

Abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique,
ALT ou ALAT : Alanine aminotransférase
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire,
de l'alimentation, de l'environnement et du
travail
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du
Médicament et des produits de santé
ARN : Acide RiboNucléique
CGR : Culots de Globules Rouges
CMH : Complexe d'Histocompatibilité Majeure
CNR : Centre National de Référence
CRE : Élément Cis-Régulateur
CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques
CV : Charge virale
DGV : Dépistage Génomique Viral
DO : Densité Optique
DTX : Douteux
EBV : Virus Epstein-Barr
EFS-AM : Etablissement Français du Sang
Alpes Méditerranée
EIR : Evènements Indésirables Receveurs
EMA : European Medicines Agency
ESCRT : Complexes de Tri Cellulaire
Endosomal
eVHE : Virus de l'Hépatite E quasi-enveloppé
Grp78 : Glucose-regulated protein 78
HAS : Haute Autorité de Santé
HLA : Antigène du Leucocyte Humain
HSPGs : Heparin Sulfate Proteoglycans
HSV : Herpès Simplex Virus
HVR : Région HyperVariable
ICTV : Comité International sur la Taxonomie
des Virus

IU ou UI : Unité Internationale
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
LFB : Laboratoire français du Fractionnement et
des Biotechnologies
MCPS : Mélange Concentrés Plaquettaires
Standards
MDS : Médicaments Dérivés du Sang
NEG : Négatif
NK : Natural Killer
NR : Non Renseigné
NSP : Non Structural Proteins
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ORF : Open Reading Frame
PFC : Plasma Frais Congelé
PFC-Se : Plasma Frais Congelé Sécurisé
PFC-IA : Plasma Frais Congelé traité par
amotosalen
PFC-SD : Plasma Frais Congelé traité par
solvant-détergent
POS : Positif
PSL : Produits Sanguins Labiles
PTI : Purpura Thrombopénique Idiopathique
RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase
Chain Reaction
SAGE : Groupe Stratégique Consultatif
d'Experts
SGB : Syndrome de Guillain-Barré
VHA : Virus de l'Hépatite A
VHB : Virus de l'Hépatite B
VHC : Virus de l'Hépatite C
VHE : Virus de l'Hépatite E
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
WB : Western Blot

VIRUS DE L'HEPATITE E : IMPLICATIONS EN TRANSFUSION

ABREVIATIONS.....	1
PARTIE 1 : GENERALITES SUR LE VIRUS DE L'HEPATITE E (VHE)	6
1. HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DU VHE.....	6
2. CARACTERISTIQUES DU VHE	6
2.1. Morphologie	6
2.2. Résistance aux procédés physico-chimiques.....	7
2.2.1. Température	7
2.2.2. Résistance aux procédés physico-chimiques spécifiques de la préparation des produits sanguins labiles (PSL)	7
2.2.3. Résistance aux procédés physico-chimiques dans le cadre de la fabrication de médicaments dérivés du sang (MDS)	7
PARTIE 2 : GENOMIQUE ET CLASSIFICATION DU VHE	9
1. LE GENOME DU VHE ET LES PROTEINES CODEES	9
1.1. Organisation du génome	9
1.2. Les protéines et leurs fonctions	10
1.2.1. pORF1 : protéines non structurales	10
1.2.1.1. Méthyltransférase (MeT) :	11
1.2.1.2. Domaine Y (Y)	11
1.2.1.3. Cystéine protéase similaire à la papaine (PCP)	11
1.2.1.4. Région hypervariable riche en proline (V)	11
1.2.1.5. Domaine X (X)	12
1.2.1.6. Hélicase (Hel)	12
1.2.1.7. L'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp)	12
1.2.2. pORF2 : protéine de capsid	13
1.2.3. pORF3 : protéine multifonctionnelle associée au cytosquelette	14
2. CLASSIFICATION DU VHE	15
2.1. Historique	15
2.2. Classification actuelle	16
2.2.1. Genres	16
2.2.2. Espèces.....	16
2.2.3. Génotypes et sous-types.....	16
2.2.3.1. Les génotypes du VHE	16
2.2.3.2. Les sous-types du VHE	16
2.2.3.3. Souches infectants les humains	17
2.2.3.4. Répartition géographique des génotypes du VHE.....	18
a. Dans le monde	18
b. En France	19
PARTIE 3 : TRANSMISSION DU VIRUS DE L'HEPATITE E (VHE)	20
3. TRANSMISSION ENTERIQUE.....	21
3.1. Transmission oro-fécale	21
3.2. Transmission zoonotique	24
3.2.1. Espèces animales infectées par le VHE	24
3.2.1.1. Les réservoirs avérés	25
a. Les porcins	25
b. Les cerfs et chevreuils.....	27
3.2.1.2. Les réservoirs potentiels	27
a. Le lapin.....	27
b. Les chameaux.....	28
c. Les chevaux	28
d. Les oiseaux.....	28
e. Les chauve-souris	29
f. Les rongeurs.....	29

3.2.1.3. Les carnivores.....	29
3.2.1.4. Les herbacés : les élans.....	30
3.2.1.5. Les poissons (la truite fardée).....	30
3.2.2. Etude des séroprévalences dans les populations animales.....	30
3.2.2.1. Les ruminants (bovins, ovins et caprins)	30
3.2.2.2. Les animaux de compagnie (chiens et chats)	31
3.2.2.3. Les chevaux	32
3.2.3. Les différentes voies de contamination zoonotique.....	32
3.2.3.1. Contamination par consommation de viande	33
a. Les preuves de la contamination	33
b. Les recommandations de préparations des viandes	34
3.2.3.2. Contamination par consommation de lait de vache.....	35
3.2.3.3. Contact direct avec l'animal	35
4. TRANSMISSION INTERHUMAINE.....	36
4.1. Transmission de la mère à l'enfant	36
4.1.1. Transmission materno-foetale.....	36
4.1.2. Transmission par le lait maternel	37
4.2. Transmission de personne à personne	37
4.3. Transmission nosocomiale	38
4.4. Transmission sexuelle	38
4.5. Transmission par des produits d'origine humaine utilisés en thérapeutique	38
4.5.1. Transmission par transplantation d'organes.....	38
4.5.2. Transmission par les produits sanguins labiles (PSL)	39
PARTIE 4 : PHYSIOPATHOLOGIE DU VHE	40
1. FIXATION ET ENTREE DU VIRUS DANS LA CELLULE CIBLE.....	41
1.1. Les différentes cellules cibles	41
1.2. Fixation du VHE sur la cellules cible	41
1.3. Entrée du VHE dans la cellules cible.....	42
2. MULTIPLICATION INTRACELLULAIRE DU VHE	42
2.1. Réplication virale	42
2.2. Synthèse de l'enveloppe du eVHE « quasi-enveloppé ».....	43
3. SORTIE DES VIRIONS	44
PARTIE 5 : CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE DU VHE.....	45
1. CLINIQUE	45
1.1. Tableaux cliniques associés aux génotypes 1 et 2	45
1.1.1. Hépatite E aigue.....	45
1.1.2. Infection de la femme enceinte	46
1.2. Tableaux cliniques associés aux génotypes 3 et 4	49
1.2.1. Hépatite E aigue.....	49
1.2.2. Formes graves de l'infection.....	50
1.2.3. Femme enceinte	50
1.2.4. Hépatite E chronique	50
1.2.4.1. Populations à risque.....	50
1.2.4.2. Physiopathologie de l'infection chronique	51
1.2.4.3. Complications extrahépatiques des hépatites E chroniques	52
1.2.5. Réinfections et réactivations du VHE.....	53
1.2.5.1. Réinfections	53
1.2.5.2. Réactivations	53
1.3. Manifestations extrahépatiques	54
1.3.1. Manifestations neurologiques	54
1.3.1.1. Tableaux cliniques.....	54
1.3.1.2. Considérations génotypiques et sérologiques.....	54
1.3.1.3. Lien entre VHE et troubles neurologiques	55
1.3.1.4. Physiopathologie	55
1.3.2. Manifestations hématologiques	56
1.3.2.1. Thrombopénie.....	56
1.3.2.2. Hémolyse.....	57
1.3.2.3. Anémie aplasique	57

