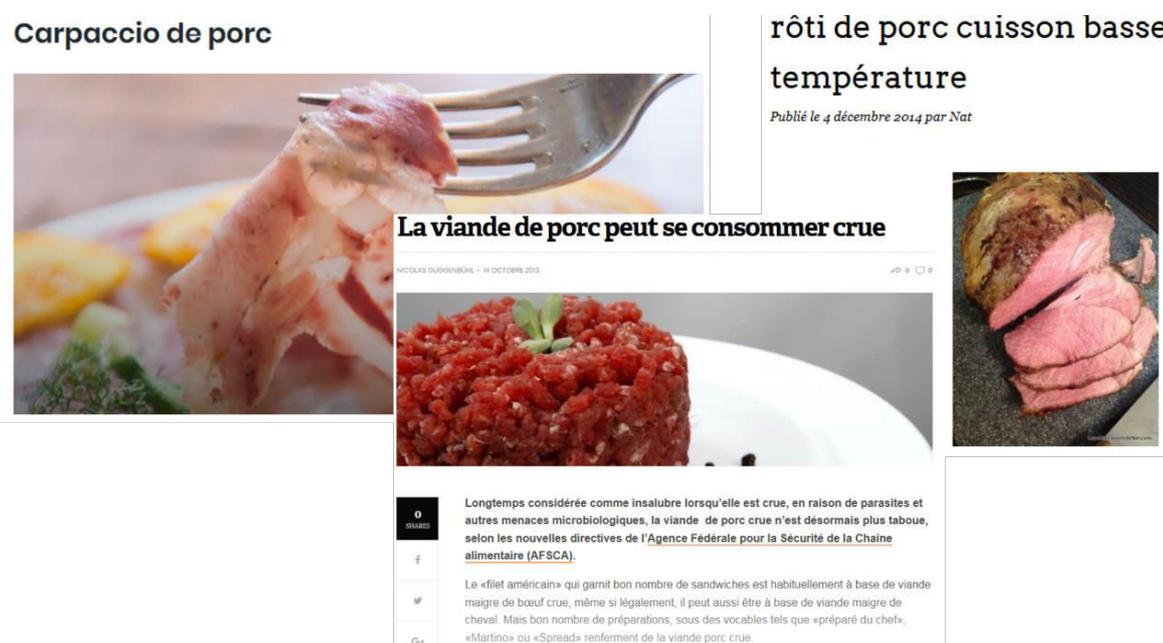


Figure 12 - Extrait d'une recherche internet sur les nouveaux modes de consommation de viande de porc (recherche Google du 12/10/2018)

En France, courant 2009, et suite à la parution d'un avis de l'Anses¹⁴ quant au risque d'hépatite E lié à la consommation de produits à base de foie de porc, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) a recommandé à la Fédération française des industriels charcutiers, traiteurs et transformateurs de viandes (FICT) d'**inciter les fabricants à indiquer sur l'étiquetage des saucisses à base de foie cru de porc destinées à être consommées cuites, la mention « à consommer cuit à cœur »**.¹⁵ Dans la continuité de cette démarche, au cours des années suivantes, la DGAL a de nouveau sensibilisé la FICT quant au renforcement de la

¹⁴ Avis de l'AFSSA n°2009-SA-0101 du 30 avril 2009 relatif à une demande d'avis sur le risque de contamination humaine par le virus de l'hépatite E (VHE) après ingestion de figatelles (saucisses crues à base de foie de porc)

¹⁵ Lettre à diffusion limitée DGAL/MUS/SA/SDSSA/BETD N°0393 du 12 mai 2009 : Hépatite E dans certains produits à base de foie de porcs contaminés

vigilance sur l'apposition de la mention « à consommer cuit à cœur » sur l'étiquetage (lisibilité des mentions relatives aux conditions de consommation) et la **séparation physique dans les rayons des produits à consommer en l'état, des produits à cuire**. En réponse, la FICT a procédé en 2011 à une nouvelle information dans ce sens auprès des fabricants de produits crus contenant du foie de porc, des fabricants de produits crus contenant des viandes ou des abats de cerf et de sanglier ainsi que des entreprises utilisatrices de foies de porcs crus, de viande ou abats (foie, fressure) de sanglier ou de cerf.¹⁶ En 2011, les services d'inspection de la DGAI ont procédé à des vérifications de l'apposition de la mention « à consommer cuit à cœur » sur l'étiquetage des saucisses à base de foie cru de porc destinées à être consommées après cuisson. Au bilan, sur 185 inspections réalisées dans 56 départements entre juillet et septembre 2011, **le non-respect de ces recommandations a pu être largement constaté** (communication personnelle). Les non-conformités relevées concernaient des produits vendus en vrac sans aucun étiquetage ou des produits pré-emballés ne portant pas la recommandation de cuisson, ou étaient liées à un message incorrect, différent de la mention « à consommer cuit à cœur » ou au caractère illisible de la mention ; enfin, il a parfois été constaté l'absence de séparation des produits destinés à être consommés en l'état, des produits destinés à être consommés après cuisson. A l'occasion d'un cas groupé de trichinellose dans le Sud de la France, une étude a également mis en évidence la défaillance dans l'étiquetage des figatelles, notamment en ce qui concerne la taille de police de la mention « à consommer cuit à cœur » (Ruetsch *et al.*, 2016). **Les recommandations d'étiquetage des produits à risque ne semblent donc pas suffisantes pour réduire le risque d'exposition de l'homme au HEV**. Pour preuve, une recherche succincte sur des sites commercialisant ou promouvant les figatelles met en évidence des conseils de consommation contraires : « Le figatellu cru se mange comme un saucisson. On le coupe en tranches en lui ôtant sa peau. »¹⁷, « Si l'on a la patience d'attendre, il est également possible de le faire sécher, on peut le garder alors jusqu'au début de l'été sans problème, pour le consommer cru. »¹⁸, « Il peut être dégusté grillé à la braise, au four, dans une sauce avec des lentilles ou encore cru lorsqu'il est sec. »¹⁹. Rappelons qu'en l'absence de données sur l'effet

¹⁶ Note d'information de la FICT du 29 avril 2011 : Note d'information sur le virus de l'hépatite E dans les produits à base de foie de porc

¹⁷ <http://www.cuisinez-corse.com/charcuterie-corse-figatellu>, site consulté le 12/10/2018

¹⁸ <https://www.gietaravu.corsica/charcuterie-corse/les-figatelli>, site consulté le 12/10/2018

¹⁹ <http://www.figatelli.fr>, site consulté le 12/10/2018

du séchage et de la salaison sur le HEV, ces traitements ne peuvent pas être considérés comme efficaces pour l'inactivation du HEV dans les produits.²⁰

(ii) Les produits de gibier

Les **produits de gibier** sont également à risque vis-à-vis du HEV. Par exemple, deux cas d'hépatite E liés de manière certaine à la **consommation de viande de sanglier** ont été décrits dans la littérature, l'un en Espagne (Rivero-Juarez *et al.*, 2017) et l'autre au Japon (Li *et al.*, 2005) (Tableau I). De nombreuses études conduites en Europe et au Japon rapportent aussi des niveaux de contamination des **foies de sanglier** variant entre 2 et 38 %, avec des charges génomiques entre 40 et 10⁸ copies d'ARN par gramme (Adlhoch *et al.*, 2009; Forgach *et al.*, 2010; Kaba *et al.*, 2010; Rutjes *et al.*, 2010; Sato *et al.*, 2011; Kubankova *et al.*, 2015; Lhomme *et al.*, 2015; Montagnaro *et al.*, 2015; Serracca *et al.*, 2015; Motoya *et al.*, 2016; Anheyer-Behmenburg *et al.*, 2017; Thiry *et al.*, 2017). Concernant **la viande ou les produits à base de viande de sanglier**, entre 0 et 12 % des échantillons ont été détectés positifs au HEV, selon les études (Rutjes *et al.*, 2010; Schielke *et al.*, 2015; Anheyer-Behmenburg *et al.*, 2017).

Les autres études concernent plusieurs espèces de **cervidés**. Quelques cas liés à la consommation de produits à base de cerf ont été rapportés dans la littérature (Tableau I). Le HEV a aussi été détecté dans le **foie de cerf** (taux de détection de 2 à 10 %) et de **chevreuil** (taux de détection de 0 à 22 %) (Rutjes *et al.*, 2010; Lhomme *et al.*, 2015; Serracca *et al.*, 2015; Anheyer-Behmenburg *et al.*, 2017; Thiry *et al.*, 2017), tandis que les analyses réalisées sur des échantillons de foies de daims, cerfs Yezo et cerfs Sika se sont révélées négatives (Sonoda *et al.*, 2004; Ishida *et al.*, 2012; Anheyer-Behmenburg *et al.*, 2017). Le HEV a aussi été détecté dans 0 à 5 % d'échantillons de **viande de cerf** selon les études (Rutjes *et al.*, 2010; Anheyer-Behmenburg *et al.*, 2017).

(iii) Autres denrées alimentaires

D'autres denrées alimentaires d'origine animale sont suspectées d'être à l'origine d'infections humaines par le HEV. Par exemple, Lee *et al.* (2016) ont décrit le cas d'un patient

²⁰ Santé Publique France, 2014. Hépatite E : point sur les connaissances, disponible à : <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Hepatitis-virales/Hepatitis-E/Points-sur-les-connaissances>

infecté par une souche de HEV-7 et consommant régulièrement de la viande et du lait de **chameau**. Récemment, une infection expérimentale de macaques a été réalisée à partir de souches de HEV-8 isolées d'échantillons de fèces et de lait de chameau, ce qui soulève le risque potentiel d'une infection humaine par la viande et/ou le lait de chameau par ce génotype (Wang *et al.*, 2019). **Dans les pays occidentaux, le risque d'hépatite E lié à la consommation de lait de vache ou petits ruminants est controversé.** Chez la femme, le HEV a été isolé dans le lait dans une étude, montrant ainsi que la voie mammaire est une voie possible d'excrétion du HEV chez les mammifères (Rivero-Juarez *et al.*, 2016). Une publication chinoise a récemment mis en évidence une forte prévalence du HEV chez des **vaches laitières** et a rapporté la détection d'ARN infectieux du HEV-4 dans le **lait de vache** (Huang *et al.*, 2016). L'analyse des séquences montre une homologie de 99 % avec les souches de HEV humaines et porcines. De la même manière, Yan *et al.* (2016) ont détecté de l'ARN du HEV-4 chez huit bovins Jaunes du Sud²¹ sur 254 en Chine, avec 96,6 % d'homologie de séquence avec les souches humaines chinoises. Long *et al.* (2017) décrivent aussi une forte prévalence du HEV chez les chèvres et la présence d'ARN du HEV dans le **lait de chèvre**. En Turquie, de l'ARN du HEV a été détecté dans du lait cru de vache (29,16 % des échantillons), de chèvre (18,46 %), de brebis (12,3 %) et d'ânesse (24,5 %), de génotype 1, 4 et 3 (Demirci *et al.*, 2019). En Europe, l'étude de Sarchese *et al.* (2019) montre la présence du HEV dans la **population ovine italienne**, avec une séroprévalence de 21,3 % parmi 192 moutons analysés dans sept élevages, et de l'ARN du HEV-3 détecté dans 10,4 % et 1,6 % des échantillons de fèces et de sang, respectivement. Trois études conduites en Allemagne, en Chine et en Belgique ont quant à elles rapporté l'absence de détection du HEV dans le lait de vache (Baechlein et Becher, 2017; Geng *et al.*, 2018; Vercouter *et al.*, 2018). Récemment, Yugo *et al.* (2018) ont mis en évidence que 20,4 % d'un échantillon de 983 vaches aux Etats-Unis présentait des IgG anti-HEV. Néanmoins, les auteurs ne sont pas parvenus à séquencer les souches isolées, qui ne correspondent donc pas à des souches de HEV, et ils suggèrent donc que la séroconversion observée chez bovins serait liée à un **agent antigéniquement proche du HEV** mais qui ne serait pas le HEV. **Le rôle des bovins et petits ruminants dans la transmission zoonotique du HEV doit donc être envisagé avec précaution.**

Le **lapin** est également **suspecté** d'être à l'origine de cas humains d'hépatite E mais la voie de transmission n'est pas connue. Une étude conduite en France a montré que, sur 919

²¹ race de bovins de type Zébu

patients infectés par le HEV durant la période 2015-2016, cinq d'entre eux étaient infectés par une souche de HEV cunicole (HEV-3ra). Aucun de ces patients n'a rapporté avoir été en contact direct avec des lapins, ce qui peut suggérer une infection d'origine alimentaire ou médiée par l'eau (Abravanel *et al.*, 2017a). Sahli *et al.* (2019) rapportent pour leur part trois cas d'infection par une souche cunicole de HEV chez des patients immunodéprimés n'ayant pas consommé de lapin ni ayant de contact avec des lapins.

Par ailleurs, des souches de HEV-3 et HEV-4 ont été détectées dans des **moules** en Espagne et en Ecosse (Crossan *et al.*, 2012; Mesquita *et al.*, 2016), dans des **huîtres** en Corée (Song *et al.*, 2010), dans des bivalves au Japon (Li *et al.*, 2007), et dans des mollusques en Chine et en Ecosse (huîtres et moules) (Gao *et al.*, 2015; O'Hara *et al.*, 2018). Une étude expérimentale a également montré la bioaccumulation du HEV dans les huîtres, les moules et les palourdes, principalement dans les tissus digestifs (Grodzki *et al.*, 2014). La consommation de mollusques a également été fortement suspectée d'être à l'origine d'un cas d'infection par le HEV-4 chez un patient japonais ayant voyagé au Vietnam (Koizumi *et al.*, 2004) et de cas groupés d'hépatite E sur un bateau de croisière (Said *et al.*, 2009). En France, l'étude de Mansuy *et al.* (2016) a aussi montré que la séropositivité HEV chez les donneurs de sang était associée à la consommation d'huîtres.

Enfin, de l'ARN du HEV a été retrouvé dans des **fraises** au Canada (Brassard *et al.*, 2012), des **framboises** surgelées vendues en Europe (Maunula *et al.*, 2013), et dans des **légumes verts** dans trois pays d'Europe (Kokkinos *et al.*, 2012). Une étude conduite en France rapporte également une contamination possible d'herbes et épices, à hauteur de 0,9 % (2/230) (Loisy-Hamon et Leturnier, 2015). Une étude italienne montre également la présence de HEV dans un échantillon de fruits et légumes sur 70 (1,4 %) (Purpari *et al.*, 2019).

1.4.c. La problématique liée à l'eau

La présence du HEV dans les mollusques, les fruits et les légumes est probablement liée à la contamination des eaux de surface et d'irrigation par des effluents d'élevage. En effet, l'ARN du HEV a été détecté dans des **effluents d'élevage porcins** dans de nombreuses études (Pina *et al.*, 2000; Kasorndorkbua *et al.*, 2005; Fernandez-Barredo *et al.*, 2006; McCreary *et al.*, 2008; Guillois *et al.*, 2016). Par inoculation expérimentale à des porcs, il a également pu être montré que **ces effluents contaminés pouvaient être infectieux** (Kasorndorkbua *et al.*,

2005). Plusieurs études ont aussi rapporté la présence de HEV dans les **eaux de surface à proximité d'élevages de porcs** (Steyer *et al.*, 2011; Gentry-Shields *et al.*, 2015), probablement contaminées par l'épandage du lisier comme engrais ou par le ruissellement des effluents d'élevage. Des souches de HEV ont également été retrouvées dans des **stations de traitement des eaux usées** (Ippagunta *et al.*, 2007; La Rosa *et al.*, 2010; Masclaux *et al.*, 2013; Baez *et al.*, 2017; Alfonsi *et al.*, 2018). De plus, dans plusieurs publications, des séquences de HEV proches de séquences retrouvées chez des patients atteints d'hépatite E ou chez des porcs ont été mises en évidence dans des rivières ou eaux de mer (Rutjes *et al.*, 2009; Ishida *et al.*, 2012; Iaconelli *et al.*, 2015). Une autre étude conduite en Ecosse a montré que des mollusques contenant du HEV étaient élevés près d'une usine de transformation de viande de porc, ce qui pose la question d'un lien éventuel avec les eaux usées des industries agro-alimentaires de la filière porcine (O'Hara *et al.*, 2018).

Des études sur les facteurs de risque de l'exposition de l'homme au HEV ont également mis en évidence le rôle de l'eau. Ainsi, la méta-analyse de Hartl *et al.* (2016) suggère que l'exposition environnementale est un facteur de risque vis-à-vis de la séropositivité HEV. L'enquête conduite en France par Mansuy *et al.* (2016) montre quant à elle que le fait de **boire de l'eau en bouteille est un facteur protecteur vis-à-vis de l'infection par le HEV**. Une autre étude réalisée dans le sud-ouest de la France suggère aussi qu'une transmission par l'eau pourrait expliquer des différences locales de séroprévalence (Mansuy *et al.*, 2015). Dans leur enquête conduite auprès de 36 patients atteints d'hépatite E aiguë en Grande-Bretagne, Hunter *et al.* (2016) émettent l'hypothèse du rôle des activités aquatiques de loisir dans l'infection par le HEV. Enfin, une étude chinoise a montré que des cas groupés d'hépatite E (HEV-4) dans un établissement de soins étaient probablement liés à l'utilisation d'eau du robinet contaminée (Chen *et al.*, 2016).

1.4.d. Autres voies d'exposition zoonotique

- (i) Le contact avec les animaux et l'exposition professionnelle

L'exposition au HEV *via* le **contact avec des porcs** a été mise en évidence par de nombreuses études sérologiques conduites auprès de personnes ayant une **exposition professionnelle** à ces animaux (**éleveurs de porcs, employés d'abattoir, bouchers,**

vétérinaires porcins), en comparaison à un groupe contrôle. Dans la plupart de ces études, les groupes exposés présentent une séroprévalence HEV plus élevée en comparaison avec les groupes non-exposés (Figure 13). Néanmoins, la comparaison directe de ces études entre elles n'est pas possible du fait des différences de performance entre les tests sérologiques utilisés. Une étude récente a également montré que le contact direct avec les porcs était associé à un risque d'hépatite E aiguë plus élevé (OR = 3,1 [1,3-7,3]) (Tulen *et al.*, 2019). D'autres études ont été conduites pour évaluer le risque de transmission du HEV par contact avec des animaux sauvages. Par exemple, deux études conduites en France et en Allemagne rapportent une séroprévalence plus élevée chez les **travailleurs forestiers** par rapport aux groupes contrôles (Dremsek *et al.*, 2012; Chaussade *et al.*, 2013). La séroprévalence chez les **chasseurs** est également apparue plus élevée que dans la population générale dans plusieurs études (Toyoda *et al.*, 2008; Schielke *et al.*, 2015). De plus, l'étude de Schielke *et al.* (2015) montre que les chasseurs utilisant des gants pour pratiquer l'éviscération des sangliers ont un risque de séropositivité HEV plus faible que ceux qui n'en utilisent pas ou que rarement, ce qui confirme la voie de transmission du HEV par contact.