1.3.3. Pancréatite aiguë	57
1.3.4. Troubles auto-immuns	59
1.3.5. Purpura allergique	59
1.3.6. Néphropathies	60
2. TRAITEMENT ET PREVENTION DE L'INFECTION PAR LE VHE	62
2.1. <i>Traitement</i>	62
2.1.1. Infection chronique	62
2.1.2. Infection aiguë	63
2.2. <i>Prévention</i>	65
2.2.1. Prévention individuelle	65
2.2.2. Prévention vaccinale	65
PARTIE 6 : DIAGNOSTIC DE L'INFECTION A VHE	69
1. CINETIQUE DES MARQUEURS D'INFECTION PAR LE VHE	69
1.1. <i>Le génome viral</i>	69
1.2. <i>Les anticorps</i>	70
2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE	71
2.1. <i>Diagnostic indirect : la sérologie</i>	71
2.1.1. Recherche d'IgM	71
2.1.2. Recherche d'IgG	72
2.2. <i>Diagnostic direct : la recherche de l'ARN viral par RT-PCR</i>	74
2.3. <i>Algorithme diagnostique de l'infection VHE</i>	74
PARTIE 7 : SEROPREVALENCE DU VHE	76
1. REPRESENTATION DES SEROPREVALENCES VHE AVANT LA TECHNIQUE WANTAI	77
2. REPRESENTATION DES SEROPREVALENCES VHE AVEC LA TECHNIQUE WANTAI	78
3. DONNEES ET REFERENCES	79
3.1. <i>Amérique</i>	79
3.2. <i>Afrique</i>	80
3.3. <i>Asie</i>	81
3.4. <i>Europe</i>	82
3.5. <i>Océanie</i>	84
PARTIE 8 : RISQUE TRANSFUSIONNEL LIE AU VHE	85
1. RISQUE TRANSFUSIONNEL : COMPOSANTE DONNEUR	85
1.1. <i>Durée de la virémie</i>	85
1.2. <i>Proportion des infections asymptomatiques</i>	85
1.3. <i>Exposition de la population des donneurs de sang à l'infection VHE</i>	86
1.4. <i>Caractéristiques des dons ARN VHE positifs</i>	87
1.4.1. Sérologie	87
1.4.2. Charge virale	88
2. RISQUE TRANSFUSIONNEL : COMPOSANTE RECEVEUR	90
3. CAS DE CONTAMINATION PAR TRANSFUSION : UN RISQUE AVERE	91
3.1. <i>Situation dans le monde</i>	91
3.1.1. Hépatite E transmise par transfusion de plasma	92
3.1.2. Hépatite E transmise par transfusion de CGR	93
3.1.3. Hépatite E transmise par transfusion de plaquettes	94
3.2. <i>Situation en France</i>	94
3.2.1. Les produits sanguins labiles en France : généralités	94
3.2.2. Cas publiés de transmission du VHE par produits sanguins en France	96
3.2.2.1. Hépatite E transmise par transfusion de plasma	96
3.2.2.2. Hépatite E transmise par transfusion de CGR	96
3.2.2.3. Hépatite E transmise par transfusion de plaquettes	97
3.2.2.4. Hépatite E transmise par transfusion de PSL non précisé	97
3.2.3. Récapitulatif des EIR déclarés entre 2006 et 2015 liés au VHE en France	97
4. ELEMENTS A PRECISER CONCOURANT DANS L'APPRECIATION DU RISQUE TRANSFUSIONNEL	98
4.1. <i>Dose minimale infectieuse</i>	98
4.2. <i>Rôle protecteur des anticorps anti-VHE</i>	99
4.2.1. Niveau de protection des IgG anti-VHE	99
4.2.2. Pouvoir neutralisant des IgG anti-VHE	99

PARTIE 9 : TRAVAIL DE RECHERCHE : CINETIQUE DES MARQUEURS DE L'INFECTION DANS LE SUIVI DE DONNEURS DE SANG INFECTES PAR LE VHE.....	103
1. OBJECTIFS	103
2. MATERIEL ET METHODES	104
2.1. <i>Population étudiée</i>	104
2.1.1. Critère d'inclusion dans l'étude	104
2.1.2. Période d'étude	104
2.1.3. Caractéristiques de la population étudiée	104
2.1.4. Profil virologique du don « index » ARN VHE positif	105
2.2. <i>Détection des anticorps IgM et IgG anti-VHE</i>	107
2.2.1. Principe de la technique utilisée : ELISA Wantai®	107
2.2.2. Performances analytiques	107
2.2.2.1. Les performances analytiques communiquées par le fabricant.....	107
a. Kit Wantai IgM	107
b. Kit Wantai IgG.....	108
2.2.2.2. Les performances analytiques communiquées par le CNR	108
2.3. <i>Titrage des IgG anti-VHE</i>	108
2.3.1. Etalon OMS 95/584	108
2.3.2. Etablissement de la gamme étalon.....	109
2.4. <i>RT-PCR</i>	111
3. RESULTATS	112
3.1. <i>Cinétique des anticorps IgM anti-VHE</i>	112
3.1.1. Sérologies nulles : absence d'IgM	113
3.1.2. Délais d'apparition et durées de portage des IgM	113
3.1.2.1. Délai d'apparition des IgM.....	115
3.1.2.2. Durée de portage des IgM	115
3.2. <i>Cinétique des anticorps IgG anti-VHE</i>	116
3.2.1. Délai d'apparition et durée de persistance des anticorps IgG anti-VHE :	116
3.2.1.1. Délai d'apparition	116
3.2.1.2. Durée de persistance.....	117
3.2.2. Cinétique des anticorps IgG anti-VHE	117
3.2.2.1. Etude des donneurs de sang avec une cinétique de type « pic »	119
3.2.2.2. Etude des donneurs de sang avec une cinétique de type « plateau »	121
3.2.2.3. Etude des donneurs de sang avec une cinétique « A finaliser »	122
3.2.3. Etude d'un lien entre taux maximum observé et taux résiduel en fin d'étude.....	122
3.3. <i>Evaluation du pouvoir protecteur des IgG anti-VHE</i>	123
3.4. <i>Infection VHE, profils biologiques particuliers</i>	124
3.4.1. Absence de séroconversion.....	125
3.4.2. Profils évocateurs de réinfection par le VHE	125
3.4.2.1. Premier profil : possible infection préalable au cas « index » ARN VHE positif	126
3.4.2.2. Second profil : possible réinfection post cas « index » ARN VHE positif	126
4. DISCUSSION.....	129
5. CONCLUSION	136
BIBLIOGRAPHIE.....	138
ANNEXES	161

Partie 1 : Généralités sur le virus de l'hépatite E (VHE)

1. Historique de la découverte du VHE

C'est lors d'une épidémie d'hépatite à transmission entérique en 1978 au Cachemire non lié au virus de l'hépatite A qu'un autre virus hépatotrope à transmission entérique a été envisagé. En effet, lors de cette épidémie aucun marqueurs sérologiques des hépatites A et B n'étaient présents, des formes cliniques très sévères étaient observés chez les femmes enceintes.

Puis en 1983, suite à une autre épidémie d'hépatites dans un camp militaire soviétique en Afghanistan, le chercheur Balayan s'est porté cobaye et a développé une hépatite aiguë après avoir ingéré un pool d'extrait de selles de patients immunisés contre l'hépatite A mais présentant une hépatite. Il a ensuite observé des particules virales sphériques par microscopie électronique dans ses propres selles. Ces particules agglutinaient avec les sérums de patients ayant eu une hépatite non A non B mais n'agglutinaient pas avec les sérums de patients ayant eu une hépatite A ou B [1]. C'est seulement en 1990 que le génome viral a pu être partiellement séquencé et en 1992 que le génome complet de souches Asiatiques et Mexicaines a été séquencé et que l'agent des hépatites non-A non-B à transmission entérique a été nommé Virus de l'Hépatite E (VHE) [2] [3]. C'est en 1997 que des souches de VHE porcins ont été découvertes. La même année la description du premier cas autochtone associé à cette souche a soulevé la question du risque zoonotique dans les pays développés. La répartition planétaire de l'hépatite E est maintenant reconnue et largement documentée.

2. Caractéristiques du VHE

2.1. Morphologie

Le VHE est classé dans la famille des Hepeviridae, genre hepevirus dont il est actuellement le seul représentant.

Il s'agit d'un virus sphérique, non enveloppé de 27 à 33 nm de diamètre. Le génome est un ARN monocaténaire à polarité positive d'une longueur approximative de 7,2 kb. La capside est icosaoédrique. Il existe un seul sérotype et 4 génotypes majeurs infectant l'homme avec de nombreux sous-types. La réplication virale se situe principalement dans le cytoplasme des hépatocytes. Le virus est présent également dans des localisations extra-hépatiques (tube intestinal et tissus lymphatiques). Le VHE existe au sein d'un même hôte sous la forme d'un mélange complexe en équilibre de variants étroitement apparentés définissant une quasi-espèce. Cette caractéristique permet au virus la sélection des variants les mieux adaptés aux conditions environnementales [4].

Le VHE a été considéré comme non enveloppé depuis sa découverte. Cependant des études

récentes ont montré que les virions circulants dans le sang sont enveloppés dans une membrane cellulaire de l'hôte [5]. On parle alors de virions quasi enveloppés (eVHE). Cette membrane dérivée de l'hôte ne porte pas de protéines virales à sa surface. L'intérêt pour le virus est de tenter d'échapper à la reconnaissance immunitaire. De plus, à la différence des virus non enveloppés qui provoquent une lyse de la cellule (effet cytopathique) lors de leur libération induisant des effets immunostimulateur, ces eVHE ne provoquent pas de lyse (pas d'effet cytopathique).

2.2. Résistance aux procédés physico-chimiques

Le VHE est un virus entérique avec une forme non enveloppée, il est donc résistant dans le milieu extérieur et aux procédés physico-chimiques classiques.

2.2.1. Température

Les études de l'impact de la température sur le VHE ont été faites dans le cadre de travaux en vue de recommandations de cuissons des viandes notamment. Les conclusions des études sont que le VHE reste viable après un chauffage à 56°C pendant 1 h et il reste même infectieux jusqu'à 60°C. Par exemple, une étude française de 2014 de Barnaud et al [6] a étudié la stabilité et l'infectivité du VHE à la chaleur. Trois températures utilisées en pratique par l'industrie sont étudiées (62°C, 68°C et 71°C) pendant trois temps (5, 10 et 20 minutes). Les auteurs observent que la plus faible réduction de charge virale est obtenue avec la combinaison (62°C, 5min) alors que la plus forte réduction de charge virale est obtenue avec la combinaison (71°C, 20min). Puis les auteurs ont inoculé des produits inactivés pendant 20min à 71°C à des porcs et aucune infection par le VHE n'a été observée. Colson et al [7] reprend les mêmes recommandations sur la cuisson du figatelli en particulier, il faut que le produit atteigne une température interne de 71°C pendant au moins 5 minutes ou qu'il soit bouilli dans de l'eau pendant au moins 5 minutes.

2.2.2. Résistance aux procédés physico-chimiques spécifiques de la préparation des produits sanguins labiles (PSL)

Le VHE est résistant à la fois aux mécanismes de traitement par solvant-détergent et de viro-atténuation par l'amotosalen [8].

2.2.3. Résistance aux procédés physico-chimiques dans le cadre de la fabrication de médicaments dérivés du sang (MDS)

Une étude Australienne de 2016 de Farcet et al. [9] a testé les différentes techniques d'inactivation du VHE dans le processus de fabrication de différents MDS. Cependant, afin de

s'affranchir des particules virales quasi-enveloppées (eVHE) les virus subissent dans un premier temps une étape de traitement de type solvant/détergent.

Les réductions de la charge virale par les techniques utilisées sont résumées dans la tableau suivant :

MDS	Techniques testées	Réduction de la charge virale
Facteur de la coagulation VII	Chromatographie d'affinité	3,9 log
	Filtration : 20 nm	> 3,9 log
Inhibiteur de facteur de la coagulation VIII	Filtration : 35 nm	4 log
Immunoglobulines	Fractionnement par l'éthanol à froid	> 3,5 log
Albumine	Traitement par la chaleur	> 3,1 log

En 2016, l'European Medicines Agency (EMA) [10] demande aux laboratoires pharmaceutiques au minimum une technique avec une capacité de réduction de l'ordre de 4 log₁₀ ou plus de la virémie pour considérer l'élimination ou l'atténuation de virus comme acceptable pour la production de produits dérivés du sang. A ce jour, la filtration a été identifiée comme la technique disponible la plus efficace.

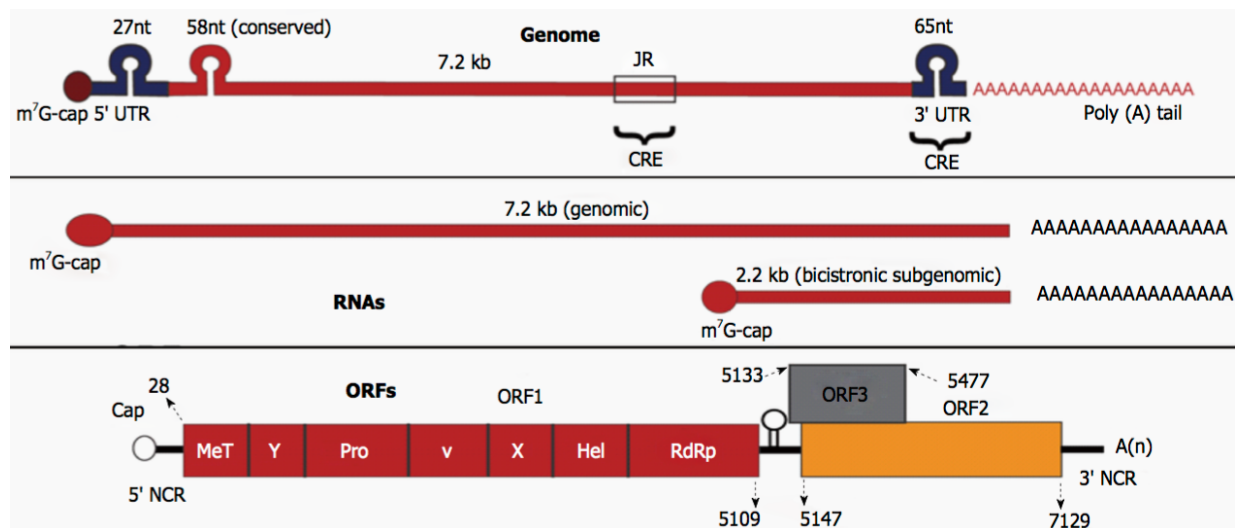
Partie 2 : Génomique et classification du VHE

1. Le génome du VHE et les protéines codées

1.1. Organisation du génome

La description du génome du virus de l'hépatite E a été réalisée en 1990 [2], [3]. C'est une molécule d'ARN simple brin de polarité positive. La taille du génome du genre *Orthohepevirus* qui contient les génotypes humains (1, 2, 3 et 4) et du genre *Piscihepevirus* (genre infectant la truite) est environ 7,2 kb. Mais la taille du génome du genre *Avihepevirus* (infectant les oiseaux) est d'environ 6,7 kb.

Le génome du VHE contient trois cadres de lectures ouverts : ORF (Open Reading Frame) : ORF1, ORF2, ORF3 dont deux se chevauchent (ORF2 et ORF3).



Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure, Mohammad Khuroo et al, 2016 [11]

Selon Khuroo et al [11] le génome contient :

- Une structure coiffante (7mG-Cap : 7-méthylguanosine cap) à l'extrémité 5' (Cap)
- Une courte région non codante en 5' (NCR : noncoding region) de 27 nucléotides,
- Le cadre de lecture ouvert ORF1 codant pour les protéines non structurales,
- Une zone de jonction (JR : junction region) dont la structure est une « tige-boucle » (SL : stem-loop structure) et contenant un élément cis-régulateur (CRE : cis-reactive element),
- Les cadres de lecture ouverts chevauchants : ORF2 codant pour la protéine de capsid et ORF3 codant pour une protéine multifonctionnelle dont le rôle biologique n'est pas encore clairement élucidé,
- Une courte région non codante en 3' (NCR) contenant un deuxième élément cis-régulateur (CRE),
- Une queue polyA à l'extrémité 3'.

La polyprotéine non structurale ORF1 est directement traduit à partir de l'ARN de polarité positive dans le cytoplasme. Alors que les protéines codées par ORF2 et ORF3 sont produites par un ARNm subgénomique (SG) bicistronique (*Subgenomic RNA*) de 2.0 kb.

1.2. Les protéines et leurs fonctions

Il est à noter que les positions des acides nucléiques que l'on énoncera se réfèrent à une souche VHE de génotype 1 (Burmese strain) [11].

1.2.1. pORF1 : protéines non structurales

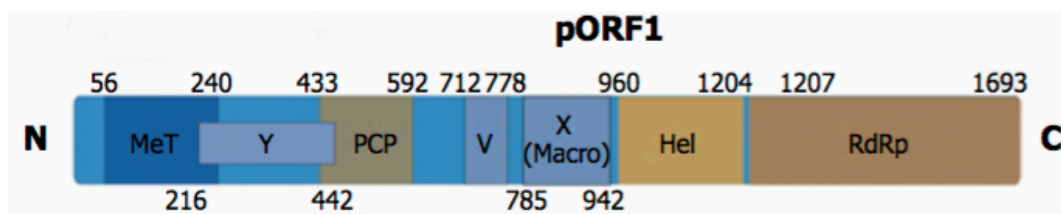
L'ORF1 comprenant 5079 nucléotides code pour des protéines non structurales dès la fin de la région non codante en 5'. Le polypeptide qui en résulte est donc composé de 1693 acides aminés. Ce dernier est impliqué dans la réplication virale et contient plusieurs domaines fonctionnels à activités enzymatiques différents [12], [13].

La répartition des domaines fonctionnels sur ORF1 est la suivante :

Domaines fonctionnels sur ORF1	Position sur le génome (Génotype 1)	Longueur (nombre de bases)	Position sur la polyprotéine ORF1	Longueur (nombre d'acides aminés)
Méthyltransférase (<i>MeT</i>)	196 à 748	552	56 à 240	184
Domaine Y	676 à 1354	678	216 à 442	226
Cystéine protéase similaire à la papaine (<i>PCP</i>)	1327 à 1804	477	433 à 592	159
Région hypervariable riche en proline (<i>V</i>)	2164 à 2362	198	712 à 778	66
Domaine X (<i>X Macro</i>)	2383 à 2854	471	785 à 942	157
Hélicase (<i>Hel</i>)	2908 à 3640	732	960 à 1204	244
ARN polymérase dépendante de l'ARN (<i>RdRp</i>)	3649 à 5109	1460	1207 à 1693	486

Les positions des différentes régions de ORF1 sont issues de l'article *Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure*, Mohammad S Khuroo et al, 2016 [11]

La polyprotéine ORF1 et ses domaines fonctionnels sont représentés ci-dessous :



Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure, Mohammad Khuroo et al, 2016 [11]

1.2.1.1. Méthyltransférase (MeT) :

La méthyltransférase est nécessaire au coiffage en 5' de l'ARN génomique et subgénomique par une 7-méthylguanosine (7mG-Cap) [13]. Cette activité catalytique a été confirmée in vitro [14]. Cette coiffe est indispensable à l'infectivité du VHE [15]. Les études démontrent que seul un ARN coiffé montre une infectivité. Alors qu'un ARN non coiffé est dénué d'infectivité [16].