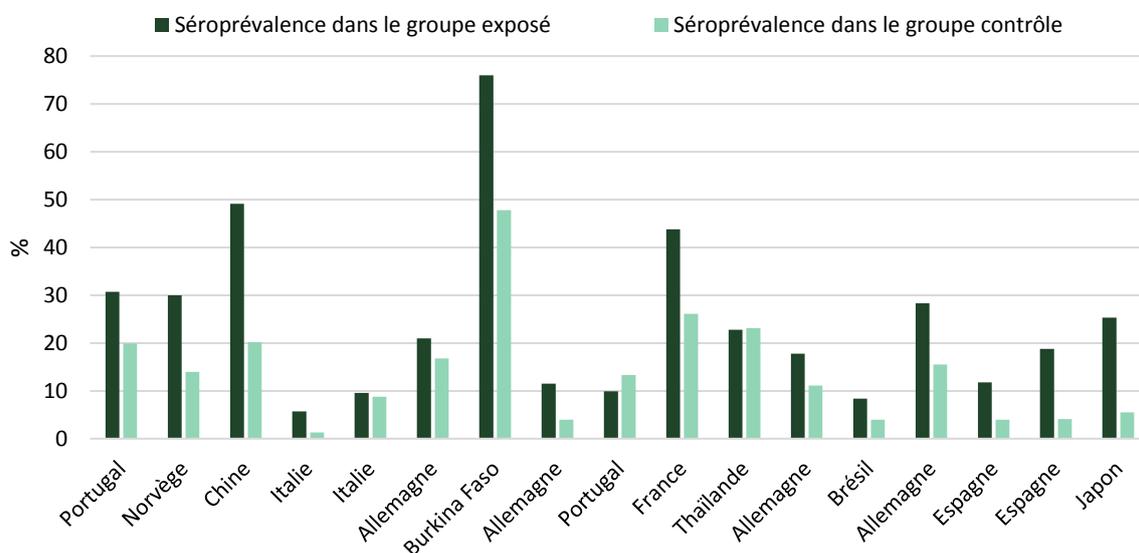


Figure 13 - Synthèse des études rapportant une différence de séroprévalence entre les personnes en contact professionnel avec les animaux à risque (porcs, animaux sauvages) et un groupe contrôle

Source : d'après Pavio *et al.* (2017)

En revanche, si plusieurs études décrivent la présence d'anticorps anti-HEV comme un indicateur d'une transmission du virus du porc ou du sanglier à l'homme, la transmission du

HEV par contact **semble rarement conduire à une hépatite clinique chez l'homme**. Un cas d'hépatite E a été rapporté chez un chirurgien s'entraînant à des pratiques de chirurgie chez le porc (Colson *et al.*, 2007). Perez-Gracia *et al.* (2007) ont également décrit un cas d'hépatite E aiguë chez un travailleur d'un abattoir de porcs. Dans ces deux cas, le contact avec les organes contaminés a été suspecté d'être à l'origine de l'infection. Un cas d'hépatite E aiguë a aussi été rapporté en France chez un patient ayant des contacts fréquents avec un cochon de compagnie (Renou *et al.*, 2007). La comparaison des séquences de HEV du patient et du cochon a montré une homologie de 92 à 98 % selon la région du génome. Même si les souches n'étaient pas identiques, elles étaient plus proches entre elles que de toutes les autres souches isolées dans la même région géographique. Les auteurs ont suspecté qu'une quasi-espèce du HEV ait été transmise du cochon à l'homme par contact direct ou contact avec ses fèces.

Le contact avec les lapins de compagnie est également suspecté d'être à l'origine d'infections par le HEV chez l'homme (Caruso *et al.*, 2015). De plus, une publication récente rapporte une séroprévalence HEV plus élevée chez des **travailleurs d'abattoirs de lapins** (IgG 46,1 %, IgM 6,7 %), en comparaison avec la population générale (IgG 10,8%, IgM 1,2 %) (Geng *et al.*, 2019a).

(ii) Le risque potentiel lié aux xénogreffes

Plusieurs publications ont également soulevé le **risque de transmission zoonotique du HEV par l'intermédiaire de xénogreffes** (Yoo et Giulivi, 2000; Meng, 2003; Denner, 2015; 2017). En effet, étant données les difficultés pour obtenir des transplants humains, le porc pourrait constituer un donneur prometteur, d'**organes** ou de cellules, notamment des **cellules d'îlots pancréatiques** utilisées comme traitement du diabète, mais ces organes ou cellules sont susceptibles de contenir du HEV. Plusieurs souches de porcs non-transgéniques et adaptées à la xénotransplantation existent. Les porcs de l'île d'Auckland (Living Cell Technologies (LCT), Nouvelle Zélande)) ont déjà été utilisés dans plusieurs essais cliniques, impliquant entre autres la transplantation de cellules d'îlots pancréatiques de porcs chez 14 patients diabétiques souffrant d'insensibilité à l'hypoglycémie (Wynyard *et al.*, 2014). Les porcs et les préparations cellulaires utilisés dans cet essai ont été testés vis-à-vis de 26 microorganismes et le HEV n'a pas été détecté. Dans un essai préclinique sur des PNH et les essais cliniques, les receveurs ont également tous été testés négatifs vis-à-vis du HEV à plusieurs dates jusqu'à un an après la transplantation (Wynyard *et al.*, 2014). Les mini-porcs Göttingen (Ellegaard, Danemark) sont

une race de porcs EOPS (Exempts d'Organismes Pathogènes Spécifiques) largement utilisés pour de nombreuses recherches biomédicales. Busby *et al.* (2013) ont détecté le HEV chez tous les porcs EOPS de leur étude (sept porcs sur sept). Morozov *et al.* (2015) rapportent également la présence du HEV chez trois porcs sur dix mini-porcs de moins d'un an et chez trois truies, ainsi que la détection d'anticorps anti-HEV. Dans une autre étude, les mêmes auteurs rapportent l'absence de détection du HEV chez des mini-porcs donneurs et dans des cellules d'îlots pancréatiques, mais des anticorps anti-HEV chez des singes receveurs (Morozov *et al.*, 2016). En conclusion de ces études, il apparaît que l'évaluation du risque lié aux xénogreffes s'avère délicate, notamment du fait de la difficulté à détecter le HEV lorsque les charges virales sont faibles, ce qui est le cas dans le sang et la plupart des organes. Les programmes d'assainissement des élevages de porcs à des fins de production de transplants devront donc inclure une phase de sélection des animaux négatifs HEV par des méthodes RT-PCR hautement sensibles.

(iii) Focus sur deux cas d'hépatite E liés à une souche murine

En fin d'année 2018, une **souche murine de HEV** appartenant à l'espèce *Orthohepevirus C*, a été isolée chez un patient présentant une hépatite clinique persistante et ayant reçu une greffe de foie, ce qui démontre ainsi la possibilité de transmission de cette espèce virale du rat à l'homme, alors que seule l'espèce *Orthohepevirus A* était jusqu'à présent considérée comme zoonotique (Siddharth *et al.*, 2018). La voie de contamination de ce patient n'a pas été clairement identifiée : parmi les hypothèses figurent celle d'une infection par consommation de denrées alimentaires souillées par des fèces de rat contenant des particules virales, et celle d'une transmission par la greffe de foie contenant du HEV. Au Canada, un autre cas d'hépatite causée par une souche murine de HEV a été décrit chez un patient immunocompétent, ayant probablement contracté l'infection au Gabon ou en République Démocratique du Congo (Andonov *et al.*, 2019). Aucun contact avec des rats ou des fèces de rat n'a pu être mis en évidence, et la source de cette infection est ainsi inconnue à ce jour.



Ce qu'il faut retenir

Dans les pays industrialisés, la transmission zoonotique des génotypes 3 et 4 du virus de l'hépatite E est prouvée. Elle survient majoritairement par voie alimentaire, avec le porc comme principal réservoir. En particulier, les produits contenant du foie de porc (figatelles, autres saucisses de foie, autres préparations non cuites à base de foie, *etc.*) présentent un risque pour le consommateur s'ils sont consommés crus ou insuffisamment cuits. La question d'un risque de transmission par consommation de viande et produits à base de viande de porc est également soulevée et en cours d'étude. Le réservoir porcin est suspecté d'être à l'origine de contaminations environnementales par le rejet d'effluents d'élevage contenant du HEV. L'exposition professionnelle au HEV de certains groupes en contact avec des porcs ou leurs produits a aussi été mise en évidence (Figure 14).

Ainsi, la suite du manuscrit se focalisera sur le porc uniquement.



Take home message

In industrialised countries, zoonotic transmission of HEV-3 and HEV-4 has been proved. It occurs mainly through food, with pigs as the main reservoir. In particular, products containing pork liver (figatelli, other liver sausages, other raw foodstuffs with liver, etc.) present a risk to the consumers if consumed raw or uncooked. The question of a potential risk of transmission through the consumption of pig meat and other meat products is also raised and under consideration. The pig reservoir is also suspected of causing environmental contamination through the release of livestock manure containing HEV. Occupational exposure to HEV of certain groups in contact with pigs or their products has also been highlighted (Figure 14).

Thus, the next sections of the manuscript will focus on pigs only.

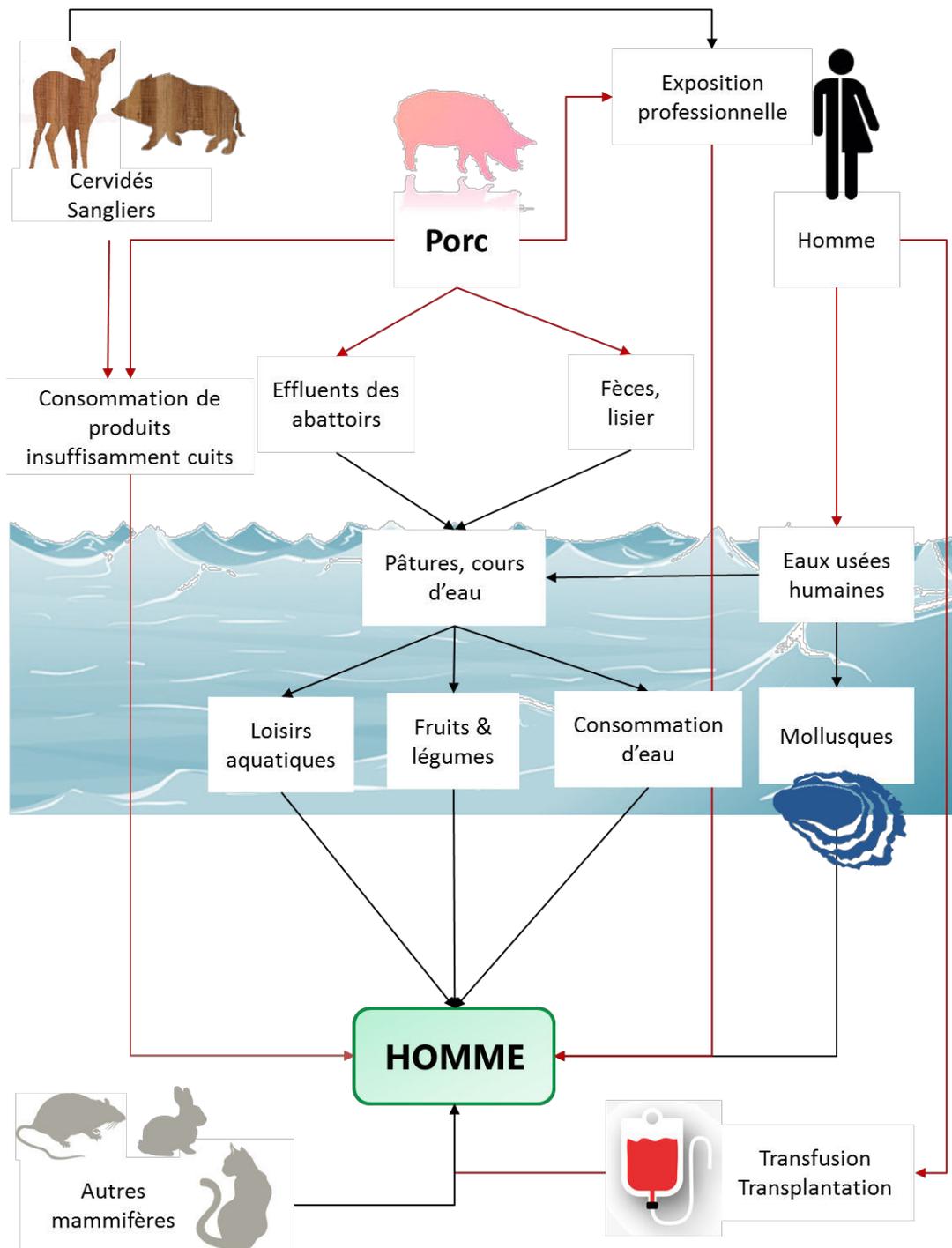


Figure 14 - Voies de transmission zoonotiques confirmées et majeures (rouge), suspectées ou mineures (noir) du virus de l'hépatite E dans les pays industrialisés

II. L'infection par le virus de l'hépatite E chez le porc : caractéristiques générales et épidémiologie dans la filière porcine

II.1. Aperçu général de l'infection par le HEV chez le porc

Chez le porc, l'infection naturelle ou expérimentale par le virus de l'hépatite E est **asymptomatique** (dos Santos *et al.*, 2009; Leblanc *et al.*, 2010; Meng, 2010). Comme chez l'homme, **la réplication virale a lieu principalement dans les hépatocytes et les particules virales sont excrétées dans les matières fécales**. L'infection est accompagnée d'une hépatite légère à modérée, révélée par des examens histopathologiques, mais aucune lésion macroscopique du foie n'est observée (de Deus *et al.*, 2008; dos Santos *et al.*, 2009). Un porc dit infectieux désigne un porc excréant des particules virales dans ses matières fécales. L'excrétion virale dans les fèces et la présence de virus dans le foie sont globalement concomitantes. **Le virus se transmet entre les porcs par voie féco-orale.**

Chez le porc, les méthodes de diagnostic de l'infection sont identiques à celles utilisées en médecine humaine, bien que les marqueurs virologiques et sérologiques suivent des cinétiques différentes. La recherche des IgA chez le porc serait plus efficace pour la détection de l'infection (Takahashi *et al.*, 2005). En plus de la détection des immunoglobulines dans le sérum des porcs, la recherche des anticorps à partir d'un exsudat musculaire est une méthode de diagnostic envisageable à l'abattoir (Casas *et al.*, 2011b).

II.2. Caractéristiques épidémiologiques de l'infection par le HEV dans la filière porcine

Cette partie a fait l'objet d'une revue bibliographique publiée dans le journal *Veterinary Research* en 2017 (Salines *et al.*, 2017a). Les objectifs et les thématiques de la revue sont présentés dans la Figure 15.

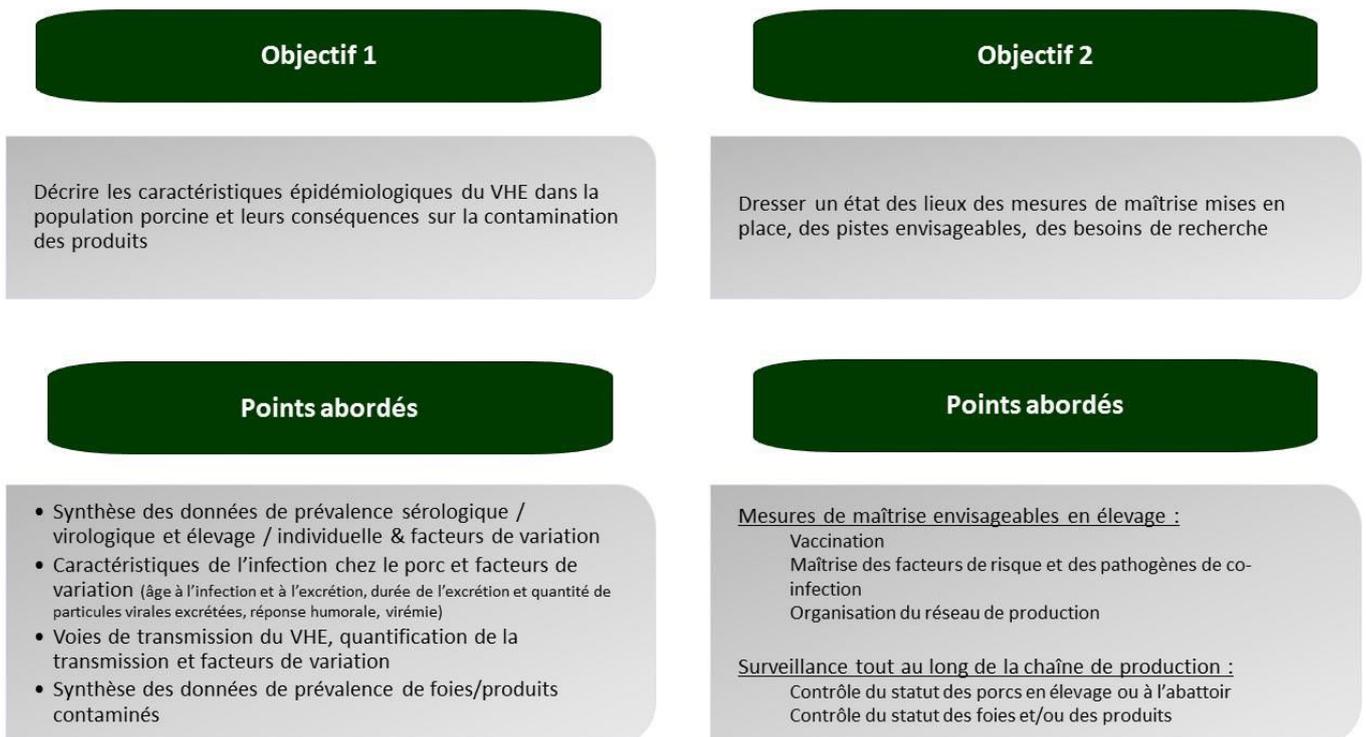


Figure 15 - Objectifs et thématiques abordés dans la revue de la littérature relative à l'épidémiologie du virus de l'hépatite E dans la filière porcine

Dans un souci de clarté, les paragraphes suivants s'attachent à présenter de manière synthétique et illustrée certaines des données détaillées dans la revue de la littérature ainsi que les nouvelles publications parues depuis. La revue réalisée présente les résultats de prévalence et séroprévalence du HEV chez le porc provenant de 86 études conduites dans des pays industrialisés. Ces études descriptives rassemblent des données de nature sérologique (IgG, IgM et IgA) ou de nature virologique (ARN viral dans les séras, les fèces, les lisiers et foies). Cette synthèse met en évidence une **très grande variabilité** dans les valeurs de prévalence et séroprévalence, tant à l'échelle individuelle qu'à l'échelle de l'élevage (Figure 16). Cette variabilité est observée à la fois **au sein d'une même étude et entre les études**. En France, une

enquête nationale a été réalisée afin d'estimer la prévalence et la séroprévalence du HEV dans les élevages de porcs (Rose *et al.*, 2011). Au total, 6 565 sera et 3 715 foies ont été collectés dans 35 abattoirs répartis sur l'ensemble du territoire français. Les résultats de cette étude montrent que **le HEV circule dans 65,3 % des élevages** et que **31 % des animaux présentent des anticorps anti-HEV à l'âge d'abattage** (*i.e.* vers 26 semaines d'âge). La séroprévalence intra-élevage du HEV varie de 5 à 90 % selon les élevages. A l'abattoir, les résultats suivants ont été obtenus : **24 % des élevages ont au moins un animal à foie positif au moment de l'abattage et au global, 4 % des foies sont infectés par le HEV.**