1.2.1.2. Domaine Y (Y)

Aucune fonction n'est actuellement connue de façon certaine pour le domaine Y.

1.2.1.3. Cystéine protéase similaire à la papaine (PCP)

La cystéine protéase similaire à la papaine (PCP) a initialement été proposée comme intervenant dans le clivage de la polyprotéine virale codée par ORF1 [17]. Jusqu'en 2014, on ne savait pas si la protéine codée par ORF1 fonctionnait comme une protéine unique ou si elle était clivée pour que de petites protéines soient fonctionnelles de façon indépendante. Certains auteurs affirmaient qu'elle n'était pas clivée à l'issue de sa traduction [18]. Cette absence de clivage était alors inhabituelle pour les virus à ARN+ infectant les animaux. Sa fonction de clivage a été démontrée par l'étude de Paliwal D et al [19] en 2014. La PCP cliverait la protéine codée par ORF1. Cependant, on ne sait pas si les produits du clivage doivent subir une modification pour pouvoir exercer leur fonction.

1.2.1.4. Région hypervariable riche en proline (V)

La région hypervariable riche en proline (HVR), varie en longueur et en composition en acides aminés entre les différentes souches de VHE.

Dans une étude américaine, de 2012, Purdy et al [20] a constaté que les HVR des quatre génotypes de VHE étaient des régions intrinsèquement non structurées qui avaient un effet régulateur sur la transcription et la traduction. Purdy [21] affirme également que la HVR a une tolérance plus élevée que les autres domaines de ORF1 pour les mutations.

D'autres auteurs sont d'accord sur le fait que le virus peut tolérer de petites délétions de la HVR. C'est le cas de l'étude américaine en 2009, où Pudupakam et al ont testé différentes délétions situées dans la HVR. La conséquence n'est jamais une perte d'infectivité, la souche reste infectante. Cependant, ces délétions aboutissent à des souches atténuées. Les auteurs concluent donc en disant qu'in vitro et in vivo les délétions de la HVR n'abolissent pas l'infectivité mais produisent des souches atténuées. La région hypervariable ne semble donc pas être indispensable à la réplication virale. Les gènes non structuraux des virus qui ne sont pas essentiels pour la réplication sont habituellement impliqués dans la modulation des réponses immunitaires de l'hôte [22].

Une étude britannique de Donald B. Smith et al [23] conclue quant à elle que la région HVR est importante pour la réplication du virus et pourrait même avoir une fonction structurelle plutôt qu'une fonction régulatrice ou enzymatique. Ils précisent que des études plus détaillées dans des systèmes in vitro sont nécessaires pour définir le rôle exact de la HVR dans la réplication et la pathogenèse du VHE.

En 2014, Lhomme et al [24] ont réalisé une étude rétrospective portant sur l'hétérogénéité de la région variable chez 14 patients immunodéprimés transplantés d'organe. Ces patients étaient classés en deux groupes selon qu'ils avaient développés une infection VHE chronique ou non. Les auteurs ont prouvé qu'il existait une hétérogénéité génétique de cette région significativement plus élevée chez les patients immunodéprimés chroniquement infectés par le VHE que chez les patients immunodéprimés n'ayant pas développés d'hépatite E chronique. Par conséquent, la région hypervariable serait plus impliquée dans l'adaptation immunitaire que dans la réplication du virus.

1.2.1.5. Domaine X (X)

Aucune fonction n'est actuellement connue de façon certaine pour le domaine X.

1.2.1.6. Hélicase (Hel)

L'hélicase participe à la séparation des doubles brins d'ARN et déroule les structures secondaires [25].

De plus, l'hélicase pourrait catalyser la première étape du coiffage de l'ARN [26] via son activité 5' triphosphatase.

L'hélicase du VHE est donc une protéine essentielle pour la réplication virale.

1.2.1.7. L'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp)

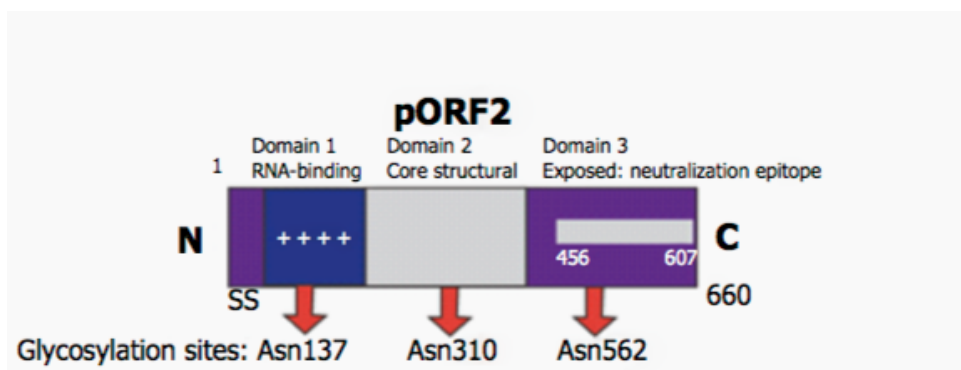
L'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) est nécessaire pour la réplication du génome des virus à ARN [27].

In vitro, il a été démontré que cette protéine est capable de fixer l'extrémité 3' de l'ARN du VHE et d'utiliser l'ARN polyadénylée comme matrice pour la synthèse du brin complémentaire [28].

Enfin, il semblerait que cette polymérase soit présente dans le réticulum endoplasmique de la cellule suggérant que cet organite serait impliqué dans la réplication du VHE et serait même le lieu de la réplication [29].

1.2.2. pORF2 : protéine de capside

Représentation de pORF2 :



Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure, Mohammad Khuroo et al, 2016 [11]

ORF2 (de la position 5147 à 7129, pour une longueur de 1980 bases) code, à partir d'un sous-génome de 2,2kb, la protéine de capside de 660 acides aminés et d'un poids moléculaire de 72kDa.

La protéine pORF2 possède 3 domaines :

- Domaine 1 : liaison à l'ARN (*RNA-binding*)
- Domaine 2 : structure de la capside (*Core structural*)
- Domaine 3 : domaine exposé, immunogène. (*exposed : neutralization epitope*)

Chaque domaine possède un site de glycosylation.

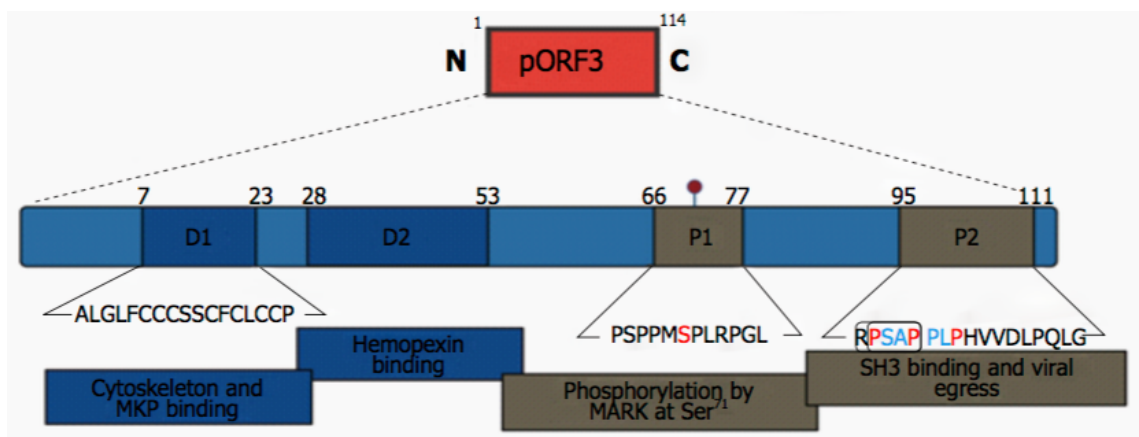
En tant que protéine de capside, pORF2 protège non seulement l'intégrité du génome viral, mais participe également à de nombreuses activités physiologiques importantes, telles que :

- L'assemblage du virus [30],
- La stimulation de l'immunité de l'hôte. En effet, la protéine ORF2 est immunogène. Des anticorps neutralisants ciblant cette protéine ont été identifiés [31]–[33].
- L'interaction avec l'hôte en se liant à différentes protéines :
 - Pour la fixation au récepteur cellulaire de l'hôte infecté : les protéines « heparin sulfate proteoglycans (HSPGs) (16) et la protéine apparentée de choc thermique 70 (HSC70) [34].
 - Pour le transport intracellulaire : la protéine de choc thermique 90 (HSP90) [35] et la « glucose regulated protein 78 » (Grp78) [36].