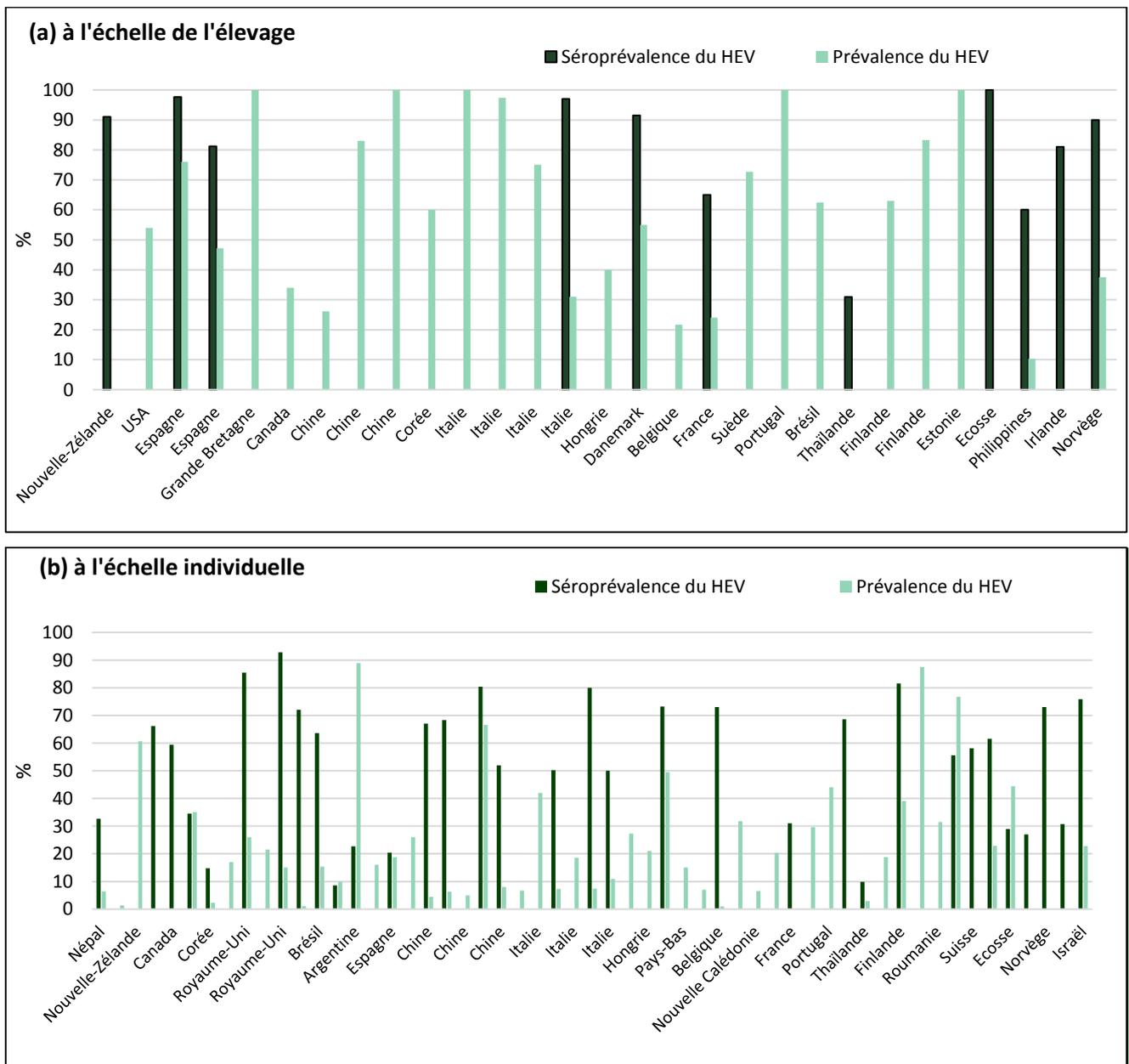


Figure 16 - Synthèse des données de séroprévalence et de prévalence du virus de l'hépatite E disponibles dans la littérature. (a) à l'échelle de l'élevage, (b) à l'échelle individuelle

La figure (a) représente la proportion d'élevages ayant au moins un animal séropositif HEV ou positif en RT-PCR dans le foie ou les fèces, tous âges/stades confondus ; la figure (b) représente la proportion de porcs séropositifs HEV ou positifs en RT-PCR dans le foie ou les fèces, tous âges/stades confondus.

Source : d'après Salines *et al.* (2017a)

Cette variabilité suggère l'existence de **facteurs de risque spécifiques** aux élevages. En plus des facteurs de risque présentés dans la revue ci-après et repris dans le Tableau III, Lopez-Lopez *et al.* (2018) ont récemment montré que les facteurs associés à une prévalence élevée du HEV étaient : un élevage extensif, l'absence de sas sanitaire et de période de quarantaine, et la présence de carnivores domestiques.

Tableau III - Facteurs de risque associés à une séroprévalence et/ou une prévalence HEV élevée dans les élevages de porcs

Facteurs liés...		
À la taille	Nombre de truies > 1000 (séroprévalence 54,2 % versus 18,9 %)	(Di Bartolo <i>et al.</i> , 2008;
	Elevages de taille moyenne versus élevages de grande taille (OR = 4,95)	Li <i>et al.</i> , 2009a; Jinshan <i>et al.</i> , 2010; Hinjoy <i>et al.</i> ,
	Nombre de porcs > 600 (séroprévalence comprise entre 78 % et 100 %, versus 0 % à 29 %)	2013; Walachowski <i>et al.</i> ,
	Petite taille versus grande taille (séroprévalence 90 % versus 76 %)	2014)
	Taille des cases en post-sevrage > 26 porcs par case (OR = 2,4)	
À la biosécurité	Durée du vide sanitaire en post-sevrage < 4 jours (OR = 1,7)	(Hinjoy <i>et al.</i> , 2013;
	Distance lisier-caillebotis en engraissement < 80 cm (OR = 1,9)	Walachowski <i>et al.</i> , 2014;
	Absence de sas sanitaire (OR = 3,6)	Lopez-Lopez <i>et al.</i> , 2018)
	Absence de période de quarantaine (OR = 2,7)	
	Présence de carnivores domestiques (chiens, chats) (OR = 3,9)	
	Présence de fèces d'oiseaux dans les bâtiments (OR = 2,9)	
Aux mélanges	Mélange d'animaux issus de salles différentes entre la maternité et le post-sevrage (OR = 1,8)	(Walachowski <i>et al.</i> , 2014)
Au type de production	Agriculture biologique versus conventionnel (séroprévalence 89 % versus 72 %)	(Rutjes <i>et al.</i> , 2014;
	Plein air versus conventionnel (séroprévalence 76 % versus 72 %)	Lopez-Lopez <i>et al.</i> , 2018)
	Elevage extensif versus intensif (OR = 2,2)	

La **dynamique de l'infection** par le HEV (âge à l'infection et à l'excrétion, durée de la période infectieuse et quantité de particules virales excrétées, réponse immunitaire humorale, virémie, transmission du virus) ainsi que ses **facteurs de variation** sont détaillés de la revue publiée en 2017. L'article présente également des **pistes pour la surveillance et le contrôle du HEV** dans la filière de production porcine.

Publication 1

Salines M., Andraud M., Rose N, 2017. From the epidemiology of hepatitis E virus (HEV) within the swine reservoir to public health risk mitigation strategies: a comprehensive review. *Veterinary Research*, 48:31.

REVIEW

Open Access



From the epidemiology of hepatitis E virus (HEV) within the swine reservoir to public health risk mitigation strategies: a comprehensive review

Morgane Salines^{1,2*} , Mathieu Andraud^{1,2} and Nicolas Rose^{1,2}

Abstract

Hepatitis E virus (HEV) is the causative agent of hepatitis E in humans, an emerging zoonosis mainly transmitted via food in developed countries and for which domestic pigs are recognised as the main reservoir. It therefore appears important to understand the features and drivers of HEV infection dynamics on pig farms in order to implement HEV surveillance programmes and to assess and manage public health risks. The authors have reviewed the international scientific literature on the epidemiological characteristics of HEV in swine populations. Although prevalence estimates differed greatly from one study to another, all consistently reported high variability between farms, suggesting the existence of multifactorial conditions related to infection and within-farm transmission of the virus. Longitudinal studies and experimental trials have provided estimates of epidemiological parameters governing the transmission process (e.g. age at infection, transmission parameters, shedding period duration or lag time before the onset of an immune response). Farming practices, passive immunity and co-infection with immunosuppressive agents were identified as the main factors influencing HEV infection dynamics, but further investigations are needed to clarify the different HEV infection patterns observed in pig herds as well as HEV transmission between farms. Relevant surveillance programmes and control measures from farm to fork also have to be fostered to reduce the prevalence of contaminated pork products entering the food chain.

Table of Contents

1 Introduction

2 HEV prevalence in farmed pigs

2.1 Farm-scale prevalence

2.1.1 Farm-scale seroprevalence

2.1.2 Farm-scale virological prevalence

2.2 Individual prevalence

2.2.1 Individual seroprevalence

2.2.2 Individual virological prevalence

2.3 Factors influencing HEV prevalence estimates

3 HEV infection characteristics and dynamics on pig farms

3.1 HEV infection features in pigs

3.1.1 Age at HEV infection and shedding

3.1.2 Shedding duration and quantity of virus particles shed

3.1.3 Humoral immune response

3.1.4 HEV viraemia

3.2 Routes of HEV transmission between pigs

3.3 Quantitative data on HEV transmission

4 Consequences of HEV infection dynamics on the prevalence of contaminated livers and pork products

4.1 Prevalence of HEV-containing livers at the slaughterhouse

*Correspondence: morgane.salines@anses.fr

¹ ANSES-Ploufragan-Plouzané Laboratory, BP 53, 22440 Ploufragan, France
Full list of author information is available at the end of the article

4.2 Consequences on the safety of pork products entering the food chain

5 Improving HEV surveillance and control in the swine reservoir: from farm-targeted actions to pork product control

5.1 Options for control measures on pig farms

5.1.1 HEV vaccination on farms

5.1.2 Control of risk factors and co-infecting pathogens

5.1.3 Organisation of the pig production network

5.2 Surveillance throughout the pork chain

5.2.1 Monitoring of pigs on farms or at the slaughterhouse

5.2.2 Surveillance of pig livers and pork products

5.2.3 Applications and research needs

6 Conclusion

1 Introduction

Hepatitis E virus (HEV) is a non-enveloped single-stranded RNA virus. It is transmitted via the faecal-oral route and causes acute hepatitis in humans, clinical signs being similar to hepatitis A infection but usually more severe [1]. Chronic cases have also been described in immunocompromised patients [2]. There are four HEV genotypes: genotypes 1 and 2 are specific to humans and are currently circulating in Asia, Africa and Central America in epidemic waves linked to the consumption of contaminated water [3]. Genotypes 3 and 4 are responsible for sporadic autochthonous human cases in developed countries and are common to humans and other animal species [3, 4]. Genotype 3 in particular is highly prevalent in wild and domestic pigs, but the infection does not lead to a clinical disease [5]. Swine and human HEV strains are genetically very close, and cross-species transmission has been proved [6]. Moreover, a number of sporadic autochthonous cases have been related to the consumption of raw or undercooked pork products, especially liver-based products [7–9]. Thus, hepatitis E is considered to be an emerging zoonosis, domestic pigs being recognised as its main reservoir in industrialised countries [4, 10]. It is crucial to fully understand the conditions related to pig farm infection and HEV transmission dynamics within the swine population in order to limit the risk of introducing contaminated products into the food chain.

Several prevalence studies have been carried out in pig herds, either on a farm or individual scale. Prevalence

estimates derived from either virological or serological analyses have evidenced wide differences depending on the country and year of study. However, the available data are difficult to compare since the pigs' age and production stage vary according to studies, as do the HEV detection methods and biological matrix used for analyses. Moreover, the precision of the different estimates varies greatly between studies owing to huge differences in sample sizes. Even within the same study, the individual and farm-scale prevalences observed are also highly heterogeneous. This wide dispersion suggests the existence of various infection dynamics linked to farm-specific risk factors which have only been sporadically investigated to date. Observational studies mainly report the implication of farming practices in terms of hygiene, biosecurity and rearing conditions. Complementary to this approach, mathematical modelling studies, based either on experimental trials or longitudinal studies on infected farms have helped reveal new insights on HEV infection dynamics.

It is important to explore the epidemiological characteristics of HEV on pig farms for several purposes, e.g. to set up a surveillance programme, or identify control measures to manage the risk of HEV infection and transmission with the ultimate aim of reducing the prevalence of HEV-containing livers at the slaughterhouse. Information available from published papers has therefore been comprehensively gathered to identify key patterns of HEV infection as well as knowledge gaps and research needs. We have specifically focused our study on the epidemiological characteristics of the virus in domestic pigs and their products, since other aspects of this zoonosis have already been reviewed in various papers. The scope of this review thus covers prevalence, risk factors, transmission routes and infection dynamics on pig farms, surveillance and control strategies throughout the pork chain.

2 HEV prevalence in farmed pigs

It is crucial to know the prevalence of HEV on pig farms so as to be able to assess the health situation of the pig population and thus the risk to public health. We counted 86 studies (from 43 different countries) addressing HEV prevalence in farmed pigs. These studies are summarised in Additional file 1 [5, 11–21, 24, 47, 57, 66, 70–73, 79–139]. Various methods were used for data collection: samples were collected from slaughterhouses, randomly-selected or specifically-selected farms, or from serum/faeces/organ banks. Some studies were conducted at a given point in time, leading to an instantaneous prevalence estimate, whereas others were retrospective and estimated the prevalence from sera collected over a given period of time. The number of farms varied from 1 to 2 001; the number of samples from 40 to 6 565. Pigs

included in the studies differed in age and rearing conditions (family-scale or large-scale farms, organic or industrial production, for example). Little information was available on the swine breed or strain. Prevalence was investigated either on a farm or individual level. The virus was sought in several different biological materials, including various organs (e.g. the intestines or liver), serum, faeces, bile and caecal content. Individual or pooled samples were processed using RT-PCR, nested RT-PCR, real-time RT-PCR or antigen detection. The serological response to HEV infection was assessed by detection of anti-HEV antibodies (IgG, IgM or IgA) using ELISA tests with specificity ranging from 85 to 100% and sensitivity from 50 to 100%. The viral strains detected belonged either to genotype 3 or genotype 4.

2.1 Farm-scale prevalence

2.1.1 Farm-scale seroprevalence

Farm-scale seroprevalence reported in 15 studies ranged from 30 to 98% (Additional file 1). For instance, in a study conducted in France in 2011, 65% of the 186 randomly-selected farms were found to have at least one seropositive animal (95% confidence interval 57–74) [5]. The serological prevalence was even higher in a retrospective study conducted in Spain, 204 out of 208 farms (98%, 95% CI 96.1–99.9) having at least one anti-HEV IgG-positive pig [11]. Similarly, in a retrospective study recently carried out in Norway, anti-HEV IgG were detected in 90% (137/153) of the herds [12].

2.1.2 Farm-scale virological prevalence

Farm-scale virological prevalence reported in 25 studies ranged from 10 to 100% (Additional file 1). Widen et al. detected HEV-RNA in swine faeces from 17 out of 22 randomly-selected farms in Sweden (72.7%) [13]. Virological prevalence has also been estimated from HEV-RNA detection in sera: in 72 herds selected in Spain, at least one slaughtered pig tested positive for HEV-RNA in serum on 47.2% of farms [14]. Regarding the presence of HEV RNA in liver, 24% (95% CI 17–31) of 186 randomly-selected pig farms had at least one positive liver in the French national prevalence study conducted by Rose et al. in 2011 [5].

2.2 Individual prevalence

2.2.1 Individual seroprevalence

Individual seroprevalence ranged from 8 to 93% in the 45 studies analysed (Additional file 1). In France, 31% (95% CI 24–38) of the slaughter-aged pigs in 2011 were found HEV seropositive [5]. Similarly, Jinshan et al. detected 52% of sampled pigs positive for anti-HEV antibodies in Mongolia [15]. Crossan et al. separately tested the presence of the different types of anti-HEV antibodies in

Scotland and reported that, of 176 serum samples tested, 29% ($n = 51$) were anti-HEV IgG-positive, 36.9% ($n = 65$) anti-HEV IgA-positive and 29% ($n = 51$) anti-HEV IgM-positive. Overall seroprevalence (anti-HEV IgG+ and/or IgA+ and/or IgM+) was 61.4% ($n = 108$) [16]. In the same region and period, individual HEV seroprevalence was found by Grierson et al. to be even higher; they reported that 584 out of 629 pigs (92.8%) had anti-HEV antibodies at the time of slaughter [17].

2.2.2 Individual virological prevalence

Individual virological prevalence ranged from 1 to 89% in the 69 reported studies (Additional file 1). For instance, the HEV genome was detected in the faeces of 42% of 274 randomly-selected pigs from six different swine farms in northern Italy [18]. HEV RNA was also detected in serum: Crossan et al. reported a virological prevalence of 44.4% in serum (72/162) [16], whereas Grierson et al. detected HEV RNA in only 3% of plasma samples (22/629) in pigs at slaughter age [17]. In the same study, 15% of caecal contents (93/629) were found positive to HEV RNA [17]. Regarding the detection of HEV in liver, Rose et al. reported an individual prevalence of HEV RNA-positive livers of 4% (95% CI 2–6) at slaughter age [5].

Both at farm and individual levels, studies carried out in a given country at different times or retrospectively did not show any significant change in prevalence estimates over time, suggesting that HEV was constantly circulating in pig farms. The marked variability in individual prevalence estimates between farms is noteworthy: from 12.8 to 72.5% in Italy [18], from 4 to 58% in Argentina [19], and from 5 to 90% in France [5]. This may reflect different infection dynamics related to farm-specific risk factors.

2.3 Factors influencing HEV prevalence estimates

To date, few studies have reported the risk factors associated with high HEV prevalence on pig farms. We identified 12 studies addressing HEV risk factors, but only six of them quantified the impact of risk factors on HEV seroprevalence or on the prevalence of shedding pigs through odds ratio estimates (Table 1). The risk factors for a high HEV seroprevalence were mainly related to (1) farm characteristics and (2) farming practices. The farming scale (medium-size and family-scale farms, linked to the number of pigs and sows) was identified as a risk factor related to HEV seroprevalence [15, 18, 20, 21]. It was also shown that HEV seroprevalence was significantly higher in organic farms than in conventional ones [22]. Several high-risk rearing practices were reported, the main ones being late weaning, mingling practices at the nursery stage and poor hygiene [23]. Biosecurity measures such as requiring a shower upon entry were also found to be protective factors with respect to the

Table 1 Quantified risk factors associated with a high HEV seroprevalence in pig farms

Di Bartolo et al. [18]	Number of sows > 1000: HEV seroprevalence = 54.2 vs 18.9%
Li et al. [21]	HEV seroprevalence on family-scale farms = 90 vs 76% in large-scale farms ($p < 0.01$)
Jinshan et al. [15]	Number of pigs > 600: HEV seroprevalence ranged from 78 to 100%, vs 0 to 29%
Hinjoy et al. [20]	Medium-sized farms compared with large farms: OR 4.95 (1.79–13.70)
	Presence of bird faeces inside the pig house: OR 2.87 (1.07–7.71)
Walachowski et al. [23]	Duration of the nursery down period < 4 days: OR 1.7 (1.04–2.9)
	Distance between pit manure and slatted floor in fattening premises < 80 cm: OR 1.9 (1.1–3.5)
	Mingling of pigs from different premises between farrowing and nursery stages: OR 1.8 (1.1–2.9)
	Pen size in nursery rooms > 26 pigs/pen: OR 2.4 (1.2–4.8)
Rutjes et al. [22]	HEV seroprevalence on organic farms = 89 vs 72% on conventional farms ($p = 0.04$)
	HEV seroprevalence on free-range farms = 76 vs 72% on conventional farms ($p = 0.06$)

OR odds ratio.

prevalence of faecal HEV RNA shedding [24]. A seasonal influence on the prevalence of HEV RNA among swine was also reported, with a major peak in March–April followed by a smaller peak in September–October [25].