Une atténuation virale a été démontrée suite à trois mutations localisée dans ORF2. Il en résulte une réduction de la durée de la virémie, de la durée de l'excrétion fécale et une diminution de la charge virale hépatique [16].

1.2.3. pORF3 : protéine multifonctionnelle associée au cytosquelette

Représentation de pORF3 :



Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure, Mohammad Khuroo et al, 2016 [11]

L'ORF3 (de la position 5133 à 5477 pour une longueur de 345 bases) code pour une petite phosphoprotéine de 113 acides aminés pour le génotype 3 ou 114 pour les génotypes 1, 2 et 4 [37] de poids moléculaire de 13kDa. Cette protéine contient 2 domaines N-terminaux hydrophobes (D1 de la position 7 à 23 et D2 de la position 28 à 53) et 2 domaines C-terminaux riches en proline (P1 de la position 66 à 77 et P2 de la position 95 à 111) [38].

Les études actuelles sont en faveur de l'hypothèse d'une interaction avec le cytosquelette :

- Le domaine D1, riche en cystéine, se lierait aux microtubules [39]
- Le domaine D2 se lierait à l'hémopexine et jouerait ainsi un rôle dans l'homéostasie du fer cellulaire [40]
- Le domaine P2, contient l'épitope antigénique de ORF3. Ce domaine se lierait à une région SH3 (Src homology region) [41], [42] et jouerait un rôle clé dans la libération du virus.

Une fois phosphorylée sur la région P1 par une MAP kinase (Mitogen-activated protein kinases) [43] la protéine interagirait avec la protéine de capsid afin de réguler l'assemblage des virions [44].

D'autres études suggèrent le rôle de la protéine ORF3, entre autres, dans l'activation de kinases (Erks : Extracellular-signal-regulated kinase), dans l'inhibition de la voie mitochondriale de l'apoptose, et dans le retardement de la dégradation du récepteur du facteur de croissance des hépatocytes activées [45]–[47].

On sait que les patients souffrant d'une infection par le VHE peuvent avoir des troubles de la coagulation et des avortements hémorragiques dans le dernier trimestre de la grossesse (voir partie clinique). Une étude de Zhou et al. a identifié, chez le porc, des liaisons de pORF3 avec deux protéines spécifiques du foie, le plasminogène et l' α 2-antiplasmine. Selon les auteurs cette observation, tend à affirmer que l'équilibre entre la coagulation sanguine et la fibrinolyse peut être rompu suite à une infection par le VHE et plus particulièrement à la suite de l'interaction entre la protéine ORF3 et les protéines de la coagulation [48].

Bien que la séquence primaire n'ait montrée aucune homologie avec les protéines décrites à ce jour, les études concordent pour suggérer une implication de la protéine ORF3 dans la transduction de signaux de survie des cellules infectées.

En résumé, le virus de l'hépatite E code pour trois protéines : ORF1, ORF2 et ORF3. Chaque protéine aurait sa propre fonction. On estime certain qu'ORF1 code pour les protéines non structurales qui sont principalement responsables de la réplication du virus. La protéine ORF2 est la protéine de capsid, qui contient la plupart des épitopes neutralisants. La protéine ORF3 est une phosphoprotéine courte, qui peut avoir plusieurs fonctions.

Des avancées sur l'étude de ces protéines ont été faites notamment sur la fonction de la protéase et sur l'interaction entre protéines du VHE et de l'hôte. Cependant, leurs implications dans la réplication virale, dans la pathogénie et dans la stabilité entre les espèces restent peu claires. D'autres études sont nécessaires afin d'approfondir ces notions.

2. Classification du VHE

2.1. Historique

Avant 2000, le VHE était classé dans la famille des *Caliciviridae*. Cette classification reposait sur :

- La taille : 27-34 nm
- La morphologie : virus sphériques et non enveloppés
- Le génome : ARN simple brin, sens positif, polyadénylé à son extrémité 3', composé de trois ORF.

En 2000, la classification du VHE dans la famille des *Caliciviridae* a été révisée vers un statut de classification "non assigné" par le Comité international sur la taxonomie des virus (ICTV) à cause :

- D'un manque de lien phylogénétique avec d'autres membres de la famille *Caliciviridae*.

- Des types d'enzymes répliquatives
- De la structure de la coiffe à l'extrémité 5'

Le classement du VHE est resté indéterminé pendant plusieurs années, jusqu'en 2004, date à laquelle il a été désigné comme étant de la famille des *Hepeviridae*.

2.2. Classification actuelle

En 2014, le groupe d'étude du Comité de la taxonomie des virus des Hepeviridae [49] propose une classification de cette famille en trois niveaux hiérarchiques : genre, espèce et génotype.

2.2.1. Genres

La famille *Hepeviridae* serait divisée en deux genres : *Orthohepevirus* (infectant les mammifères et les volailles) et *Piscihepevirus* (infectant la truite fardée).

2.2.2. Espèces

Les espèces du genre *Orthohepevirus* sont :

- *Orthohepevirus A* (infectant les humains, les porcs, les sangliers, les cerfs, les mangoustes, les lapins et les chameaux),
- *Orthohepevirus B* (infectant poulet),
- *Orthohepevirus C* (infectant le rat et le furet)
- *Orthohepevirus D* (infectant la chauve-souris).

L'espèce du genre *Piscihepevirus* est *Piscihepevirus A*.

2.2.3. Génotypes et sous-types

2.2.3.1. *Les génotypes du VHE*

Les génotypes sont classiquement définis par une divergence supérieure à 20 % de la séquence nucléotidique dans la région ORF2 [49]. A l'heure actuelle, il existe :

- Huit génotypes pour l'espèce *Orthohepevirus A* (A1 à A8)
- Deux génotypes pour l'espèce *C* (C1 et C2).

2.2.3.2. *Les sous-types du VHE*

Il a été proposé de distinguer, au sein de chaque génotype de l'espèce *Orthohepevirus A*, plusieurs sous-génotypes. A l'heure actuelle un article de 2016 [50] dénombre :

- 6 sous-types pour le génotype 1 (1a à 1f),
- 2 sous-types pour le génotype 2 (2a et 2b),

- 11 sous-types pour le génotype 3 (3a à 3j et 3ra) avec la particularité qu'il existe trois clades : clade 3abchij, clade 3efg et le clade du lapin 3ra.
- 9 sous-types pour le génotype 4 (4a à 4i).

2.2.3.3. Souches infectants les humains

Tous les génotypes qui peuvent infecter les humains appartiennent à l'espèce Orthohepevirus A et sont les génotypes 1,2,3, 4 ou 7 :

- Les génotypes 1 et 2, strictement humains, sont principalement distribués en Asie, en Afrique et en Amérique du Nord et sont principalement associés à de grandes épidémies d'origine hydrique.
- Les génotypes 3 et 4 possèdent un réservoir animal et sont principalement responsables de cas sporadiques d'hépatite E chez l'homme. Le génotype 3 est principalement distribué dans les pays occidentaux, tandis que le génotype 4 se trouve principalement dans la région Asie.

Le génotype 3ra peut également infecter l'homme. Une étude française d'Abravanel et al. [51] en juillet 2017 montre une prévalence de 0,5% (5/919) de génotype 3ra parmi les patients infectés par le VHE. Ce sont des hommes d'âge moyen (moyenne d'âge : 52 ans), immunodéprimés (4/5). La voie de transmission n'a pas pu être démontrée (2/5 ont consommé du lapin) et la maladie est asymptomatique (4/5).