European wild boars are recognized as a potential reservoir of HEV [26, 27]. Moreover, some experimental studies evidenced that HEV strains could be transmitted from European wild boars (*Sus scrofa*) to domestic pigs [26, 28, 29]. Though no study directly related HEV prevalence in pig farms to contact with wild boars, they may play a potential role in the swine HEV epidemiology in free-ranged pig production units. The role of wild boars as HEV risk exposure for domestic pigs would deserve further investigation.

3 HEV infection characteristics and dynamics on pig farms

3.1 HEV infection features in pigs

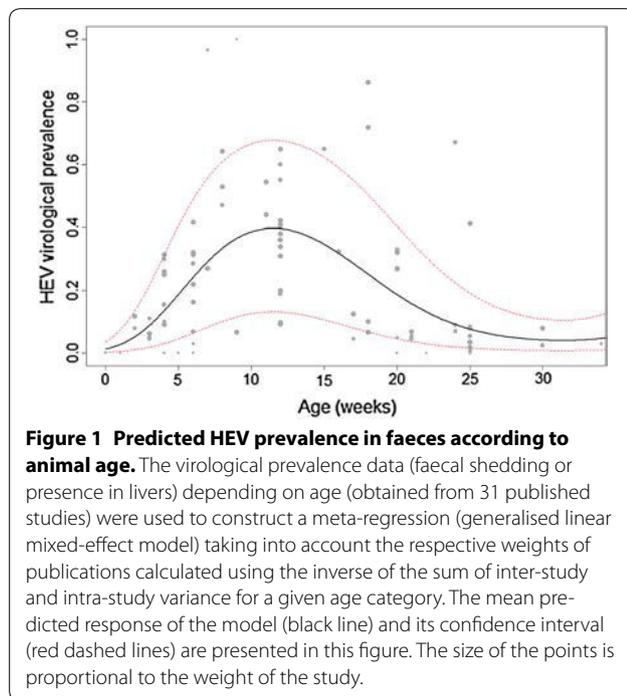
3.1.1 Age at HEV infection and shedding

The age at infection was only sporadically reported in the literature, with only three studies inferring from serological results the window within which infection took place. Almost all the studies conducted on pig farms only reported the age at shedding, and not the age at infection. Based on a large-scale seroprevalence survey conducted in Japan, the average age at infection was estimated to range from 59.0 to 67.3 days with more than 80% of infections occurring between the ages of 30 and 90 days [30]. The results of a longitudinal study on three French farms were quite different, most HEV infections occurring between 105 and 140 days of age [31]. Using Spanish data, Andraud et al. estimated the age at infection between 60.9 and 96.6 days [32]. Based on serological data from longitudinal studies in six pig herds, passive immunity was shown to delay early HEV infection of piglets by about 6 weeks in all but one farm on which the dynamics of infection were similar, whatever the animals' initial serological status. Although the protective role of passive immunity

cannot be denied, the latter case highlighted the strong interaction between farm-specific husbandry and hygiene practices and the HEV transmission process [32].

HEV infection dynamics have in the majority of studies been described through the monitoring of shedding pigs. These studies showed that the prevalence of HEV RNA in swine faeces and serum depend on the production stage, i.e. the pig's age (Additional file 2 [14, 15, 18, 21, 57, 66, 86–89, 91–93, 95, 96, 104, 108, 109, 113, 114, 118–120, 133, 135, 136, 140–150]). A broad shedding period from 1.5 to 5 months of age was globally reported at farm scale. In most cases, the faecal shedding peak was described in 3-month-old to 4-month-old pigs, and few animals had PCR-positive faecal samples after 6 months of age. We performed a meta-regression analysis using data from 31 studies published between 2002 and 2016 which reported the prevalence of faecal HEV shedding or presence of HEV in livers depending on pig age. A weighted generalised linear mixed-effect model with the publication as a random effect, using intra and inter-study variances for a given age category as weight for individual studies, was fitted to age-specific prevalence data. Despite marked variability between studies, the model showed that the probability of faecal shedding peaked around 90 days of age (Figure 1). The shedding prevalence estimate at 185 days (a common slaughter age) was 6.1% [1.2–15.4].

Few studies have explored the factors influencing variations in age at shedding. A longitudinal study conducted on three swine farms showed that HEV shedding in pigs which had been previously infected by Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) occurred later than in pigs that were PRRSV-negative or which had been infected by PRRSV after HEV infection (hazard ratio = 0.49, $p < 0.01$) [33]. Hence, the latency period (delay between infection and shedding) may be affected by different circumstances, modifying the age at shedding. When pigs were infected intravenously, the latency



period measured by Bouwknegt et al. was 3 days, compared to 6.9 days [5.82–7.9] when inoculated orally [34, 35]. According to the results of a co-infection trial, the HEV latency period was extended by a factor of 1.9 in the event of PRRSV co-infection (12.9 days [12.8–14.4]) [36]. In a recent longitudinal study on two Finnish farms identified as HEV-positive, piglets started to shed HEV between 7 and 12 weeks of age. Of these, 62.5% only began shedding HEV between the ages of 10 and 12 weeks [37]. The authors suspected that the difference in age of the onset of infection or shedding may have resulted from the quantity and/or quality of colostrum providing the piglets with maternal antibodies. The quantity of virus particles ingested may also modify the course of infection at the individual level. The minimal *per os* infectious dose is still not well known. However, it has been estimated that oral infection would require about 20 mg of faeces per day containing on average 10^8 genome equivalent (GE) per gram over three consecutive days to achieve a 50% probability of infection [38]. These results were then confirmed by testing different infection doses for inoculation by the oral route: a minimal viral load of 10^6 GE was necessary for pigs to be orally infected and to shed and transmit the virus [35]. Below that level, only sporadic shedding was detected, with no transmission to sentinel piglets.

3.1.2 Shedding duration and quantity of virus particles shed

Shedding duration is not easy to measure on farms as it requires an individual follow-up of pigs. The HEV

shedding period was estimated at around 27 days in two studies carried out on commercial pig farms in Europe [33, 39]. Data from three pig herds evidenced a huge variation in the infection dynamics according to the farms, with some batches exhibiting late and short-term infections, while others had early and long-term shedding periods [31]. When pigs were experimentally infected by the intravenous route, shedding lasted from 13 to 49 days depending on the viral dose inoculated [34], whereas an HEV infection trial described a shedding duration of 9.7 days [8.2–11.2] when pigs were orally infected [35]. This experimental estimate was lower than shedding durations observed on farms, suggesting the existence of factors influencing duration of the shedding period. One of them may be other pathogens co-infecting pigs. For instance, one trial showed that a PRRSV/HEV co-infection dramatically extended the shedding period by a factor of 5 to 48.6 vs 9.7 days [36].

Few data are available on the quantity of virus particles shed by infected animals. In field conditions, one study carried out in two pig herds in Japan reported an HEV load in faeces of between $10^{3.8}$ and 10^6 GE/g throughout the pigs' life [40]. Similarly, the quantity of HEV particles shed was evaluated between 10^4 and 10^6 GE/g of faeces in an experimental trial involving 18 pigs that had been orally infected [35]. When pigs were co-infected with PRRSV, the viral load shed increased to between 10^5 and 10^8 GE/g of faeces, and the accumulation of HEV in the environment was significantly higher too [36].

3.1.3 Humoral immune response

Fourteen studies investigated the humoral response of pigs following HEV infection (Additional file 2). In a longitudinal study carried out on six Spanish farms [41], IgM antibodies were first detected at 7 weeks of age in five farms and at 13 weeks of age in only one farm, whereas IgG antibodies were firstly observed at 13 weeks of age in four farms and at 18 weeks of age in the two other farms. At slaughter age (26 weeks), IgG antibodies were detected in 50 to 100% of pigs on five out of the six farms. In the study conducted by de Deus et al. [42], IgG antibodies were detected later (around 15 weeks), whereas IgA and IgM appeared at around 12 weeks. Similarly to the previous study, IgG antibodies were detected up to the slaughter age (22 weeks), whereas IgA and IgM only remained for 4–7 weeks.

Thanks to field data collected in Japan, Satou and Nishiura estimated the time required for seroconversion at 25 days (95% CI 20.9, 31.3) [30]. Similarly, the time to HEV seroconversion was estimated at 26.3 days in an experimental study and it was shown that co-infection with PRRSV delayed the time to seroconversion to 43.1 days, increasing the lag to seroconversion by a factor

of 1.6 [36]. The presence of maternal antibodies was also found to delay seroconversion in piglets [40, 43]. The time taken for maternally-derived antibodies to wane depends on the quantity of the initial intake of colostral antibodies [41], which is itself related to the sow's age [44] and HEV immune status. Passively acquired IgG remained detectable up to 9 weeks of age in piglets born to highly HEV-seropositive sows, compared to 1–3 weeks in piglets born to sows with weak anti-HEV immunity [42].

3.1.4 HEV viraemia

The natural course of infection in pigs involves infection at around 8–12 weeks of age coinciding with declining maternal antibodies, with a generally short viraemia lasting from 1–2 weeks followed by a more prolonged period of viral shedding in the faeces (Additional file 2). However, longer viraemia periods have also been reported, especially in the case of late HEV infections in pigs, possibly lasting up to slaughter age (Additional file 2). In an experimental infection study, Sanford et al. observed more prolonged periods of viraemia in some pigs, and one pig was continuously viraemic for 12 weeks post-infection [45]. A study in Scotland showed that 44.4% of pigs tested were viraemic at slaughter age [16], whereas another study conducted in the UK only reported 3% of viraemic pigs at slaughter age [17]. Maternally-derived antibodies were found to delay the onset of viraemia [40]. Furthermore, the amount of HEV RNA in the serum was found to be lower than that in the faeces, the highest serum HEV RNA titre being on day 90 in a pig from a litter with passive immunity ($10^{4.2}$ copies/mL) and on day 60 in a pig from a litter without passive immunity ($10^{5.6}$ copies/mL).

3.2 Routes of HEV transmission between pigs

It has been proved that the virus is mainly shed by the faecal route, leading to an accumulation of HEV in the pigs' environment at all production stages on infected farms, as well as in manure pits [46]. Depending on the type of floor (litter or slatted floor), the animals are constantly in contact (more or less direct) with the environmental HEV reservoir. The virus has also been detected in the urine of HEV-infected pigs [38, 47, 48], making urine a potential transmission route, especially given the considerable volume produced per day and the potentially longer viral shedding in this medium [48]. Given the urinary and faecal shedding routes, drinking water and/or feed may also be indirect vectors of HEV transmission, especially if feeding and drinking equipment can be easily contaminated by faeces and urine [46]. Finally, daily repeated contacts between pigs kept in the same pen and housed in a confined environment, as well as the mingling of pigs at different production stages may increase

the propagation of HEV on farms [23, 42, 49, 50]. These findings confirm that the faecal-oral route is the major transmission route of HEV in pigs [48, 49], even if several trials have highlighted the difficulty in inoculating pigs per os [51, 52]. Indirect transmission from one pen to another (without any pig mingling) was found to be low [35].

Three-month old and older pigs were recognised as the major shedding sources in farm conditions (Figure 1). Fernandez-Barredo et al. showed that weaning and early fattening stages were critical periods for HEV shedding with respectively 45 and 60% of shedding animals [46]. Breeding animals also play an important role in the spread and persistence of HEV within pig production units in two ways: (1) by providing maternally-derived antibodies that protect their piglets from early-life infection, (2) by possibly transmitting the virus via farrowing crates during lactation periods. Indeed, investigations into faecal shedding in sows around the farrowing period revealed prevalences ranging from 16 to 21% [41, 42, 46]. A high proportion of multiparous sows were found to shed the virus, as well as gilts and young sows but to a lesser extent [18]. A study recently carried out in China showed that farrowing sows had an approximately 2.5-fold higher risk of infection (OR 2.46, $p < 0.01$) than pre-farrowing sows [53]. Another study on Göttingen Minipigs in the context of xenotransplantation safety detected HEV in the sera of three sows 6 days after delivery and in their offspring [54]. Finally, in a longitudinal study on three pig farms, piglets from two farms shed the virus as early as the lactation phase in farrowing facilities [31]. Thus, horizontal transmission between sows and their piglets may occur in the early stage of a piglet's life. Moreover, sows may transmit the virus to the foetus by the transplacental route should viraemia occur during gestation, viral RNA having been detected in the livers of aborted foetuses [55]. However, these results are still controversial, since one experimental study did not show any vertical transmission after intravenous inoculation of HEV to pregnant gilts [56]. Nevertheless, it cannot be excluded that breeding animals may constitute an HEV reservoir on infected farms, periodically shedding the virus according to changes in their immune status due to physiological conditions (pregnancy, farrowing). Sows may thus maintain viral propagation in swine herds.

3.3 Quantitative data on HEV transmission

The persistence of a virus on farms is linked to (1) the intrinsic ability of the virus to remain in the animals' environment, (2) the possibility of regular reintroductions of the virus onto farms and (3) the ability of the virus to survive and spread in the population. This last criterion can be studied through the basic reproduction

number (R0) of the virus, which measures the number of secondary infections due to one infectious pig during its entire shedding period in a fully susceptible population. The higher the basic reproduction number, the easier it is for the virus to spread and the greater its ability to stay within the population. Using a large-scale seroprevalence survey dataset from Japanese pig farms, Satou and Nishiura estimated the HEV R0 between 4.02 and 5.17, meaning that one infectious animal could theoretically infect four to five other pigs during its infectious period [30]. Based on an experimental trial carried out in the Netherlands, this ratio was estimated at 8.8 [34]. However, this assessment relied on one-to-one HEV transmission experiments, accounting for horizontal transmission by direct contact only. The trial by Andraud et al. investigated the transmission of HEV from pigs inoculated by the oral route to pigs in direct contact (in the same pen) or indirect contact (in an adjacent pen) with the inoculated pigs, assuming both environmental and direct transmission routes [35]. Although much lower than previous estimates with a partial reproduction number of 1.41 [0.21–3.02], direct transmission alone could be considered as a factor fostering the infection's persistence within a population. The quantity of virus present in the environment was found to play a pivotal role in the transmission process, strongly influencing the probability of infection, with a within-pen transmission rate estimated at $2.10 \cdot 10^{-6}$ g/GE/day [$1.10 \cdot 10^{-7}$ – $7.10 \cdot 10^{-6}$]. Between-pen environmental transmission occurred to a lesser extent (transmission rate: $7.10 \cdot 10^{-8}$ g/GE/day [$5.10 \cdot 10^{-9}$ – $3.10 \cdot 10^{-7}$]) but could further generate a within-group infection process. The combination of these transmission routes could explain the persistence and high prevalence of HEV in pig populations. Moreover, the transmission of HEV was found even enhanced in the presence of co-infections. Indeed, based on a similar experimental design with pigs co-infected with PRRSV, the transmission of HEV by direct contact was estimated to be 4.7 times higher in pigs co-infected with PRRSV (direct transmission rate = 0.70 [$1.18 \cdot 10^{-3}$ –3.67]). Direct transmission therefore plays a more important role in HEV transmission when animals were co-infected and reflecting the increased quantity of virus particles shed [36]. The indirect transmission rate, considered to be the average number of animals that could be infected by a single genome equivalent present in the pen environment, was estimated at $6.59 \cdot 10^{-6}$ g/GE/day [$1.43 \cdot 10^{-10}$ – $1.27 \cdot 10^{-4}$], i.e. 3.3 times higher with co-infection than without. In other words, 3.3 times fewer virus particles were required to infect a co-infected animal than an HEV-only infected animal. The impact of maternally-derived antibodies on HEV transmission was also assessed by modelling field-based longitudinal data on HEV dynamics of infection [32]. In this study, HEV

transmission among piglets with passive immunity was estimated to be 13 times lower than in fully susceptible animals, with a relatively marked variability between herds (range: 5–21).

4 Consequences of HEV infection dynamics on the prevalence of contaminated livers and pork products

4.1 Prevalence of HEV-containing livers at the slaughterhouse

In the ten studies investigating the prevalence of HEV-containing livers in pigs of slaughter age (Table 2), all but one reported prevalences ranging between 0.8 and 10% of liver samples, but the prevalence reported in Italy was over 20% [57]. Two conditions are required for a high prevalence of HEV-containing livers at slaughter age: (1) the virus has to spread massively on farms; (2) the later the infection occurred, the higher the risk that pigs are still infectious at slaughter. One study on French pig farms reported several risk factors, such as the slaughter age, genetic background, lack of hygiene measures and origin of drinking water [23]. An experimental trial also showed that the co-infection of pigs with HEV and PRRSV increased the likelihood of HEV-containing livers at slaughter time [36]. Satou and Nishiura built a model from field data and using a sensitivity analysis, they showed that a decline in the force of infection would postpone the infectious process to a later age, which would in turn heighten the risk of pork-to-human transmission through the consumption of infected products [30].

4.2 Consequences on the safety of pork products entering the food chain

Nine prevalence studies were conducted on marketed pork products (Table 3). Different kinds of pork products were tested, such as raw livers, sausages, figatelli, pâté, etc. The prevalence of contaminated pork products varied from less than 1% to more than 50% depending on the country and the product. The highest prevalences were observed in products prepared with raw pork liver [7, 58]. No study was led on meat but, given the late viraemia at slaughter age that was observed in several studies (see above), there may be a potential risk to public health linked to the consumption of raw or undercooked pork meat.

The presence of HEV in food products consumed raw or undercooked raises the question of the thermal stability of HEV, which was addressed in three studies. The first one was based on heating faecal suspensions of HEV genotypes 1 and 2 to temperatures between 45 and 70 °C and inoculation in a cell culture permissive to HEV [59]. The second study used pigs inoculated with

Table 2 Prevalence of HEV RNA in livers collected at slaughterhouses reported in ten studies

References	Country	No. of samples	Prevalence of RNA-positive livers (%) [95% CI]
Bouwknegt et al. [51]	Netherlands	62	6.5 [1.8–15.7]
Rose et al. [5]	France	3 715	4 [2–6]
Di Bartolo et al. [57]	Italy	48	20.8
Di Bartolo et al. [68]	Spain	39	3
	Italy	33	6
	Czech Republic	40	5
Berto et al. [67]	UK	40	3
Gardinali et al. [70]	Brazil	118	1.7
de Souza et al. [71]	Brazil	453	1.3
Temmam et al. [72]	Madagascar	250	1.2
de Paula et al. [73]	Cameroon	345	0.8
Mykytczuk et al. [74]	Canada	19	10.5

Table 3 Prevalence of HEV-positive marketed pork products reported in nine studies

References	Country	No. of samples	Prevalence of RNA-positive pork products (%)
Yazaki et al. [75]	Japan	363	1.9% of livers sold in local grocery stores
Feagins et al. [76]	USA	127	11% of livers sold in local grocery stores
Colson et al. [7]	France	12	58% of marketed figatelli
Wenzel et al. [77]	Germany	200	4% of livers sold in butcher's shops and grocery stores
Berto et al. [67]	UK	63	10% of marketed sausages
Di Bartolo et al. [68]	Spain	93	6% of marketed sausages
	Czech Republic	92	0% of sausages
	Italy	128	0% of sausages
Pavio et al. [58]	France	394	30% of figatelli, 29% of liver sausages, 25% of quenelles, 3% of dried salted livers
Heldt et al. [78]	Brazil	50	36% of marketed pâté and blood sausages
Mykytczuk et al. [74]	Canada	111	47% of pork pâté, 0% of raw pork sausages

pork liver homogenates containing infectious genotype 3 HEV heated to 56 °C for 1 h, fried for 5 min (71 °C internal temperature) or boiled for 5 min [60]. Both studies showed that HEV was more likely to resist when heated to only 56 °C and was inactivated at temperatures higher than 71 °C. The third study was conducted on more complex foodstuffs prepared according to industrial recipes (liver pâté) and showed that it was necessary to heat the food to an internal temperature of 71 °C for 20 min to fully inactivate HEV [61]. To date, no information is available about the efficacy of drying on HEV persistence.

5 Improving HEV surveillance and control in the swine reservoir: from farm-targeted actions to pork product control

5.1 Options for control measures on pig farms

5.1.1 HEV vaccination on farms

No commercial vaccine is currently available against HEV in pigs. Some theoretical work has been carried out

to evaluate the benefits of vaccination against this zoonosis, which does not have any consequences on pig health or the economic performance of swine herds. Using a modelling approach, Backer et al. tested three effects of vaccination: a decrease in the virus transmission rate, in animal susceptibility to HEV infection, and in the duration of the infectious period [39]. As previously shown by Satou and Nishiura [30], a reduced transmission rate and susceptibility, which induces a decrease in the force of infection, led to an increase in the number of infectious animals at the slaughterhouse. When the vaccine affected the duration of the infectious period, the proportion of pigs still infectious at slaughter age was lower. Further work would be needed to evaluate the required efficacy for a vaccine to eradicate the infection and to develop the corresponding efficient vaccine, without forgetting considerations on interference with passive immunity, co-infecting pathogens and rearing practices. A cost-benefit analysis of vaccine development would also be necessary,

including public health consequences in the event of widespread consumer exposure to contaminated pork products, and the economic consequences linked to a potential loss of consumer confidence in pork safety.

5.1.2 Control of risk factors and co-infecting pathogens

As previously mentioned, a lack of hygiene measures and several farming practices (such as late weaning or mingling practices at the nursery stage) were reported as risky for HEV transmission and persistence. Biosecurity and farming practices should therefore be enhanced to reduce HEV risks [23].

As reported previously, co-infections with immunosuppressive swine viruses — frequently observed in pig herds — could lead to chronic HEV infection, which may dramatically increase the risk of pig livers containing HEV at slaughter time. For instance, a PRRSV/HEV co-infection or a PRRSV infection prior to HEV infection delayed HEV shedding and the onset of the anti-HEV humoral immune response, increased the quantity of virus particles shed and extended the shedding period, increased the direct transmission rate and HEV infection susceptibility, and increased the proportion of HEV-positive livers at slaughter time [33, 36]. Thus, controlling intercurrent swine diseases (e.g. through PRRSV vaccination programmes) could be a major lever in the control of hepatitis E. Further research is needed in this domain to better understand the interactions between HEV and immunosuppressive pathogens, including an evaluation of the effect of other immunosuppressive co-infections frequently encountered in the field as well as non-biotic components such as mycotoxins which are likely to interfere with the immune response.

5.1.3 Organisation of the pig production network

To prevent the spread of infectious agents, it is necessary to consider the pyramidal structure of the pig production sector and the way contacts between pig farms are organised [62]. Few data are available yet. A recent study reported the presence of HEV inside and outside farm buildings, on trucks and in the slaughterhouse yard, thus suggesting viral transmission between farms and throughout the production network [63]. However, further research is needed to (1) model the pig production network; (2) explain, assess and quantify the risk of HEV transmission between pig farms through animal introductions (replacement) or indirect vectors.

5.2 Surveillance throughout the pork chain

To our knowledge, no uninterrupted surveillance programme of the swine reservoir has ever been implemented in any country. Surveillance actions could be implemented at different steps: on pigs at the farming

stage or at the slaughterhouse, or on pig livers and pork products.

5.2.1 Monitoring of pigs on farms or at the slaughterhouse

Pig monitoring could be either serological or virological. (1) Serological monitoring could be a feasible large-scale approach. Data are available on the intrinsic features of the serological tests that could be used [64, 65], but further comparative analysis is still needed. Indeed, although a single HEV serotype exists, test performance varies depending on the HEV genotype [65]. However, more and more commercial ELISA tests are available and geared to HEV genotype 3, which is the main one circulating on pig farms in Europe and the US (e.g. HEV ELISA 4.0 V, MP Biomedicals). Moreover, some tests only detect IgM whereas others detect all immunoglobulin classes. Regarding the relevance of using serological tests, studies revealed a significant relationship between within-farm seroprevalence and the probability of detecting HEV-positive livers on that farm [5]. Indeed, Rose et al. observed that the probability of viral presence in the liver was significantly higher on farms where seroprevalence at the finishing stage was greater than 25%: OR 6.7 [2.1–21.6]. This result suggests that farms at risk are those in which the virus circulates intensely and spreads to more than 25% of fattening pigs [66]. However, at an individual level, some HEV RNA-positive pigs (detected in the liver) are seronegative because infection occurs late, not long before slaughter. This is why it appears that serological tests on fattening pigs from farrow-to-finish farms should be supplemented by tests on sows in order to clearly determine the HEV status of the farm. (2) The virus could also be detected in faeces as it appears that the virus' presence in the liver and viral shedding are well correlated [31]. This surveillance action could be performed on farms, e.g. for a pre-slaughter check by sampling several animals. It could also be done at the slaughterhouse, in ante mortem waiting areas.

5.2.2 Surveillance of pig livers and pork products

Many human cases in industrialised countries are related to the consumption of so-called “high-risk” products, i.e. pork products consumed raw or not well cooked and containing a high proportion of pork liver. Surveillance could therefore target those specific products (liver sausages, liver pâté, figatelli, etc.). To date, few detection tests have been developed [61, 67, 68] and only one method for HEV detection in food has been marketed (HepatitisE@CeeramTools™, quantitative RT-PCR Kits for food & environmental samples). The viral concentration in food is often low. Moreover, these complex matrices are composed of liver, fat, salt and spices that make detection difficult. The analysis of meat matrices

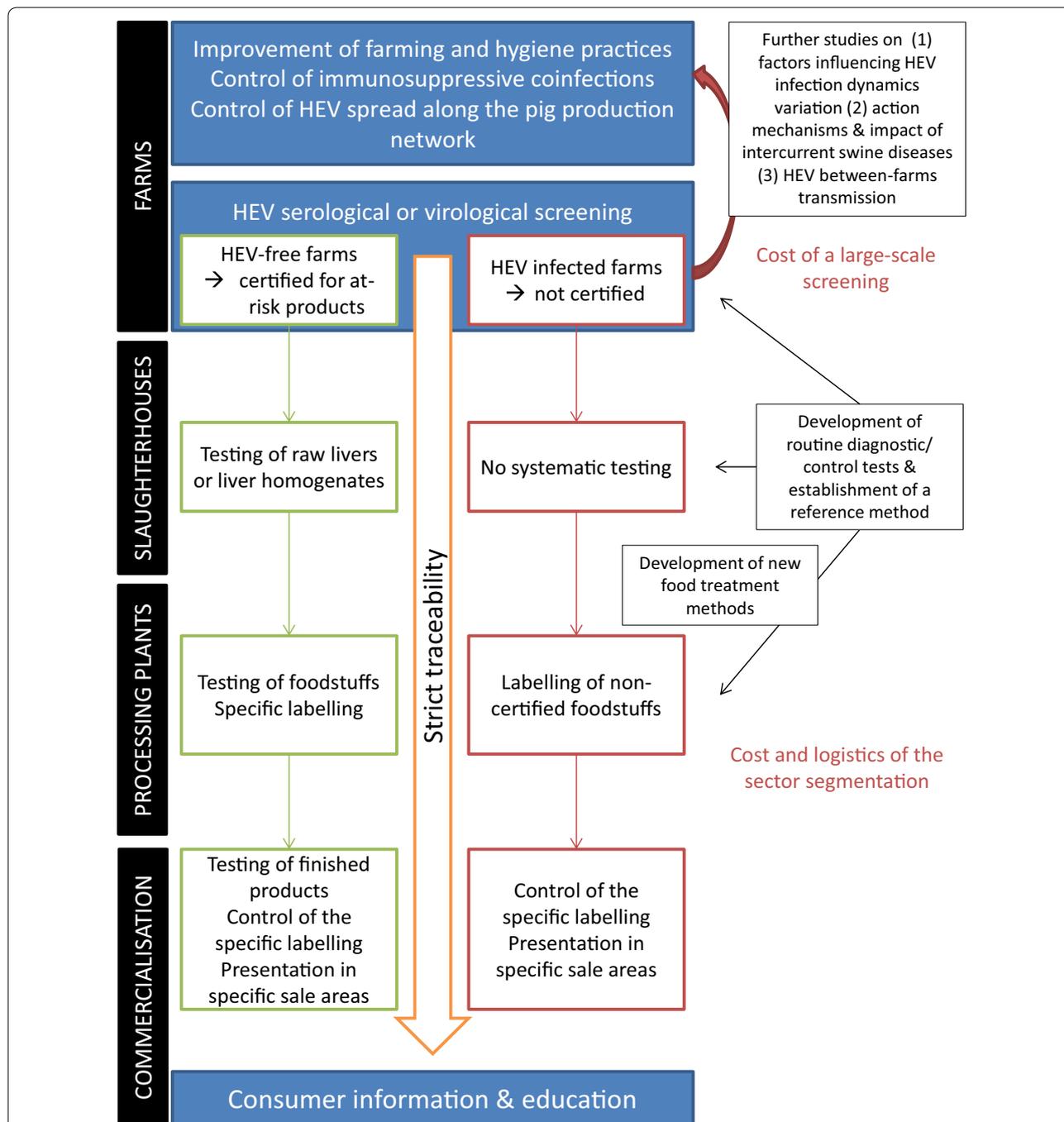


Figure 2 HEV surveillance and control of the swine reservoir: from farm-targeted actions to pork product control (adapted from [69]).

The left side of the diagram presents a number of measures to mitigate the risk of human exposure to swine HEV, with actions applying to both farms and foodstuffs. A certification process (green and red squares) could be implemented throughout the food chain to guarantee the absence of HEV in products derived from raw pork liver. The right side lists several knowledge gaps and research needs (black squares) in addition to the challenges involved in implementing these measures (in red).

requires a rotary mill that is not frequently employed in non-specialised laboratories. Fat removal is essential, but tedious and mostly manual. Analysing food products is more complex than analysing livers, so livers could be

tested after mixing and before adding other ingredients. As the transformation steps do not affect HEV stability (see above), the contamination of livers may be a relevant indicator of the risk of human exposure to HEV.

5.2.3 Applications and research needs

HEV monitoring activities in the pork production chain are needed for several purposes: (1) to acquire an uninterrupted series of prevalence data and monitor changes in prevalence and the virus itself (e.g. evolution of the prevalence of the different HEV subtypes and emergence of genotype 4, which is still only sporadically detected in Europe and the US); (2) to investigate more precisely HEV infection dynamics and factors influencing their variation; (3) to prevent contaminated livers from entering the food chain. For that purpose, the qualification of farms and/or animals and/or livers with regard to their HEV status could be considered. A French expert appraisal suggested three options that could be jointly implemented in order to prevent HEV-positive liver being used for the preparation of products containing raw liver [69]:

1. *Qualification of HEV-free farms* The farm could be qualified following serological testing on sampled animals (see above). This would enable the identification of farms eligible to market raw livers. However, this approach would be costly and would require constant testing, since the HEV status is unlikely to remain stable over time. Moreover, the logistics in slaughterhouses would then be complex, requiring an additional means of keeping HEV-free animals completely separate from HEV-positive ones.
2. *Real-time qualification of HEV-free batches at the slaughterhouse* Faecal samples could be taken from a determined number of pigs per batch, either in the ante mortem waiting area or the post mortem chain. The batches would be released after test results on a just-on-time basis. The HEV status of batches would be precisely known and only HEV-free batches would be used for the preparation of products containing raw liver. However, the logistics for the slaughterhouse would be both complicated and costly.
3. *Qualification of liver homogenates* RT-PCR could be performed on livers or liver homogenates to determine their HEV status. This approach would be less expensive yet would still enable an immediate risk management procedure to be followed depending on the result of the analysis. However, in the light of the HEV prevalence in livers, there would be a risk of detecting and rejecting many liver mixes.

These three options could lead to the creation of a separate sector dedicated to the fabrication of foodstuffs containing raw liver. Such a certification procedure requires regular food control capabilities relying on effective analytical tools for routine use, particularly on farms, at

processing facilities and points of sale. The effectiveness of the certification system also relies on the traceability of pork livers, and requires a reference on the product label for all items containing pork liver. The label should provide consumers with information on the possible hazards related to consumption of these products. The coexistence of these two sectors may pose problems both in terms of logistics for the slaughterhouses and processing plants, and a risk of confusion for the consumer between products with different food safety statuses.

Whatever the qualification method, further studies are needed to compare the current tests, develop a reference method and establish a sampling plan geared to the sector's situation. It is also necessary to investigate more precisely the risk linked to pork meat in order to assess the need for a meat surveillance and control plan. Figure 2 summarises the options for control measures throughout the food chain, and identifies knowledge gaps and challenges.

6 Conclusion

The epidemiology of HEV in the swine reservoir is far from being fully elucidated. Though many prevalence studies have been carried out in numerous countries in the last decade, there remain knowledge gaps that still have to be addressed. Research needs to focus on the factors that could explain the huge between-herd variation in infection dynamics, HEV transmission between farms and throughout the pig production network, and finally the mechanisms of action and impact of inter-current swine diseases. Further work also needs to be carried out to harmonise diagnostic tests and develop a standard reference method to detect HEV in complex foodstuffs. Surveillance plans and control programmes have to be carefully considered to mitigate the risk of human exposure to HEV through the consumption of pork products.

Additional files

Additional file 1. HEV serological and virological prevalence in the pig population at farm and individual levels. Farm-scale prevalence figures were reported in 34 studies. Farm-scale seroprevalence ranged from 30 to 98%, while farm-scale virological prevalence ranged from 10 to 100%. Individual prevalence figures were reported in 82 studies. Individual seroprevalence ranged from 8 to 93%, whereas individual virological prevalence ranged from 1 to 89%.

Additional file 2. Evolution of HEV RNA prevalence and anti-HEV antibody prevalence according to pig age. Thirty-seven studies explored the variation of HEV virological and serological prevalence with the pig age. m: months; w: weeks; d: days.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

MS reviewed literature and drafted the manuscript. MA and NR supervised the project. All co-authors revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors are grateful to the French Ministry for Agriculture, Food and Forestry and to INAPORC for their financial support.

Author details

¹ ANSES-Ploufragan-Plouzané Laboratory, BP 53, 22440 Ploufragan, France.

² Université Bretagne Loire, Rennes, France.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Received: 6 March 2017 Accepted: 19 April 2017

Published online: 25 May 2017

References

- Emerson SU, Purcell RH (2003) Hepatitis E virus. *Rev Med Virol* 13:145–154
- Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, Garrigue V, Pischke S, Chauvet C, Dumortier J, Cannesson A, Cassuto-Viguier E, Thervet E, Conti F, Lebray P, Dalton HR, Santella R, Kanaan N, Essig M, Mousson C, Radenne S, Roque-Afonso AM, Izopet J, Rostaing L (2011) Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology* 140:1481–1489
- Purcell RH, Emerson SU (2008) Hepatitis E: an emerging awareness of an old disease. *J Hepatol* 48:494–503
- Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M (2008) Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis* 8:698–709
- Rose N, Lunazzi A, Dorenlor V, Merbah T, Eono F, Eloit M, Madec F, Pavio N (2011) High prevalence of hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 34:419–427
- Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU (1998) Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol* 72:9714–9721
- Colson P, Borentain P, Queyriaux B, Kaba M, Moal V, Gallian P, Heyries L, Raoult D, Gerolami R (2010) Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis* 202:825–834
- Moal V, Gerolami R, Colson P (2012) First human case of co-infection with two different subtypes of hepatitis E virus. *Intervirology* 55:484–487
- Motte A, Roquelaure B, Galambrun C, Bernard F, Zandotti C, Colson P (2012) Hepatitis E in three immunocompromised children in southeastern France. *J Clin Virol* 53:162–166
- Pavio N, Meng XJ, Renou C (2010) Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Vet Res* 41:46
- Casas M, Pujols J, Rosell R, de Deus N, Peralta B, Pina S, Casal J, Martin M (2009) Retrospective serological study on hepatitis E infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain. *Vet Microbiol* 135:248–252
- Lange H, Øverbø J, Borgen K, Dudman S, Hoddevik G, Urdahl AM, Vold L, Sjurseth SK (2017) Hepatitis E in Norway: seroprevalence in humans and swine. *Epidemiol Infect* 145:181–186
- Widen F, Sundqvist L, Matyi-Toth A, Metreveli G, Belak S, Hallgren G, Norder H (2011) Molecular epidemiology of hepatitis E virus in humans, pigs and wild boars in Sweden. *Epidemiol Infect* 139:361–371
- Jiménez de Oya N, de Blas I, Blázquez AB, Martín-Acebes MA, Halaihel N, Gironés O, Saiz JC, Escribano-Romero E (2011) Widespread distribution of hepatitis E virus in Spanish pig herds. *BMC Res Notes* 4:412
- Jinshan Jirintai, Manglai D, Takahashi M, Nagashima S, Okamoto H (2010) Molecular and serological survey of hepatitis E virus infection among domestic pigs in Inner Mongolia, China. *Arch Virol* 155:1217–1226
- Crossan C, Grierson S, Thomson J, Ward A, Nunez-Garcia J, Banks M, Scobie L (2015) Prevalence of hepatitis E virus in slaughter-age pigs in Scotland. *Epidemiol Infect* 143:2237–2240
- Grierson S, Heaney J, Cheney T, Morgan D, Wyllie S, Powell L, Smith D, Ijaz S, Steinbach F, Choudhury B, Tedder RS (2015) Prevalence of hepatitis E virus infection in pigs at the time of slaughter, United Kingdom, 2013. *Emerg Infect Dis* 21:1396–1401
- Di Bartolo I, Martelli F, Inglese N, Pourshaban M, Caprioli A, Ostanello F, Ruggeri FM (2008) Widespread diffusion of genotype 3 hepatitis E virus among farming swine in Northern Italy. *Vet Microbiol* 132:47–55
- Munne MS, Vladimirov S, Otegui L, Castro R, Brajerterman L, Soto S, Guarnera E, Molina V, Monfellano M, Schlauder GG, González JE (2006) Identification of the first strain of swine hepatitis E virus in South America and prevalence of anti-HEV antibodies in swine in Argentina. *J Med Virol* 78:1579–1583
- Hinjoy S, Nelson KE, Gibbons RV, Jarman RG, Chinnawirotpisan P, Fernandez S, Tablerk P, Labrique AB, Patchanee P (2013) A cross-sectional study of hepatitis E virus infection in pigs in different-sized farms in northern Thailand. *Foodborne Pathog Dis* 10:698–704
- Li W, She R, Wei H, Zhao J, Wang Y, Sun Q, Zhang Y, Wang D, Li R (2009) Prevalence of hepatitis E virus in swine under different breeding environment and abattoir in Beijing, China. *Vet Microbiol* 133:75–83
- Rutjes SA, Bouwknegt M, van der Giessen JW, de Roda Husman AM, Reusken CB (2014) Seroprevalence of hepatitis E virus in pigs from different farming systems in The Netherlands. *J Food Prot* 77:640–642
- Walachowski S, Dorenlor V, Lefevre J, Lunazzi A, Eono F, Merbah T, Eveno E, Pavio N, Rose N (2014) Risk factors associated with the presence of hepatitis E virus in livers and seroprevalence in slaughter-age pigs: a retrospective study of 90 swine farms in France. *Epidemiol Infect* 142:1934–1944
- Wilhelm B, Leblanc D, Leger D, Gow S, Deckert A, Pearl DL, Friendship R, Rajić A, Houde A, McEwen S (2016) Farm-level prevalence and risk factors for detection of hepatitis E virus, porcine enteric calicivirus, and rotavirus in Canadian finisher pigs. *Can J Vet Res* 80:95–105
- Lu YH, Qian HZ, Hu AQ, Qin X, Jiang QW, Zheng YJ (2013) Seasonal pattern of hepatitis E virus prevalence in swine in two different geographical areas of China. *Epidemiol Infect* 141:2403–2409
- Jori F, Laval M, Maestrini O, Casabianca F, Charrier F, Pavio N (2016) Assessment of domestic pigs, wild boars and feral hybrid pigs as reservoirs of hepatitis E virus in Corsica, France. *Viruses*. doi:10.3390/v8080236
- Thiry D, Mauroy A, Saegerman C, Licoppe A, Fett T, Thomas I, Brochier B, Thiry E, Linden A (2015) Belgian wildlife as potential zoonotic reservoir of hepatitis E virus. *Transbound Emerg Dis*. doi:10.1111/tbed.12435
- Thiry D, Rose N, Mauroy A, Paboeuf F, Dams L, Roels S, Pavio N, Thiry E (2016) Susceptibility of pigs to zoonotic hepatitis E virus genotype 3 isolated from a wild boar. *Transbound Emerg Dis*. doi:10.1111/tbed
- Schlosser J, Vina-Rodriguez A, Fast C, Groschup MH, Eiden M (2015) Chronically infected wild boar can transmit genotype 3 hepatitis E virus to domestic pigs. *Vet Microbiol* 180:15–21
- Satou K, Nishiura H (2007) Transmission dynamics of hepatitis E among swine: potential impact upon human infection. *BMC Vet Res* 3:9
- Rose N, Pavio N (2014) Epidemiology of hepatitis E virus in pigs: the way forward to limit consumer exposure (in french). *Journées Recherche Porcine* 46:159–168
- Andraud M, Casas M, Pavio N, Rose N (2014) Early-life hepatitis E infection in pigs: the importance of maternally-derived antibodies. *PLoS One* 9:e105527
- Rose N, Salines M, Andraud M, Bourry O, Barnaud E, Pavio N (2017) The infection by the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus promotes chronic hepatitis E virus infection in pigs (in french). *Bulletin Epidemiologique Santé Alimentation* (in press). http://bulletinepidemiologique.mag.anses.fr/sites/default/files/M-083_2016-10-19_SRDPE-HepE_Pub-Antpdf
- Bouwknegt M, Frankena K, Rutjes SA, Wellenberg GJ, de Roda Husman AM, van der Poel WH, de Jong MC (2008) Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Vet Res* 39:40
- Andraud M, Dumarest M, Cariolet R, Aylaj B, Barnaud E, Eono F, Pavio N, Rose N (2013) Direct contact and environmental contaminations are responsible for HEV transmission in pigs. *Vet Res* 44:102