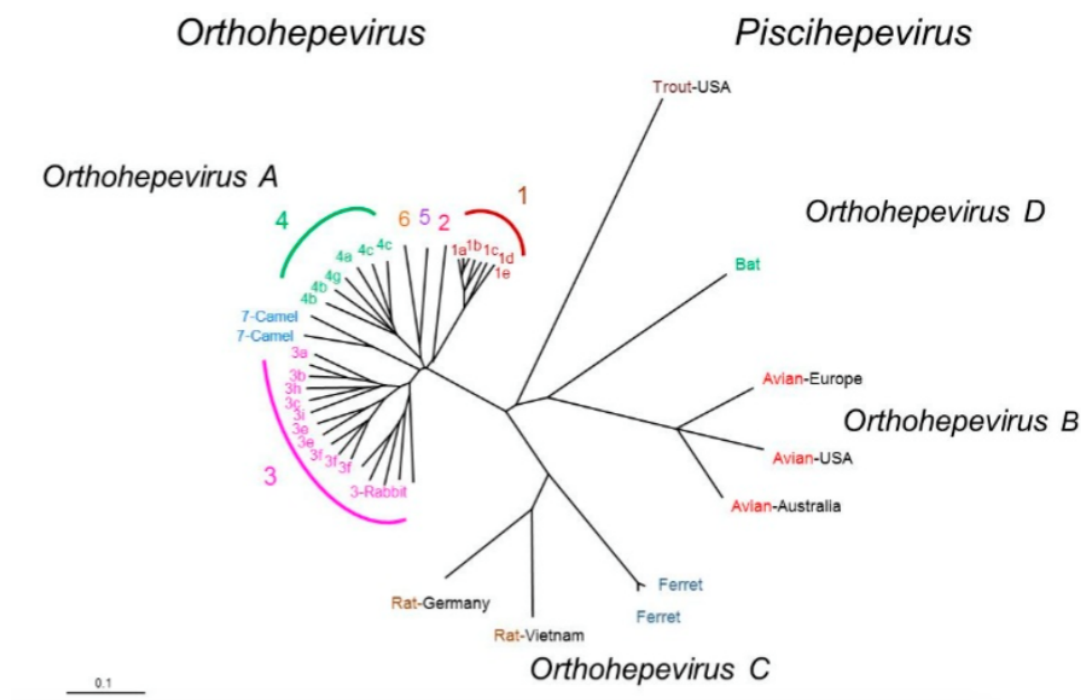
- *Le génotype 7 a été décrit comme cause d'infection dans un seul case report de 2016 [52]. C'est un patient du Moyen-Orient transplanté hépatique. Ce patient consommait régulièrement de la viande et du lait de chameau. D'autres études sont à effectuer.*
- Le génotype 8 est très récent. C'est une étude Woo et al [53] qui le décrit chez des chameaux (*Camelus bactrianus*).

Le tableau ci-après illustre la classification actuelle du VHE.

Famille	Genre	Espèce	Hôte prédominant	Génotype	Sous-types
Hepeviridae	Orthohepevirus	Orthohepevirus A	Humain	VHE-1	1a-1f
			Humain	VHE-2	2a, 2b
			Humain , porc, cerf, mangouste Lapin	VHE-3	3abchij / 3efg 3ra
			Humain , porc	VHE-4	4a-4i
			Sanglier	VHE-5	
			Sanglier	VHE-6	
			Chameau, humain Chameau	VHE-7 VHE-8	
		Orthohepevirus B	Oiseaux		
		Orthohepevirus C	Rat	VHE-C1	
			Furet	VHE-C2	
		Orthohepevirus D	Chauve-souris		
		Piscihepevirus	Piscihepevirus A	Truite	

Il est possible que de nouveaux genres et de nouvelles espèces soient décrits en fonction des recherches réalisées.

L'organisation phylogénétique actuelle du VHE est la suivante :

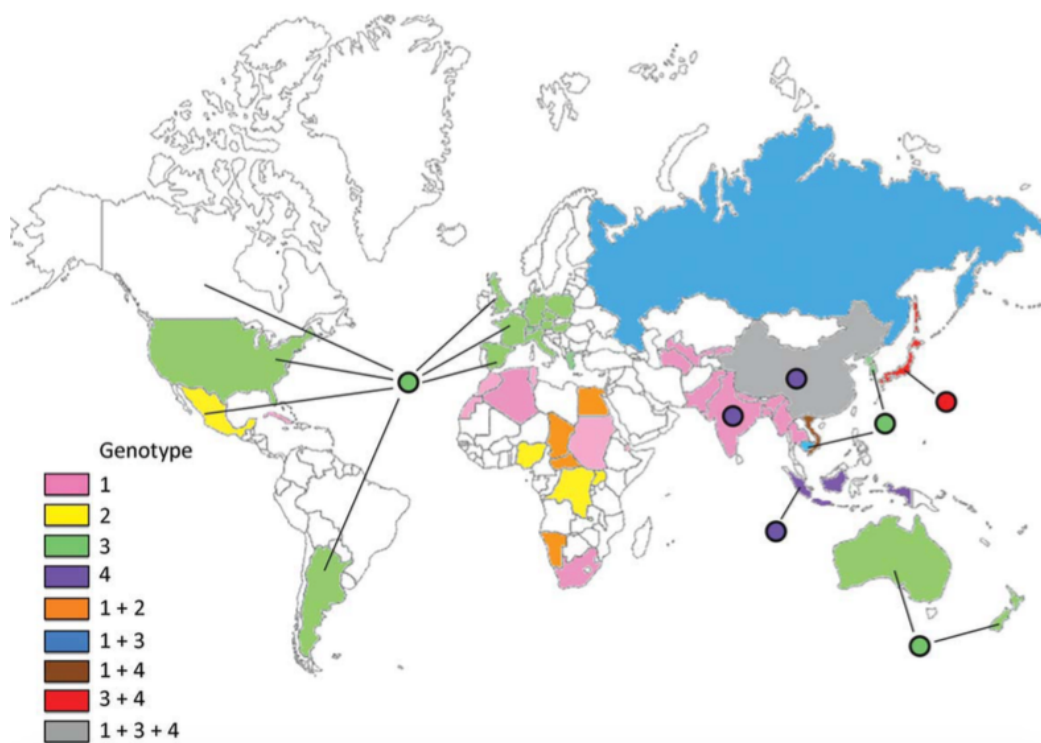


Hepatitis E Pathogenesis, Sébastien Lhomme et al. 2016 [54]

2.2.3.4. Répartition géographique des génotypes du VHE

a. Dans le monde

Répartition mondiale des génotypes du VHE :



Hepatitis E: Epidemiology and Natural History, Aggarwal, 2013 [55]

b. En France

En France, la répartition des génotypes observés chez les individus infectés dont le diagnostic a été réalisé par le CNR est la suivante :

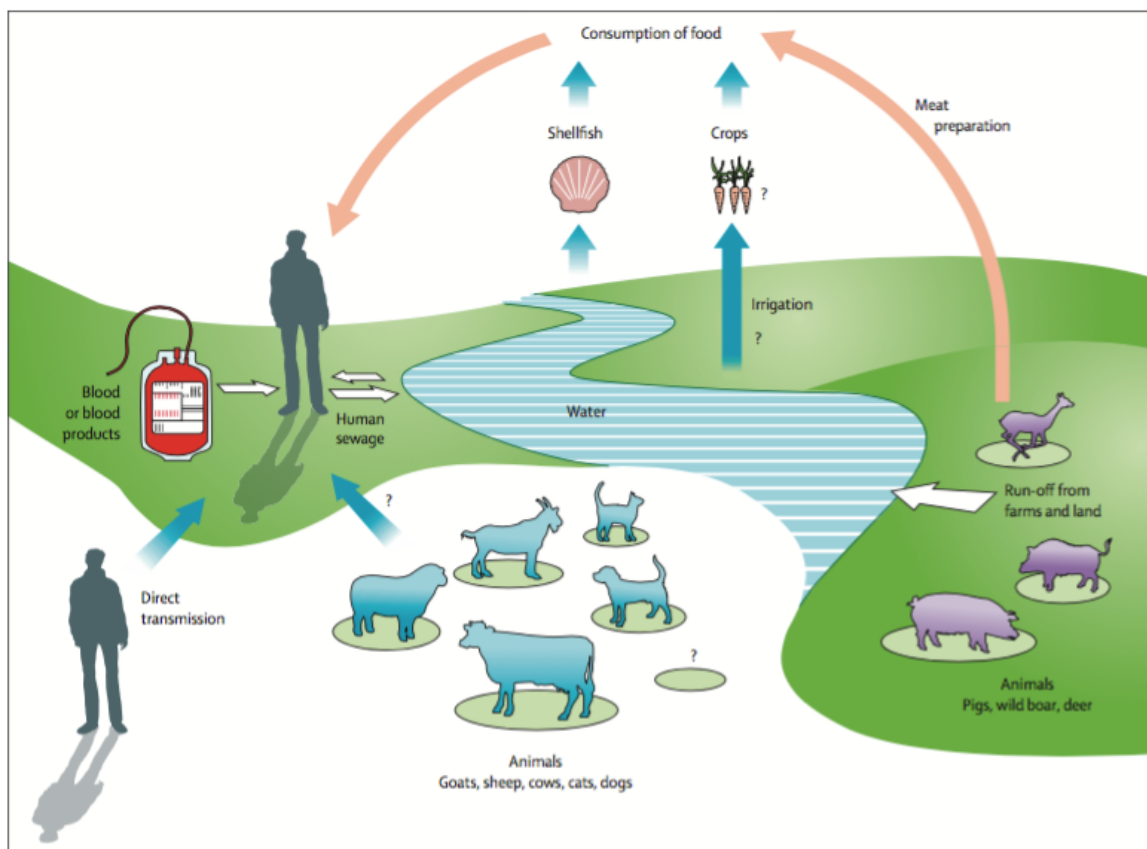
Année	Génotypes et sous types												
	1	2	4	3a	3b	3chi		3e	3g	3f	3ra	3 non sous typé	Non typé
						3c	3i						
2016	8	1	6	2	0	183		13	0	325	3	53	100
	1,20%	0,20%	0,90%	0,40%	0%	26,40%		1,90%	0%	46,80%	0,50%	7,60%	14,40%
	579 soit 83,4%												
2015	3	0	5	6	1	141		11	1	251	4	60	86
	0,50%	0%	0,90%	1,10%	0,20%	24,80%		1,90%	0,20%	44,20%	0,70%	10,50%	15%
	475 soit 83,8%												
2014	7	1	7	1	1	115	32	6	0	276			78
	1,30%	0,20%	1,30%	0,20%	0,20%	21,60%	6,10%	1,10%	0%	51,90%			14,60%
	431 soit 81,1 %												
2013	4	0	1	1	2	103	0	10	0	212			40
	1,70%	0%	0,20%	0,20%	0,40%	27,60%	0%	2,70%	0%	56,80%			10,70%
	328 soit 87,7 %												
2012	8	0	9	0	0	38	0	9	0	174			47
	2,80%	0%	3,20%	0%	0%	13,30%	0%	2,80%	0%	61,50%			16,50%
	221 soit 77,6%												