36. Salines M, Barnaud E, Andraud M, Eono F, Renson P, Bourry O, Pavio N, Rose N (2015) Hepatitis E virus chronic infection of swine co-infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Res* 46:55
37. Kantala T, Heinonen M, Oristo S, von Bonsdorff CH, Maunula L (2015) Hepatitis E virus in young pigs in Finland and characterization of the isolated partial genomic sequences of genotype 3 HEV. *Foodborne Pathog Dis* 12:253–260
38. Bouwknegt M, Teunis PF, Frankena K, de Jong MC, de Roda Husman AM (2011) Estimation of the likelihood of fecal-oral HEV transmission among pigs. *Risk Anal* 31:940–950
39. Backer JA, Berto A, McCreary C, Martelli F, van der Poel WH (2012) Transmission dynamics of hepatitis E virus in pigs: estimation from field data and effect of vaccination. *Epidemics* 4:86–92
40. Kanai Y, Tsujikawa M, Yunoki M, Nishiyama S, Ikuta K, Hagiwara K (2010) Long-term shedding of hepatitis E virus in the feces of pigs infected naturally, born to sows with and without maternal antibodies. *J Med Virol* 82:69–76
41. Casas M, Cortés R, Pina S, Peralta B, Allepuz A, Cortey M, Casal J, Martín M (2011) Longitudinal study of hepatitis E virus infection in Spanish farrow-to-finish swine herds. *Vet Microbiol* 148:27–34
42. de Deus N, Casas M, Peralta B, Nofriaras M, Pina S, Martín M, Segales J (2008) Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. *Vet Microbiol* 132:19–28
43. dos Santos DR, Vitral CL, de Paula VS, Marchevsky RS, Lopes JF, Gaspar AM, Saddy TM, Júnior NC, Guimarães Fde R, Júnior JG, Ximenes LL, Souto FJ, Pinto MA (2009) Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. *Vet J* 182:474–480
44. Klobasa F, Butler JE (1987) Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers. *Am J Vet Res* 48:176–182
45. Sanford BJ, Dryman BA, Huang YW, Feagins AR, LeRoith T, Meng XJ (2011) Prior infection of pigs with a genotype 3 swine hepatitis E virus (HEV) protects against subsequent challenges with homologous and heterologous genotypes 3 and 4 human HEV. *Virus Res* 159:17–22
46. Fernández-Barredo S, Galiana C, García A, Vega S, Gómez MT, Pérez-Gracia MT (2006) Detection of hepatitis E virus shedding in feces of pigs at different stages of production using reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 18:462–465
47. Banks M, Heath GS, Grierson SS, King DP, Gresham A, Girones R, Widen F, Harrison TJ (2004) Evidence for the presence of hepatitis E virus in pigs in the United Kingdom. *Vet Rec* 154:223–227
48. Bouwknegt M, Rutjes SA, Reusken CB, Stockhofe-Zurwieden N, Frankena K, de Jong MC, de Roda Husman AM, Poel WH (2009) The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation. *BMC Vet Res* 5:7
49. Kasorndorkbua C, Guenette DK, Huang FF, Thomas PJ, Meng XJ, Halbur PG (2004) Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *J Clin Microbiol* 42:5047–5052
50. Bouwknegt M, Engel B, Herremans MM, Widdowson MA, Worm HC, Koopmans MP, Frankena K, de Roda Husman AM, De Jong MC, Van Der Poel WH (2008) Bayesian estimation of hepatitis E virus seroprevalence for populations with different exposure levels to swine in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 136:567–576
51. Bouwknegt M, Lodder-Verschoor F, van der Poel WH, Rutjes SA, de Roda Husman AM (2007) Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *J Food Prot* 70:2889–2895
52. Casas M, Pina S, de Deus N, Peralta B, Martín M, Segalés J (2009) Pigs orally inoculated with swine hepatitis E virus are able to infect contact sentinels. *Vet Microbiol* 138:78–84
53. Liang H, Su S, Deng S, Gu H, Ji F, Wang L, Liang C, Wang H, Zhang G (2014) The prevalence of hepatitis E virus infections among swine, swine farmers and the general population in Guangdong province, China. *PLoS One* 9:e88106
54. Morozov VA, Morozov AV, Rotem A, Barkai U, Bornstein S, Denner J (2015) Extended microbiological characterization of Göttingen minipigs in the context of xenotransplantation: detection and vertical transmission of hepatitis E virus. *PLoS One* 10:e0139893
55. Hosmillo M, Jeong YJ, Kim HJ, Park JG, Nayak MK, Alfajaro MM, Collantes TM, Park SJ, Ikuta K, Yunoki M, Kang MI, Park SI, Cho KO (2010) Molecular detection of genotype 3 porcine hepatitis E virus in aborted fetuses and their sows. *Arch Virol* 155:1157–1161
56. Kasorndorkbua C, Thacker BJ, Halbur PG, Guenette DK, Buitenwerf RM, Royer RL, Meng XJ (2003) Experimental infection of pregnant gilts with swine hepatitis E virus. *Can J Vet Res* 67:303–306
57. Di Bartolo I, Ponterio E, Castellini L, Ostanello F, Ruggeri FM (2011) Viral and antibody HEV prevalence in swine at slaughterhouse in Italy. *Vet Microbiol* 149:330–338
58. Pavio N, Merbah T, Thébault A (2014) Frequent hepatitis E virus contamination in food containing raw pork liver, France. *Emerg Infect Dis* 20:1925–1927
59. Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH (2005) Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infect Dis* 192:930–933
60. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ (2008) Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol* 123:32–37
61. Barnaud E, Rogée S, Garry P, Rose N, Pavio N (2012) Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Appl Environ Microbiol* 78:5153–5159
62. Dorjee S, Revie CW, Poljak Z, McNab WB, Sanchez J (2013) Network analysis of swine shipments in Ontario, Canada, to support disease spread modelling and risk-based disease management. *Prev Vet Med* 112:118–127
63. Nantel-Fortier N, Letellier A, Lachapelle V, Fravallo P, L'Homme Y, Brassard J (2016) Detection and phylogenetic analysis of the hepatitis E virus in a Canadian swine production network. *Food Environ Virol* 8:296–304
64. Casas M, Pina S, Peralta B, Mateu E, Casal J, Martín M (2011) Comparison of muscle fluid and serum for detection of antibodies against hepatitis E virus in slaughter pigs. *Vet J* 190:179–180
65. Rose N, Boutrouille A, Fablet C, Madec F, Eloit M, Pavio N (2010) The use of Bayesian methods for evaluating the performance of a virus-like particles-based ELISA for serology of hepatitis E virus infection in swine. *J Virol Methods* 163:329–335
66. Gardinali NR, Barry AF, da Silva PF, de Souza C, Alfieri AF, Alfieri AA (2012) Molecular detection and characterization of hepatitis E virus in naturally infected pigs from Brazilian herds. *Res Vet Sci* 93:1515–1519
67. Berto A, Martelli F, Grierson S, Banks M (2012) Hepatitis E virus in pork food chain, United Kingdom, 2009–2010. *Emerg Infect Dis* 18(8):1358–1360
68. Di Bartolo I, Diez-Valcarce M, Vasickova P, Kralik P, Hernandez M, Angeloni G, Ostanello F, Bouwknegt M, Rodríguez-Lázaro D, Pavlik I, Ruggeri FM (2012) Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain, 2010. *Emerg Infect Dis* 18:1282–1289
69. ANSES (2013) Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety concerning the “Request to assess the risks related to contamination of delicatessen meats products derived from raw pork liver with hepatitis E virus (HEV)”. ANSES Opinion, Request No. 2012-SA-0012 <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOR-ISK2012sa0012EN.pdf>
70. Gardinali NR, Barry AF, Otonel RA, Alfieri AF, Alfieri AA (2012) Hepatitis E virus in liver and bile samples from slaughtered pigs of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107:935–939
71. de Souza AJ, Gomes-Gouvêa MS, Soares Mdo C, Pinho JR, Malheiros AP, Carneiro LA, dos Santos DR, Pereira WL (2012) HEV infection in swine from Eastern Brazilian Amazon: evidence of co-infection by different subtypes. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 35:477–485
72. Temmam S, Besnard L, Andriamandimby SF, Foray C, Rasamoelina-Andriamanivo H, Héraud JM, Cardinale E, Dellagi K, Pavio N, Pascalis H, Porphyre V (2013) High prevalence of hepatitis E in humans and pigs and evidence of genotype-3 virus in swine, Madagascar. *Am J Trop Med Hyg* 88:329–338
73. de Paula S, Wiele M, Mbunkah AH, Daniel AM, Kingsley MT, Schmidt-Chanasit J (2013) Hepatitis E virus genotype 3 strains in domestic pigs, Cameroon. *Emerg Infect Dis* 19:666–668

74. Mykytczuk O, Harlow J, Bidawid S, Corneau N, Nasheri N (2017) Prevalence and molecular characterization of the hepatitis E virus in retail pork products marketed in Canada. *Food Environ Virol*. doi:10.1007/s12560-017-9281-9
75. Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H (2003) 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* 84:2351–2357
76. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ (2007) Detection and characterization of infectious hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *J Gen Virol* 88:912–917
77. Wenzel JJ, Preiss J, Schemmerer M, Huber B, Plentz A, Jilg W (2011) Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates. *J Clin Virol* 52:50–54
78. Heldt FH, Staggmeier R, Gularte JS, Demoliner M, Henzel A, Spilki FR (2016) Hepatitis E virus in surface water, sediments, and pork products marketed in Southern Brazil. *Food Environ Virol* 8:200–205
79. Clayson ET, Innis BL, Myint KS, Narupiti S, Vaughn DW, Giri S, Ranabhat P, Shrestha MP (1995) Detection of hepatitis E virus infections among domestic swine in the Kathmandu Valley of Nepal. *Am J Trop Med Hyg* 53:228–232
80. Wu JC, Chen CM, Chiang TY, Sheen JJ, Chen JY, Tsai WH, Huang YH, Lee SD (2000) Clinical and epidemiological implications of swine hepatitis E virus infection. *J Med Virol* 60:166–171
81. Garkavenko O, Obriadina A, Meng J, Anderson DA, Benard HJ, Schroeder BA, Khudyakov YE, Fields HA, Croxson MC (2001) Detection and characterisation of swine hepatitis E virus in New Zealand. *J Med Virol* 65:525–529
82. Arankalle VA, Joshi MV, Kulkarni AM, Gandhe SS, Chobe LP, Rautmare SS, Mishra AC, Paddidri VS (2001) Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in different Indian animal species. *J Viral Hepat* 8:223–227
83. Yoo D, Willson P, Pei Y, Hayes MA, Deckert A, Dewey CE, Friendship RM, Yoon Y, Gottschalk M, Yason C, Giulivi A (2001) Prevalence of hepatitis E virus antibodies in Canadian swine herds and identification of a novel variant of swine hepatitis E virus. *Clin Diagn Lab Immunol* 8:1213–1219
84. Withers MR, Correa MT, Morrow M, Stebbins ME, Seriwatana J, Webster WD, Boak MB, Vaughn DW (2002) Antibody levels to hepatitis E virus in North Carolina swine workers, non-swine workers, swine, and murids. *Am J Trop Med Hyg* 66:384–388
85. Huang FF, Haqshenas G, Guenette DK, Halbur PG, Schommer SK, Pierson FW, Toth TE, Meng XJ (2002) Detection by reverse transcription-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* 40:1326–1332
86. Choi IS, Kwon HJ, Shin NR, Yoo HS (2003) Identification of swine hepatitis E virus (HEV) and prevalence of anti-HEV antibodies in swine and human populations in Korea. *J Clin Microbiol* 41:3602–3608
87. Wibawa ID, Muljono DH, Mulyanto Suryadarma IG, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H (2004) Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among apparently healthy humans and pigs in Bali, Indonesia: identification of a pig infected with a genotype 4 hepatitis E virus. *J Med Virol* 73:38–44
88. Vitral CL, Pinto MA, Lewis-Ximenez LL, Khudyakov YE, dos Santos DR, Gaspar AM (2005) Serological evidence of hepatitis E virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100:117–122
89. Fernández-Barredo S, Galiana C, García A, Gomez-Muñoz MT, Vega S, Rodríguez-Iglesias MA, Pérez-Gracia MT (2007) Prevalence and genetic characterization of hepatitis E virus in paired samples of feces and serum from naturally infected pigs. *Can J Vet Res* 71:236–240
90. Jung K, Kang B, Song DS, Chae C (2007) Prevalence and genotyping of hepatitis E virus in swine population in Korea between 1995 and 2004: a retrospective study. *Vet J* 173:683–687
91. Kim SE, Kim MY, Kim DG, Song YJ, Jeong HJ, Lee SW, Lee JB, Park SY, Song CS, Oh SJ, Yoo HS, Choi IS (2008) Determination of fecal shedding rates and genotypes of swine hepatitis E virus (HEV) in Korea. *J Vet Med Sci* 70:1367–1371
92. Seminati C, Mateu E, Peralta B, de Deus N, Martin M (2008) Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *Vet J* 175:130–132
93. McCreary C, Martelli F, Grierson S, Ostanello F, Nevel A, Banks M (2008) Excretion of hepatitis E virus by pigs of different ages and its presence in slurry stores in the United Kingdom. *Vet Rec* 163:261–265
94. Ning H, Yu S, Zhu Y, Dong S, Yu R, Shen S, Niu Z, Li Z (2008) Genotype 3 hepatitis E has been widespread in pig farms of Shanghai suburbs. *Vet Microbiol* 126:257–263
95. Zhang W, Shen Q, Mou J, Gong G, Yang Z, Cui L, Zhu J, Ju G, Hua X (2008) Hepatitis E virus infection among domestic animals in eastern China. *Zoonoses Public Health* 55:291–298
96. Li X, Zhao C, Harrison TJ, Song A, Fan J, Zhang J, Wang Y (2008) Investigation of hepatitis E virus infection in swine from Hunan province, China. *J Med Virol* 80:1391–1396
97. Ward P, Muller P, Letellier A, Quessy S, Simard C, Trottier YL, Houde A, Brassard J (2008) Molecular characterization of hepatitis E virus detected in swine farms in the province of Quebec. *Can J Vet Res* 72:27–31
98. Yan Y, Zhang W, Shen Q, Cui L, Hua X (2008) Prevalence of four different subgenotypes of genotype 4 hepatitis E virus among swine in the Shanghai area of China. *Acta Vet Scand* 50:12
99. Yu JN, Kim MY, Kim DG, Kim SE, Lee JB, Park SY, Song CS, Shin HC, Seo KH, Choi IS (2008) Prevalence of hepatitis E virus and sapovirus in post-weaning pigs and identification of their genetic diversity. *Arch Virol* 153:739–742
100. Reuter G, Fodor D, Forgách P, Kátai A, Szucs G (2009) Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary. *J Clin Virol* 44:277–281
101. Shao ZJ, Li JH, Zheng YJ, Zhang JX, Ma YH, Ma WT, Jiang QW, Dang RL (2009) Epidemiological screening for hepatitis E virus in bile specimens from livestock in northwest China. *J Clin Microbiol* 47:814–816
102. Masia G, Orru G, Liciardi M, Desogus G, Coppola RC, Murru V, Argiolas M, Orru G (2009) Evidence of hepatitis E virus (HEV) infection in human and pigs in Sardinia, Italy. *J Prev Med Hyg* 50:227–231
103. Sakano C, Morita Y, Shiono M, Yokota Y, Mokudai T, Sato-Motoi Y, Noda A, Nobusawa T, Sakaniwa H, Nagai A, Kabeya H, Maruyama S, Yamamoto S, Sato H, Kimura H (2009) Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) and pigs in Gunma Prefecture, Japan. *J Vet Med Sci* 71:21–25
104. Forgách P, Nowotny N, Erdélyi K, Boncz A, Zentai J, Szucs G, Reuter G, Bakonyi T (2010) Detection of hepatitis E virus in samples of animal origin collected in Hungary. *Vet Microbiol* 143:106–116
105. Di Martino B, Di Profio F, Martella V, Di Felice E, Di Francesco CE, Ceci C, Marsilio F (2010) Detection of hepatitis E virus in slaughtered pigs in Italy. *Arch Virol* 155:103–106
106. Kaba M, Colson P, Musongela JP, Tshilolo L, Davoust B (2010) Detection of hepatitis E virus of genotype 3 in a farm pig in Kinshasa (Democratic Republic of the Congo). *Infect Genet Evol* 10:154–157
107. Geng JB, Fu HW, Wang L, Wang XJ, Guan JM, Chang YB, Li LJ, Zhu YH, Zhuang H, Liu QH, Peng XC (2010) Hepatitis E virus (HEV) genotype and the prevalence of anti-HEV in 8 species of animals in the suburbs of Beijing. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 31:47–50
108. Breum SØ, Hjulsgaard CK, de Deus N, Segales J, Larsen LE (2010) Hepatitis E virus is highly prevalent in the Danish pig population. *Vet Microbiol* 146:144–149
109. Geng Y, Wang C, Zhao C, Yu X, Harrison TJ, Tian K, Wang Y (2010) Serological prevalence of hepatitis E virus in domestic animals and diversity of genotype 4 hepatitis E virus in China. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10:765–770
110. Xia YG, Hu AQ, Lu YH, Liu HY, Zheng YJ (2010) Molecular-epidemiological research on hepatitis E virus among commercial swine herds in Anqing, China. *Fudan Univ J Med Sci* 37:676–679
111. Hakze-van der Honing RW, van Coillie E, Antonis AF, van der Poel WH (2011) First isolation of hepatitis E virus genotype 4 in Europe through swine surveillance in the Netherlands and Belgium. *PLoS One* 6:e22673
112. Dell'Amico MC, Cavallo A, Gonzales JL, Bonelli S, Valda Y, Pieri A, Segund H, Ibanez R, Mantella A, Bartalesi F, Tolari F, Bartoloni A (2011) Hepatitis E virus genotype 3 in humans and swine, Bolivia. *Emerg Infect Dis* 17:1488–1490

113. Kaba M, Davoust B, Cabre O, Colson P (2011) Hepatitis E virus genotype 3f in pigs in New Caledonia. *Aust Vet J* 89:496–499
114. Steyer A, Naglic T, Mocilnik T, Poljsak-Prijatelj M, Poljak M (2011) Hepatitis E virus in domestic pigs and surface waters in Slovenia: prevalence and molecular characterization of a novel genotype 3 lineage. *Infect Genet Evol* 11:1732–1737
115. dos Santos DR, de Paula VS, de Oliveira JM, Marchevsky RS, Pinto MA (2011) Hepatitis E virus in swine and effluent samples from slaughterhouses in Brazil. *Vet Microbiol* 149:236–241
116. Vivek R, Kang G (2011) Hepatitis E virus infections in swine and swine handlers in Vellore, Southern India. *Am J Trop Med Hyg* 84:647–649
117. Conlan JV, Jarman RG, Vongxay K, Chinnawirotpisan P, Melendrez MC, Fenwick S, Thompson RC, Blacksell SD (2011) Hepatitis E virus is prevalent in the pig population of Lao People's Democratic Republic and evidence exists for homogeneity with chinese genotype 4 human isolates. *Infect Genet Evol* 11:1306–1311
118. Shen Q, Ren R, Zhang W, Yang Z, Yang S, Chen Y, Cui L, Hua X (2011) Prevalence of hepatitis E virus and porcine caliciviruses in pig farms of Guizhou province, China. *Hepat Mon* 11:459–463
119. Martinelli N, Luppi A, Cordioli P, Lombardi G, Lavazza A (2011) Prevalence of hepatitis E virus antibodies in pigs in Northern Italy. *Infect Ecol Epidemiol*. doi:10.3402/iee.v1i0.7331
120. Berto A, Mesquita JR, Hakze-van der Honing R, Nascimento MS, van der Poel WH (2012) Detection and characterization of hepatitis E virus in domestic pigs of different ages in Portugal. *Zoonoses Public Health* 59:477–481
121. Wacheck S, Werres C, Mohn U, Dorn S, Soutschek E, Fredriksson-Ahomaa M, Martlbauer E (2012) Detection of IgM and IgG against hepatitis E virus in serum and meat juice samples from pigs at slaughter in Bavaria, Germany. *Foodborne Pathog Dis* 9:655–660
122. Lipej Z, Novosel D, Vojta L, Roic B, Simpraga M, Vojta A (2013) Detection and characterisation of hepatitis E virus in naturally infected swine in Croatia. *Acta Vet Hung* 61:517–528
123. de la Caridad Montalvo Villalba M, Owot JC, Benedito EC, Corredor MB, Flaquet PP, Frometa SS, Wong MS, Rodriguez Lay Lde L (2013) Hepatitis E virus genotype 3 in humans and swine, Cuba. *Infect Genet Evol* 14:335–339
124. Kantala T, Oristo S, Heinonen M, von Bonsdorff CH, Maunula L (2013) A longitudinal study revealing hepatitis E virus infection and transmission at a swine test station. *Res Vet Sci* 95:1255–1261
125. Machnowska P, Ellerbroek L, Johne R (2014) Detection and characterization of potentially zoonotic viruses in faeces of pigs at slaughter in Germany. *Vet Microbiol* 168:60–68
126. Thiry D, Mauroy A, Saegerman C, Thomas I, Wautier M, Miry C, Czaplicki G, Berkvens D, Praet N, van der Poel W, Cariolet R, Brochier B, Thiry E (2014) Estimation of hepatitis E virus (HEV) pig seroprevalence using ELISA and Western blot and comparison between human and pig HEV sequences in Belgium. *Vet Microbiol* 172:407–414
127. da Costa Lana MV, Gardinali NR, da Cruz RA, Lopes LL, Silva GS, Caramori Junior JG, de Oliveira AC, de Almeida Souza M, Colodel EM, Alfieri AA, Pescador CA (2014) Evaluation of hepatitis E virus infection between different production systems of pigs in Brazil. *Trop Anim Health Prod* 46:399–404
128. Aniță A, Gorgan L, Aniță D, Oşlobanu L, Pavio N, Savuța G (2014) Evidence of hepatitis E infection in swine and humans in the East Region of Romania. *Int J Infect Dis* 29:232–237
129. Owolodun OA, Gerber PF, Giménez-Lirola LG, Kwaga JK, Opiessnig T (2014) First report of hepatitis E virus circulation in domestic pigs in Nigeria. *Am J Trop Med Hyg* 91:699–704
130. Wang XJ, Zhao Q, Jiang FL, Liu BY, Zhao JN, Dang L, Sun YN, Mu Y, Xiao SQ, Wang CB, Hsu WH, Liu L, Widén F, Zhou EM (2014) Genetic characterization and serological prevalence of swine hepatitis E virus in Shandong province, China. *Vet Microbiol* 172:415–424
131. Shu X, Duan X, Song C, Li J, Jiang L, Yin G, Li W (2014) Genetic heterogeneity of swine hepatitis E virus isolates from Yunnan province, China in 2011–2012. *Virology* 11:162
132. Burri C, Vial F, Ryser-Degiorgis MP, Schwermer H, Darling K, Reist M, Wu N, Beerli O, Schöning J, Cavassini M, Waldvogel A (2014) Seroprevalence of hepatitis E virus in domestic pigs and wild boars in Switzerland. *Zoonoses Public Health* 61:537–544
133. Monini M, Di Bartolo I, Ianiro G, Angeloni G, Magistrali CF, Ostanello F, Ruggeri FM (2015) Detection and molecular characterization of zoonotic viruses in swine fecal samples in Italian pig herds. *Arch Virol* 160:2547–2556
134. Ivanova A, Tefanova V, Reshetnjak I, Kuznetsova T, Geller J, Lundkvist A, Janson M, Neare K, Velström K, Jokelainen P, Lassen B, Hütt P, Saar T, Viltrop A, Golovljova I (2015) Hepatitis E virus in domestic pigs, wild boars, pig farm workers, and hunters in Estonia. *Food Environ Virol* 7:403–412
135. Costanzo N, Sarno E, Peretti V, Ciambrone L, Casalnuovo F, Santoro A (2015) Serological and molecular investigation of swine hepatitis E virus in pigs raised in Southern Italy. *J Food Prot* 78:2099–2102
136. Liu X, Saito M, Sayama Y, Suzuki E, Malbas FF Jr, Galang HO, Furuse Y, Saito M, Li T, Suzuki A, Oshitani H (2015) Seroprevalence and molecular characteristics of hepatitis E virus in household-raised pig population in the Philippines. *BMC Vet Res* 11:11
137. O'Connor M, Roche SJ, Sammin D (2015) Seroprevalence of hepatitis E virus infection in the Irish pig population. *Ir Vet J* 68:8
138. Caruso C, Peletto S, Rosamilia A, Modesto P, Chiavacci L, Sona B, Balsamelli F, Ghisetti V, Acutis PL, Pezzoni G, Brocchi E, Vitale N, Masoero L (2016) Hepatitis E virus: a cross-sectional serological and virological study in pigs and humans at zoonotic risk within a high-density pig farming area. *Transbound Emerg Dis*. doi:10.1111/tbed.12533
139. Merino-Ramos T, Martín-Acebes MA, Casal J, Saiz JC, Loza-Rubio E (2016) Prevalence of hepatitis E virus (HEV) antibodies in Mexican pigs. *Food Environ Virol* 8:156–159
140. Wu JC, Chen CM, Chiang TY, Tsai WH, Jeng WJ, Sheen IJ, Lin CC, Meng XJ (2002) Spread of hepatitis E virus among different-aged pigs: 2-year survey in Taiwan. *J Med Virol* 66:488–492
141. Cooper K, Huang FF, Batista L, Rayo CD, Bezanilla JC, Toth TE, Meng XJ (2005) Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human populations. *J Clin Microbiol* 43:1684–1688
142. Nakai I, Kato K, Miyazaki A, Yoshii M, Li TC, Takeda N, Tsunemitsu H, Ikeda H (2006) Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis E virus at three Japanese swine farms. *Am J Trop Med Hyg* 75:1171–1177
143. Leblanc D, Ward P, Gagné MJ, Poitras E, Müller P, Trottier YL, Simard C, Houde A (2007) Presence of hepatitis E virus in a naturally infected swine herd from nursery to slaughter. *Int J Food Microbiol* 117:160–166
144. de Deus N, Seminati C, Pina S, Mateu E, Martín M, Segalés J (2007) 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* 119:105–114
145. Zhang W, Yang S, Ren L, Shen Q, Cui L, Fan K, Huang F, Kang Y, Shan T, Wei J, Xiu H, Lou Y, Liu J, Yang Z, Zhu J, Hua X (2009) Hepatitis E virus infection in central China reveals no evidence of cross-species transmission between human and swine in this area. *PLoS One* 4:e8156
146. Kaba M, Davoust B, Marié JL, Barthet M, Henry M, Tamalet C, Raoult D, Colson P (2009) Frequent transmission of hepatitis E virus among piglets in farms in Southern France. *J Med Virol* 81:1750–1759
147. Martelli F, Toma S, Di Bartolo I, Caprioli A, Ruggeri FM, Lelli D, Bonci M, Ostanello F (2010) Detection of hepatitis E Virus (HEV) in Italian pigs displaying different pathological lesions. *Res Vet Sci* 88:492–496
148. Feng R, Zhao C, Li M, Harrison TJ, Qiao Z, Feng Y, Ma Z, Wang Y (2011) Infection dynamics of hepatitis E virus in naturally infected pigs in a Chinese farrow-to-finish farm. *Infect Genet Evol* 11:1727–1731
149. Utsumi T, Hayashi Y, Lusida MI, Amin M, Soetijpto Hendra A, Soetjining-sih Yano Y, Hotta H (2011) Prevalence of hepatitis E virus among swine and humans in two different ethnic communities in Indonesia. *Arch Virol* 156:689–693
150. Thiry D, Mauroy A, Brochier B, Thomas I, Miry C, Czaplicki G, Thiry E (2012) Hepatitis E virus infection in domestic swine in Belgium. XIII congress of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE XIII), Maastricht, Netherlands, 2012

Additional file 1

Reference	Country	Year of study	Sampling methodology (type of farm, selection method, pig age)	Number of samples		Sample type (serum, liver, faeces)	Farm-scale prevalence		Individual prevalence	
				Number of farms	Number of pigs		Seroprevalence	Viral prevalence	Seroprevalence	Viral prevalence
Clayson et al., 1995 [79]	Nepal	-	Free-roaming pigs	-	55	Serum, faeces	-	-	32.7%	6.4%
Wu et al., 2000 [80]	Taiwan	-	Random sample collection from four different areas. Pig age: 191 were 2-5 months old; 44 were 6-7 months old	-	235	Serum	-	-	-	1.3%
Garkavenko et al., 2001 [81]	New Zealand	-	Pig age for serum collection: 24 sows, 23 1-week-old pigs, 25 20-week-old pigs, 66 3-year-old sows from a blood bank. Pig age for faeces collections: 17 7-week-old pigs, 7 12-week-old pigs, 21 10-week-old pigs	Serum collection: one 1 herd + blood blank from 22 herds Faeces collection: 2	183	Serum, faeces	91%	-	-	60.7%
Arankalle et al., 2001 [82]	India	1988 and 1993	Sample collection from archived blood samples	-	234	Serum	-	-	66.2%	-
Yoo et al., 2001 [83]	Canada	-	Sample collection in slaughterhouses. Pig age around 6 months	80	998	Serum	-	-	59.4%	-
Withers et al., 2002 [84]	USA	1999	Commercial and academic swine production sites. Pig age > 2 months old	4	84	Serum	-	-	34.5%	-
Huang et al., 2002 [85]	USA	-	Farms from six U.S. states + from Diagnostic Laboratories. Pig age: 2 to 4 months old	37	96	Serum, faeces	-	54%	-	35%
Choi et al., 2003 [86]	Korea	-	Random selection from the sera that had been submitted to the College of Veterinary Medicine, Seoul National University, for a routine examination of bacterial and viral diseases. Pig age for serological analyses: 1 to 4 months old. For serological analyses: 1 to 7 months old	23	128 serum samples for virological analyses. 264 serum samples for serological analyses	Serum	-	-	14.8%	2.3%
Banks et al., 2004 [47]	U.K.	-	-	2	42 faecal samples, 21 tissue samples, 256 sera	Serum, faeces, tissue	-	-	85.5%	Faeces: 26%; Tissue: 76%
Wibawa et al., 2004 [87]	Indonesia	2003	Eight swine farms on Bali Island	8	99	Serum	-	-	72%	1%
Vital et al., 2005 [88]	Brazil	-	Sample collection in four standard commercial herds. Pig age: from 1 to > 25 weeks old	4	357	Serum	-	-	63.6%	-
Munné et al., 2006 [19]	Argentina	-	Pig age for serological analyses > 6 months old. For virological analyses 1 to 2 months old	5	54 faeces samples for virological analyses. 97 serum samples for serological analyses	Serum, faeces	-	-	22.7%	88.9%
Fernández-Barredo et al., 2007 [89]	Spain	2002-2004	Four different production stages	21	131	Serum, faeces	-	76%	-	Serum: 14%, Faeces: 16%
Jung et al., 2007 [90]	Korea	1995-2004	Sample collection from archived hepatic tissues	-	388	Liver	-	-	-	10.8%
Kim et al., 2008 [91]	Korea	-	12 swine farms located in central and southern Korea	12	565	Faeces	-	-	100%	17.5%
Seminati et al., 2008 [92]	Spain	1998-2000	-	41	439	Serum	97.6% IgG and 82.9% IgM	-	41.9% IgG and 28.8% IgM	-

McCreary et al., 2008 [93]	U.K.	2007	Ten farms in the Yorkshire Humberside. Age groups: just weaned (3 to 5 weeks old), growers (10 to 12 weeks old), finishers (22 to 24 weeks old) and adult dry sows	10	200	Faeces	-	100%	-	21.5%
Ning et al., 2008 [94]	China	-	Sample collection from farms in 10 Shanghai suburban districts	37	426	Faeces	-	-	-	26%
Zhang et al., 2008 [95]	China	2004-2006	-	39	788	Serum	-	-	67%	4.5%
Li et al., 2008 [96]	China	-	-	16	904	Serum	-	-	68.3%	6.3%
Ward et al., 2008 [97]	Canada	2003-2004	Collection of faeces directly from the pen floor. Pig age: 2 to 4 months old	70	-	Faeces	-	34%	-	-
Yan et al., 2008 [98]	China	2007	Sample collection in Shanghai districts. Pig age: 2 to 4 months old	23	480	Faeces	-	26.1%	-	5%
Yu et al., 2008 [99]	Korea	2006-2007	Pig age: 2 to 3 months old	5	53	Faeces	-	60%	-	17%
di Bartolo et al., 2008 [18]	Italy	2006	Random selection of pigs on six farms. Pig age: from 3 to 9 months old, + sows	6	274	Faeces	-	100%	-	42%
Reuter et al., 2009 [100]	Hungary	2005-2006	Pig age between 3 weeks and 40 months	30	154	Faeces, liver, intestine	-	40%	-	27.3%
Shao et al., 2009 [101]	China	2007	Pig age: 4 to 6 months old	-	603	Bile	-	-	-	2%
Masia et al., 2009 [102]	Italy	2006-2007	Random sample collection. Pig age: 8 to 9 months old	6	95	Bile	-	-	-	6.3%
Sakano et al., 2009 [103]	Japan	2004	Sample collection during inspection at slaughterhouse. Pig age around 6 months old	17	169	Serum	-	-	74.6%	1.8%
Li et al., 2009 [21]	China	-	Serum collection in randomly-selected farms. Serum and liver collection in slaughterhouses	12	638 sera, 114 liver samples	Serum, liver	-	-	On farms: 79.4%. In slaughterhouses: 78.4%	-
Casas et al., 2009 [11]	Spain	1985-1997	Random selection in a serum bank	208	2.781	Serum	98%	-	48.4%	-
Forgach et al., 2010 [104]	Hungary	2005-2009	Four age groups	41	248 faecal samples, 45 livers	Faeces, liver	-	39%	-	Faeces: 21% ; Livers: 31%
Di Martino et al., 2010 [105]	Italy	2008-2009	Sample collection at one slaughterhouse. Pig age: 9 to 12 months old	-	150	Faeces	-	-	-	7.3%
Kaba et al., 2010 [106]	Democratic Republic of Congo	-	-	1	40	Faeces	-	-	-	2.5%
Geng et al., 2010 [107]	China	-	Sample collection from two stock farms	2	598 sera, 111 faecal samples	Serum, faeces	-	-	80.4%	66.6%
Breum et al., 2010 [108]	Denmark	2007-2008	Faecal sample collection from pigs in 26 herds (4-22 weeks of age) and from samples submitted to the National Veterinary Institute, Denmark, for routine diagnostic analyses. Sera collection from sows on 71 farms.	Pigs: 26 herds. Sows: 71 herds.	97 faecal samples from pigs + 213 serum samples from sows	Serum, faeces	91.5% (sows)	55% (pigs)	73.2% (sows)	49.5% (pigs)
Jinshan et al., 2010 [15]	China	2009	Pig age: 2 to 4 months old	14	356	Serum	-	-	52%	8%
Geng et al., 2010 [109]	China	2008	Most of the samples were collected from industrialised farms, but some were collected from small groups of animals raised by peasants.	-	1.967	Serum	-	-	82.2%	1.9%
Xia et al., 2010 [110]	China	2009	Sample collection in slaughterhouses	-	100	Bile	-	-	-	5.5%
Hakze-van der Honing et al., 2011 [111]	Netherlands	2008	Sample collection in slaughterhouses. Pig age: 5 to 6 months old	101	101	Faeces	-	-	-	15%
	Belgium			23	115		-	21.7%	-	7%