Partie 3 : Transmission du virus de l'hépatite E (VHE)

L'hépatite E est généralement transmise par voie féco-orale. Dans les pays en voie de développement, où les génotypes strictement humains (1 et 2) sont les génotypes prédominants du VHE, l'eau souillée et les aliments contaminés sont les principales sources d'infection par le VHE. L'élimination fécale du VHE par des humains présentant des signes d'infection ou asymptomatiques maintient un pool d'individus infectieux qui contaminent l'approvisionnement en eau. Un problème majeur de santé publique est également la transmission verticale, materno-fœtale car elle est peut-être de mauvais pronostic.

Dans les pays industrialisés, où les génotypes zoonotiques (3 et 4) sont les génotypes prédominants, l'importance des réservoirs animaux est devenue évidente et l'hépatite E est considérée comme une maladie zoonotique. La transmission par la consommation de viande contaminée et insuffisamment cuite ou par contact direct avec des animaux a été confirmée comme la principale cause de l'hépatite E sporadique dans les pays développés. D'autres voies de transmissions ont également été démontrées : la transfusion sanguine et la transplantation d'organe.

Kamar propose, en 2012 dans *The Lancet*, une représentation des différentes voies de transmission du VHE :



Hepatitis E, Kamar et al. *The Lancet*, 2012 [56]

Dans cette représentation les auteurs différencient les voies de transmission certaines et celles proposées mais encore à l'étude (symbolisées par des points d'interrogation (?)).

Nous proposons dans ce travail une différenciation par génotype, comme suit :

Génotypes 1 ou 2 (Pays en développement)	Génotypes 3 ou 4 (Pays développés et en développement)
<ul style="list-style-type: none"> • Transmission oro-fécale • Transmission verticale 	<ul style="list-style-type: none"> • Transmission zoonotique : consommation de viande mal cuite et contact étroit avec des animaux. • Transmission par transfusion sanguine, par transplantation d'organes

3. Transmission entérique

3.1. Transmission oro-fécale

Les épidémies d'hépatite E liées à l'eau contaminée ont été largement documentées pour les génotypes 1 et 2.

Une synthèse des épidémies de VHE liées à l'eau les plus importantes a été proposée par Y. Wang en 2016 [57] :

Location	Years	Cases	Transmission
India	1955–1968	29,300	Waterborne
Kashmir	1978–1979	>270	Waterborne
Mexico	1986	>200	Contaminated well water
Ethiopia	1988–1989	>750	After monsoon rains
India	1991	79,000	Contaminated river water
China	1991	119,000	Waterborne
Vietnam	1994	>300	After heavy rains
Pakistan	1993–1994	3827	Contaminated plant water
Nepal	1995	692	Contaminated drinking water
Sudan	2004	>2600	Safe water insufficient
Uganda	2008	>10,000	Substantial person to person
Bangladesh	2010	>62	Contaminated tap water
Sudan	2014–2015	>1117	Safe water insufficient

Hepatitis E Virus, Wang et al. 2016 [57]

Le premier cas documenté est une grande épidémie d'hépatite E liée à l'utilisation d'eau qui a eu lieu à New Delhi, en Inde, en 1955. Depuis, différentes épidémies liées à l'eau ont été signalées en Inde, au Pakistan, en Chine, au Vietnam, au Bangladesh, au Mexique, au Soudan et dans d'autres pays d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine.

Ces épidémies s'expliquent par l'utilisation d'eau souillée et par une absence de maîtrise du traitement des eaux usées.

En Asie du sud-est, l'évacuation des excréments humains dans les rivières et l'utilisation de l'eau provenant de ces mêmes rivières pour boire, cuisiner et assurer l'hygiène personnelle a été prouvé comme source des épidémies.

En Afrique, La contamination fécale de l'eau est également une source principale d'épidémies de l'hépatite E. Ces épidémies sont souvent précédées de fortes précipitations et d'inondations,

facilitant le mélange des excréments humains avec les sources d'eau potable. Aussi, pendant les mois d'été secs où le débit d'eau dans les rivières est réduit, la concentration de contaminants fécaux augmente conduisant aussi à des foyers de VHE.

Les épidémies de VHE par transmission oro-fécale n'ont jamais été documentées dans les pays industrialisés (génotypes 3 et 4) où l'approvisionnement en eau potable est généralisé.

Cependant, la voie d'infection par l'eau peut également être importante pour les génotypes 3 et 4. Il s'agit en général d'une transmission indirecte par utilisation d'eau contaminée.

L'utilisation de fumier de porc infecté ou d'eau contaminée par des déchets animaux pour l'épandage et l'irrigation des champs peut conduire à la contamination des produits cultivés (fruits et légumes) ou des coquillages qui sont cultivés dans des zones alimentées par les eaux de ruissellement.

Pour en arriver à cette certitude, il a été nécessaire de mettre en évidence la persistance d'un virus infectant dans le fumier. Aux États-Unis, l'ARN du génotype 3 du VHE a été détecté dans le fumier de porc prélevé dans les fermes. De plus, cette souche de VHE est restée infectante lors de l'inoculation chez des porcs naïfs [58].

D'autre part, il a fallu prouver que ces génotypes étaient retrouvés ensuite dans l'eau. Plusieurs études (tableau ci-dessous) vont dans ce sens en rapportant la détection des génotypes VHE 3 dans les eaux usées, indiquant que la contamination des milieux aquatiques (eaux usées et de surface) par cette voie est possible.

Un tableau résumant les études sur le sujet est présenté ci-dessous.

Pays	Types d'eau	Nombre total d'eaux	Nombre d'eau VHE + (PCR)		Génotype	Ref
Italie	Eaux usées brutes	21	1	4,80%	3	[59]
	Eaux usées traitées	21	0	0%		
	Eaux de surface	27	1	3,70%		
Pays-Bas	Eaux de surface	12	2	17%		[60]
Espagne	Eaux usées brutes	46	20	43,50%		[61]
Grèce	Eaux usées brutes	5	0	0%		
Etats Unis	Eaux usées brutes	5	1	20%		
France	Eaux usées brutes	4	1	25%		
Suède	Eaux usées brutes	4	0	0%		[62]
Slovénie	Eaux de surface	60	2	3.3 %		
Argentine	Eaux usées brutes	48	3	6.3 %		[63]
	Eaux de surface	31	1	3.2 %		
Colombie	Eau potable	30	7	23,30%		[64]
	Eaux usées	30	5	16,70%		

Enfin, les données de l'étude de Parashar [65] suggèrent que le VHE peut persister à long terme dans les eaux de l'environnement et dans le sol. En effet, l'étude consiste en l'incubation d'échantillon de sol enrichis avec une souche de VHE (6.47×10^7 copies/mL) issue de selles de patient infecté à température de l'environnement. Des PCR répétées ont observées une persistance du VHE pendant 9 semaines.

La conséquence est la contamination des produits cultivés (fruits et légumes) et de coquillages. Au Canada, en 2012, l'équipe de Brassard [66] a trouvé le génotype 3 du VHE dans des fraises (1/16 soit 6,25%) une heure après irrigation alors qu'aucun virus n'avait été trouvé avant l'irrigation. Cette souche partage 99% d'identité de séquence nucléotidique avec les souches VHE locales de porc.

Une autre étude de 2012, européenne [67] a montré que le VHE était présent dans 4,8% des laitues en phase de production et dans 3,2% des laitues en point de vente. Les auteurs ont aussi testé l'eau d'irrigation de ces laitues et ont trouvé la présence du VHE dans 5% des échantillons d'eau d'irrigation.