Dell'Amico et al., 2011 [112]	Bolivia	2006	Survey conducted in two rural communities. Pig age: 2 to 12 months old	-	121 (22 pools)	Faeces	-	-	-	31.8%
Kaba et al., 2011 [113]	New Caledonia	2009	Pig age: 4 to 26 weeks old	1	92	Faeces	-	-	-	6.5%
Steyer et al., 2011 [114]	Slovenia	2004-2005	Collection of individual and pooled samples. Three age groups.	6	85 individual samples + 51 pooled samples	Faeces	-	-	-	20.3%
dos Santos et al., 2011 [115]	Brazil	2008	Sample collection in three slaughterhouses. Pig age > 5 months old	-	115	Bile	-	-	-	9.6%
Vivek et al., 2011 [116]	India	-	Sample collection in slaughterhouses.	-	102	Serum	-	-	-	1.9%
Conlan et al., 2011 [117]	Lao People's Democratic Republic	2009	Study conducted in four provinces, one district per province.	95	181	Faeces	-	43.5%	-	11.6%
Rose et al., 2011 [5]	France	2008-2009	Sample collection in slaughterhouses. Herd sample through random selection of a list of slaughter dates and times	186	6,565 sera, 3,715 liver samples	Serum, liver	65%	24%	31%	4%
Widén et al., 2011 [13]	Sweden	-	Random selection of farms. Pig age: 2 to 4 months old	22	240	Faeces	-	72.7%	-	29.6%
Shen et al., 2011 [118]	China	2009	Random sample collection from medium- to large-scale pig farms.	6	209	Faeces	-	83%	-	6.7%
Martinelli et al., 2011 [119]	Italy	2008	10 farrow-to-finish farms, 17 farrow-to-weaning, 12 fattening. 10% of animals per farm.	39	1,422	Serum	97.4%	-	50.2%	-
di Bartolo et al., 2011 [57]	Italy	2008	Sample collection in a slaughterhouse. Pig age: from 3 to 10 months old	5	48	Serum, faeces, bile, liver	-	-	87%	64.6%
Jiménez de Oya et al., 2011 [14]	Spain	-	-	85	1,141	Serum	81.2%	47.2%	20.4%	18.8%
Berto et al., 2012 [120]	Portugal	2010-2011	Five farms from five different regions. 40 samples per farm, at four different stages of production (10 per stage)	5	200	Faeces	-	100%	-	44%
Wacheck et al., 2012 [121]	Germany	2009-2010	Sample collection in four Bavarian slaughterhouses	41	516 (516 sera, 198 meat juice samples)	Serum, meat juice	-	-	Serum samples: 68.6% IgG and 7% IgM; Meat juice samples: 67.6% IgG	-
Gardinali et al., 2012 [70]	Brazil	2010	Sample collection in one slaughterhouse. Pig age: > 25 weeks old	10	118	Liver, bile	-	-	-	Liver: 1.7%, Bile: 0.84%
de Souza et al., 2012 [71]	Brazil	2010	Sample collection in slaughterhouses. Pig age approximately 6 months old	-	151	Serum, faeces, liver	-	-	8.6% IgG	9.9%
Gardinali et al., 2012 [66]	Brazil	2009	Sample collection from five farrow-to-weaning farms (breeder sows and boars, suckling piglets, and weaned pigs up to 8 weeks of age); and from 9 grower-to-finish farms (9- to 24-week-old pigs)	14	170	Faeces	-	62.5%	-	15.3%
Hinjoy et al., 2013 [20]	Thailand	2009	Random farm selection.	94	879	Serum, faeces	30.9%	-	9.9%	2.9%
Lipej et al., 2013 [122]	Croatia	-	-	-	60	Serum, bile	-	-	91.7%	Serum: 13.3% ; Bile: 8.1%
de la Caridad Montalvo Villalba et al., 2013 [123]	Cuba	2007	Random selection of farms and pigs. Pig age: 1 to 102 weeks old	4	53	Faeces	-	-	-	18.8%
S de Paula et al., 2013 [73]	Cameroon	2012	Sample collection in slaughterhouses. Pig age: 6 months to 3 years	-	345	Liver	-	-	-	0.9%

Kantala et al., 2013 [124]	Finland	2007 and 2010	Study in a swine station (comparable to a fattening station) in 2007 and 2010. Individual follow-up of animals	2007: 11 farms. 2010: 8 farms	2007: 40 individual faecal samples + 37 individual blood samples. 2010: 36 individual faecal samples + 27 individual blood samples	Serum, faeces	-	2007: 64%, 2010: 63%	2007: 86.5%, 2010: 81.5%	2007: 35%, 2010: 39%
Temmam et al., 2013 [72]	Madagascar	2010-2011	Sample collection in slaughterhouses. Pig age > 6 months old	-	250	Serum, liver	-	-	71.2%	1.2%
Machnowska et al., 2014 [125]	Germany	2011	Three slaughterhouses in different regions of Germany	4	120	Faeces	-	-	-	2.5%
Thiry et al., 2014 [126]	Belgium	2010-2011	Sampling from the pig serum banks made by the regional animal health laboratories in Belgium. Farms were selected based on the availability of six sera from fattening pigs weighing less than 80 kg (for an age estimated between 2 and 6 months) and six sera from lactating sows (aged over one year).	70	Virological testing: 420 serum samples of fattening pigs aged less than 6 months. Serological testing: 420 serum samples of lactating sows	Serum	-	-	73%	0.9%
da Costa Lana et al., 2014 [127]	Brazil	-	Five large-scale farms, five family-scale farms. Pig age: 4 months old	10	50	Faeces, liver, gallbladder, intestines, bile	-	-	-	16%
Aniță et al., 2014 [128]	Romania	2009-2010	Pig age: 2 to 4 months old	5	19 pooled faecal samples	Faeces	-	-	-	31.5%
Owolodun et al., 2014 [129]	Nigeria	2009-2012	Serum sample collection at one slaughterhouse + archived serum samples. Pig age: 4 months to 3 years old. Faecal samples from 10 different regions. Pig age: 1 to 6 months old	-	286 sera, 90 faecal samples	Serum, faeces	-	-	55.6% IgG	76.7%
Wang et al., 2014 [130]	China	2011	Serum sample collection in 24 swine herds in nine counties. Bile sample collection at one slaughterhouse, pig age: 6 to 7 months old	24	980 sera, 106 bile samples	Serum, bile	100% IgG, 41.7 IgM	-	66.4% IgG, 1.6% IgM	30.2%
Shu et al., 2014 [131]	China	2011-2012	Faecal sample collection from piglets in markets and 3- to 6-month-old pigs on farms	-	256	Faeces	-	-	-	7.8%
Burri et al., 2014 [132]	Switzerland	2006 and 2011	Random selection from a serum bank. Pig age < 1 year old	2,001	2,001	Serum	-	-	58.1%	-
Liang et al., 2014 [53]	China	2011-2013	Pig age: from nursery to > 7 months old	34	561 sera, 288 bile samples	Serum, bile	-	-	64.7%	From 6.2% to 22.7% depending on the region
Monini et al., 2015 [133]	Italy	2012-2014	Eight swine farms located in northern, central and southern Italy. Pig age: 5 to 220 days old	8	242	Faeces	-	75%	-	18.6%
Ivanova et al., 2015 [134]	Estonia	-	-	-	380	Serum	100%	-	61.6%	22.9%
Kantala et al., 2015 [37]	Finland	2009	Individual samples: pig age = 1 day to 15 weeks. Pooled samples: pig age = 1 to 4 months old	6	273 (individual and pooled samples)	Faeces	-	83.3%	-	87.5%
Crossan et al., 2015 [16]	Scotland	2006	Pig age: slaughter age	23	176	Serum	100%	-	29% IgG, 36.9% IgA, 29% IgM. Overall prevalence: 61.4%	44.4%
Grierson et al., 2015 [17]	U.K.	2013	Sample collection as part of the 2013 Zoonoses in UK Pigs Abattoir Study, a cross-sectional study of pigs being slaughtered at 14 high-throughput slaughterhouses.	439	629	Serum, caecal content	-	-	92.8%	From caecal content: 15%. From serum: 3%. Both: 2%

Costanzo et al., 2015 [135]	Italy	2014	Sample collection from extensive breeding systems	8	216	Serum, faeces	-	-	80%	7.4%
Liu et al., 2015 [136]	Philippines	2010-2011	Household-raised pig population. Pig age: 2 to 24 months old	155	299	Serum, faeces	IgG: 60%. IgM: 33.5%	10.3%	IgG: 50.3%. IgM: 22.9%	7.4%
O'Connor et al., 2015 [137]	Ireland	2010-2011	Random selection from a serum bank.	16	330	Serum	81%	-	27%	-
Whilhelm et al., 2016 [24]	Canada	-	Farms were recruited using the Canadian Integrated Programme for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) and FoodNet Canada on-farm sampling platforms.	88	528 pooled faecal samples	Faeces	-	34.1%	-	-
Caruso et al., 2016 [138]	Italy	-	Random selection of farms. Weaners and sows	42	504	Serum, faeces	97% IgG	31%	50% IgG	10.9%
Merino-Ramos et al., 2016 [139]	Mexico	2010-2013	Sample collection in nine states in the centre of the country. Pig age: 1 to 48 months old	109	683	Serum	-	-	30.7%	-
Lange et al., 2016 [12]	Norway	1994, 2009, 2010, 2013	Serum collection from a serum bank (national surveillance and control programme for specific viral infections in swine) + collection of faecal samples in eight herds representing different parts of Norway	Serum: 153. Faeces: 8	Serum: 663. Faeces: 118	Serum, faeces	90%	37.5%	73%	-

Additional file 2

Country	Number of pigs/samples		Pig age	HEV RNA prevalence (%)		Anti-HEV antibody prevalence (%)		Source
				Faeces	Serum	Bile		
Taiwan	11 sera	20 faeces	< 2 m	0	0	-	-	Wu et al., 2002 [140]
	67	22	2 m	40.9	4.5	-	-	
	255		3-4 m		1.2	-	-	
	112	12	5-6 m	66.6	1.8	-	-	
	76		> 7 m		0	-	-	
Korea	40		1 m	-	-	-	0	Choi et al., 2003 [86]
	50		2 m	-	-	-	6	
	50		3 m	-	-	-	10	
	50		4 m	-	-	-	36	
	40		5-7 m	-	-	-	25	
Indonesia	8		2 m	-	1	-	38	Wibawa et al., 2004 [87]
	28		3 m	-	0	-	46	
	17		4 m	-	0	-	88	
	35		5 m	-	0	-	89	
	11		6 m	-	0	-	82	
Brazil	9		1 w	-	-	-	100	Vital et al., 2005 [88]
	13		2 w	-	-	-	61.5	
	27		3-4 w	-	-	-	22.2	
	21		5-6 w	-	-	-	19.1	
	30		7-8 w	-	-	-	6.7	
	23		9-10 w	-	-	-	13.0	
	33		11-13 w	-	-	-	15.2	
	30		15-16 w	-	-	-	83.3	
	59		17-20 w	-	-	-	98.3	
	37		21-24 w	-	-	-	91.9	
75		>25 w	-	-	-	97.3		
Thailand	26		2-4 m	-	39	-	-	Cooper et al., 2005 [141]
	50		other	-	0	-	-	
Mexico	125 sera	92 faeces	2-4 m	31	6.4	-	-	
Japan	61		0 m	0	-	-	-	Nakai et al., 2006 [142]
	70		1 m	31.4	-	-	-	
	56		2 m	64.3	-	-	-	
	62		3 m	33.9	-	-	-	
	44		4 m	4.5	-	-	-	
	37		5 m	5.4	-	-	-	
	36		6 m	8.3	-	-	-	
Canada	51		2 w	11.8	0	-	-	Leblanc et al., 2007 [143]
	51		8 w	52.9	2	-	-	
	51		18 w	86.2	47.1	-	-	
	51		22-29 w	41.2	11.8	-	-	
Spain	-		< 1 m	-	0	-	-	de Deus et al., 2007 [144]
	23		1 m	-	30	-	-	
	17		2 m	-	47	-	-	
	20		3 m	-	55	-	-	
	-		> 3 m	-	0	-	-	
Spain	20		0-4 w	10	20	-	-	Fernandez-Barredo et al., 2007 [89]
	22		5-12 w	41	32	-	-	
	20		13-20 w	5	10	-	-	
	27		21-24 w	7	11	-	-	
China	133 (RNA) / 265 (Ig)		1-3 m	-	8.3	-	63.4	Zhang et al., 2008 [95]
	96 / 193		4-6 m	-	5.2	-	53.9	
	30 / 61	at slaughterhouse		-	6.7	-	55.7	
China	549		< 3 m	-	-	-	79.1	Li et al., 2008 [96]
	355		> 3 m	-	-	-	51.6	
Italy	64		< 120 d	42.2	-	-	-	di Bartolo et al., 2008 [18]
	37		> 120 d	27	-	-	-	
Korea	142		suckling	6.3	-	-	-	Kim et al., 2008 [91]
	141		post-weaning	16.3	-	-	-	
	142		growing	38.0	-	-	-	
Spain	19 sera	8 faeces	3-6 w	0	0	-	-	Seminati et al., 2008 [92]
	6	5	8-10 w	100	66.7	-	-	
	15	10	12-13 w	40	86.7	-	-	
	10	5	22 w	0	0	-	-	
U.K.	50		3-5 w	26	-	-	-	McCreary et al., 2008 [93]
	50		10-12 w	44	-	-	-	
	45		22-24 w	8.9	-	-	-	
China	167		< 10 w	6.6	-	-	-	Zhang et al., 2009 [145]
	143		10-15 w	9.8	-	-	-	
	135		16-20 w	6.7	-	-	-	
	109		>20 w	4.6	-	-	-	
China	219		1-3 m	-	-	-	71.2	Li et al., 2009 [21]
	213		3-6 m	-	-	-	85.9	
	44		> 6 m	-	-	-	88.6	

France	100	3 m	65	22	-	-	Kaba et al., 2009 [146]
	107	6 m	0	0	0	-	
China	101	2 m	-	7	-	-	Jinshan et al., 2010 [15]
	132	3 m	-	9	-	-	
	123	4 m	-	9	-	-	
China	178	< 3 m	-	-	-	62.9	Geng et al., 2010 [109]
	420	> 6 m	-	-	-	87.9	
Denmark	32	4-8 w	21.9	-	-	-	Breum et al., 2010 [108]
	33	9-12 w	54.5	-	-	-	
	32	13-22 w	71.9	-	-	-	
Hungary	204	1-4 w	9	-	-	-	Forgach et al., 2010 [104]
		5-10 w	27	-	-	-	
		11-16 w	36	-	-	-	
		> 17 w	10	-	-	-	
Italy	85	< 80 d	-	-	20	-	Martelli et al., 2010 [147]
	49	80-120 d	-	-	46.9	-	
China	32	0 d	-	0	-	IgG: 0, IgM: 0	Feng et al., 2011 [148]
	32	15 d	-	0	-	IgG: 100, IgM: 0	
	32	30 d	-	0	-	IgG: 90.6, IgM: 0	
	32	60 d	-	21.9	-	IgG: 9.4, IgM: 6.2	
	32	75 d	-	34.4	-	IgG: 21.9, IgM: 15.6	
	32	90 d	-	15.6	-	IgG: 56.3, IgM: 12.5	
	32	120 d	-	3.1	-	IgG: 100, IgM: 6.3	
China	26	< 1 m	15.4	-	-	-	Shen et al., 2011 [118]
	44	1-2 m	6.8	-	-	-	
	48	4 m	12.5	-	-	-	
Indonesia	25	1 m	-	-	-	44	Utsumi et al., 2011 [149]
	42	2 m	-	-	-	61.9	
	40	3 m	-	-	-	82.5	
	39	4 m	-	-	-	87.2	
	41	5 m	-	-	-	85.4	
	20	6 m	-	-	-	70	
Italy	19 sera	20 faeces / 19 bile	3-4 m	65	-	68.4	di Bartolo et al., 2011 [57]
	27 sera	28 / 26	9-10 m	10.7	-	38.5	
Italy	633	Sows	-	-	-	70.6	Martinelli et al., 2011 [119]
	58	< 2 m	-	-	-	12.1	
	133	2-3 m	-	-	-	30.8	
	325	4-6 m	-	-	-	41.5	
New Caledonia	20	4-8 w	0	-	-	-	Kaba et al., 2011 [113]
	32	9-16 w	18.8	-	-	-	
	32	17-24 w	0	-	-	-	
	8	> 24 w	0	-	-	-	
Slovenia	38	suckling	5.3	-	-	-	Steyer et al., 2011 [114]
	21	weaning	28.6	-	-	-	
	26	fattening	26.9	-	-	-	
Spain	130	3 w	-	-	-	6.9	Jiménez de Oya et al., 2011 [14]
	120	5 w	-	-	-	3.3	
	120	7 w	-	-	-	1.7	
	70	11 w	-	-	-	1.4	
	100	15 w	-	-	-	31	
	80	20 w	-	-	-	17.5	
	140	< 6 m	-	25.7	-	-	
201	> 6 m	-	13.9	-	-		
Belgium	420	< 6 m	-	4	-	-	Thiry et al., 2012 [150]
Brazil	25	1-4 w	8	-	-	-	Gardinali et al., 2012 [66]
	33	5-8 w	3	-	-	-	
	71	9-24 w	32.4	-	-	-	
Portugal	50	weaning	32	-	-	-	Berto et al., 2012 [120]
	50	growing	20	-	-	-	
	50	fattening	32	-	-	-	
Italy	117	< 6 m	6.8	-	-	75.2	Costanzo et al., 2015 [135]
	99	> 6 m	8.0	-	-	96.0	
Italy	67	suckling	4.5	-	-	-	Monini et al., 2015 [133]
	48	weaning	31.3	-	-	-	
	79	fattening	32.9	-	-	-	
Philippines	173	2-4 m	9.2	-	-	IgG: 37.6, IgM: 16.9	Liu et al., 2015 [136]
	93	5-7 m	5.4	-	-	IgG: 64.1, IgM: 27.2	
	33	8-24 m	3.0	-	-	IgG: 78.8, IgM: 42.4	



Ce qu'il faut retenir

Le virus de l'hépatite E est fortement prévalent dans la filière porcine, notamment en France où il circule dans 65 % des élevages et chez 31 % des animaux, ce qui conduit à une prévalence de foies positifs à l'abattoir de 4 %. La dynamique de l'infection par le HEV est variable, cette variabilité n'étant encore que partiellement expliquée. Entre autres, la taille de l'élevage, le type de production et certaines pratiques d'élevage et mesures de biosécurité apparaissent comme des facteurs de risque vis-à-vis du HEV. A l'échelle individuelle, les co-infections avec des pathogènes immunomodulateurs influencent aussi la dynamique de l'infection par le HEV.

Les programmes de lutte actuellement envisagés contre le HEV ne sont que théoriques. Ils incluraient des mesures au niveau de l'amont de la production (potentielle vaccination des porcs contre le HEV, contrôle des facteurs de risque et des pathogènes immunomodulateurs, maîtrise du risque lié aux mouvements d'animaux) et en aval (qualification des élevages indemnes de HEV pour dédier des lignes de production à la fabrication des produits contenant du foie, meilleurs traitements assainissants des produits, sensibilisation aux bonnes pratiques d'hygiène du consommateur). Il existe néanmoins d'importants trous de connaissance relatifs à l'épidémiologie du HEV qu'il est nécessaire d'investiguer afin de développer une stratégie de lutte plus ciblée et efficace contre le HEV.



Take home message

Hepatitis E virus is highly prevalent in the pig production sector, particularly in France where it circulates in 65% of pig farms and in 31% of pigs, leading to a 4% prevalence of positive livers at the slaughterhouse. HEV infection dynamics are variable and this variability is still partially explained. Among other things, the size of the farm, the type of production and certain farming practices and biosecurity measures appear to be risk factors for HEV. At the individual level, co-infections with immunomodulating pathogens may also affect HEV infection dynamics.

The control programmes currently being considered against HEV are only theoretical. They would include measures at the upstream level (potential vaccination of pigs against HEV, control of risk factors and immunomodulating pathogens, control of risk related to animal movements) and downstream (qualification of HEV-free farms to dedicate production lines to the manufacture of products containing liver, better treatments of products, higher consumer awareness). However, there are still significant knowledge gaps in HEV epidemiology that need to be investigated in order to develop a more targeted and effective strategy to control HEV.