De plus, l'ARN du VHE a aussi été retrouvé dans les mollusques. Le tableau suivant reprend des études sur le sujet en fonction du type de mollusque :

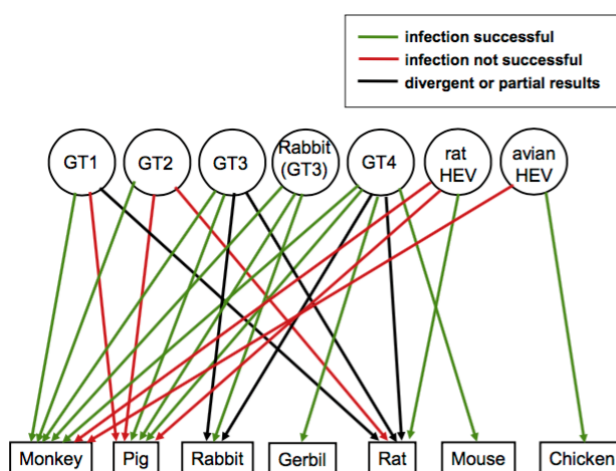
Mollusques	Nombre de mollusques VHE +		Génotypes	Pays	Réf
Moules	3 / 37	8,1 %	1	Italie	[68]
Huitres	14 / 161	8,7 %	3a	Corée	[69]
Palourdes asiatiques	2/32	6,3 %	3	Japon	[70]

Selon les différents auteurs, la présence de VHE dans les mollusques serait liée à une bioaccumulation du virus suite à la présence du virus dans l'eau. Le risque est plus élevé si les cultures de moules sont placées près de l'embouchure de la rivière. Les rivières peuvent être contaminées par l'eau de ruissellement des fermes porcines ou par les eaux usées. La question de l'implication des mollusques en tant que réservoir et en tant que vecteur de la maladie reste à étudier.

3.2. Transmission zoonotique

Dans les pays industrialisés, l'importance des réservoirs animaux est devenue évidente et l'hépatite E est considérée comme une maladie zoonotique. Les porcins ont été les premiers animaux impliqués et sont considérés comme les principaux réservoirs des génotypes 3 et 4 du VHE. La transmission de ces deux génotypes par la consommation de viande contaminée a été confirmée comme la principale cause de l'hépatite E sporadique dans les pays développés [71]. Afin d'affirmer le caractère zoonotique de l'infection à VHE, il a été démontré que les souches porcines de VHE génotype 3 peuvent infecter les primates et que les souches humaines de génotype 3 peuvent infecter les porcs [72].

Reimar Johne et al. [73] illustrent les études expérimentales d'infection croisée entre espèces :



Hepeviridae: An expanding family of vertebrate viruses, Reimar Johne et al. 2014 [73]

Les porcins ne sont pas les seuls réservoirs du VHE. La découverte du VHE chez de nouvelles espèces hôtes soulève toujours la question du potentiel zoonotique de ces nouvelles souches. La liste des espèces animales sensibles à l'infection par le VHE a connu une expansion rapide au cours des deux dernières décennies [74]. La liste est maintenant longue et continue à être complétée.

Dans notre travail nous proposons une revue de la littérature séparant les travaux pour lesquels :

- Le génome VHE a été retrouvé dans l'espèce animale
- Les études séro-épidémiologiques vétérinaires.

3.2.1. Espèces animales infectées par le VHE

On sait qu'un certain nombre d'animaux servent d'hôtes et de réservoirs naturels pour le VHE. Ce tableau fait le point sur les animaux en fonction de leur potentiel à constituer un réservoir d'infection humaine :

	<i>Primates</i>	<i>Le singe cynomolgus (Macaca fascicularis)</i> <i>Le macaque japonais (Macaca fuscata)</i>	[75] [76]	
Réservoir avéré	Suidés	Le sanglier et le porc domestique (<i>Sus scrofa</i>)	[72]	
	Dromadaire	<i>Camelus dromedarius</i>	[49], [77]	
	Cervidés	Le cerf élaphe (<i>Cervus elaphus</i>) Le cerf sika (<i>Cervus nippon</i>)	[78]	
		Le chevreuil (<i>Capreolus capreolus</i>) L'élan (<i>Alces alces</i>)	[79] [80]	
Réservoir potentiel	Léporidés	Le lapin d'élevage et le lapin sauvage (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	[81], [82]	
	Volailles	Le poulet (<i>Gallus gallus domesticus</i>)		
	Chauve-souris	Hipposideridae, Vespertilionidae et Phyllostomidae	[83]	
	Rongeurs	Le rat brun (<i>Rattus norvegicus</i>) Le rat noir (<i>Rattus rattus</i>) Le rat de coton (<i>Sigmodon hispidus</i>) Le grand rat Bandicote (<i>Bandicota indica</i>)	[84]	
		Soricomorpha	La musaraigne (<i>Suncus murinus</i>)	[85]
	Carnivores	La mangouste de Java (<i>Herpestes javanicus</i>) Le renard (<i>Vulpes vulpes</i>) Le furet (<i>Mustela putorius</i>) Le vison (<i>Neovison vison</i>)	[86] [87] [88] [89]	
		Poissons	La truite fardée (<i>Oncorhynchus clarkii</i>)	[90]

Avec l'utilisation intensive des techniques modernes de biologie moléculaire, on s'attend à ce que la liste des hôtes se développe et que de nouvelles souches de VHE soient identifiées à partir d'autres espèces animales.

3.2.1.1. Les réservoirs avérés

a. Les porcins

C'est en 1995 que l'ARN du VHE et des anticorps ont été détectés chez des porcs au Népal et ensuite aux États-Unis [91], [92]. Cette découverte chez le porc a soulevé des inquiétudes car dès lors, le VHE était considéré comme un virus potentiellement zoonotique.

Des études ont en effet, séquencé et comparé le génome partiel de souches porcines et humaines et ont démontré un degré élevé de similarité (entre 80 et 90%) [92].

Puis, des études plus approfondies sur le génome entier ont démontrées que la séquence génomique du VHE du porc différait sensiblement des génotypes 1 et 2 de l'homme connus à cette époque. La conséquence a été l'identification de deux autres génotypes : 3 et 4. Ces génotypes seront par la suite retrouvés chez l'homme [72] assurant le caractère zoonotique du VHE.

Il y a quelques années, deux génotypes supplémentaires (5 et 6) ont été suggérés pour le sanglier en raison de leur forte divergence avec les séquences VHE connues [93].

La distribution génotypique chez le porc suit également une distribution géographique particulière :

En Europe :

- Le génotype 3 est dominant chez les porcs européens et peut être trouvé presque partout dans le monde. En outre, il est le seul génotype détecté, jusqu'à présent, dans le sanglier européen et est responsable de presque toutes les infections humaines autochtones du VHE en Europe. (Plus de 85% en France selon le CNR VHE).
- Le génotype 4 a aussi été détecté chez les porcs européens [94]. Cela concernait des porcs en provenance d'Italie, de Belgique et du Danemark.

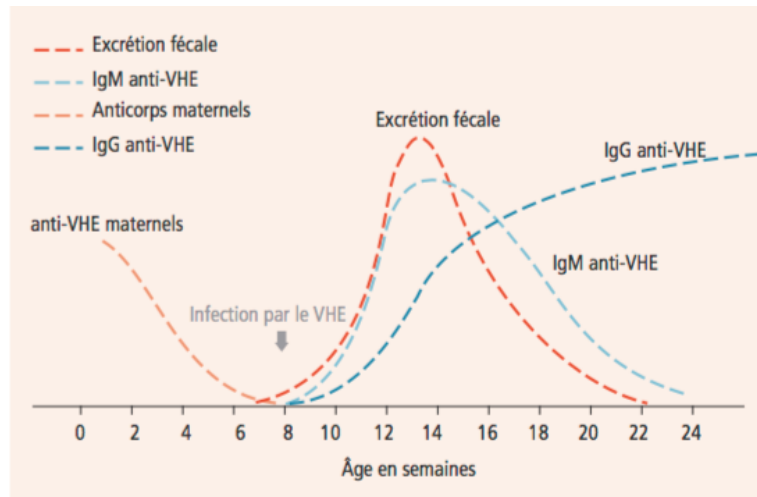
En Asie :

- En Chine : chez le porc chinois, on peut trouver à la fois le génotype 3 et 4 [95] bien que le génotype 4 soit le plus fréquent et la cause prédominante de l'hépatite E chez l'homme en Chine.
- Le génotype 4 peut également être détecté chez le porc dans d'autres pays asiatiques comme le Japon, l'Inde, l'Indonésie, la Corée et Taiwan.

Cependant, la mondialisation du commerce alimentaire rend difficile la compréhension de la répartition géographique des génotypes viraux du VHE.

Pavio et al. [96] de l'Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) résume les études au sujet de l'histoire naturelle de l'infection par le VHE chez le porc d'élevage. Chez ce dernier la voie d'infection est féco-orale, et la maladie est en général aussi asymptomatique mais peut induire des lésions hépatiques légères ou modérées et des adénopathies. Les porcs sont majoritairement infectés jeunes (autour de la 10^{ème} semaine de vie), lors du sevrage et de la chute du transfert de l'immunité maternelle. Quant à la cinétique de l'infection, les auteurs rapportent plusieurs éléments (résumés dans le schéma ci-après) :

- Un pic de virémie et une excrétion du virus se produit entre 2 et 4 mois d'âge.
- Les porcs infectés commencent à excréter dans les selles le virus environ une semaine après l'infection et ce pendant 3 semaines.
- L'ARN du virus peut être détecté dans le foie pendant 4 semaines à 3 mois.
- Le virus a également été détecté dans des échantillons musculaires (longissimus, biceps femoris, iliopsoas)



Hépatite E : nouvelles connaissances du côté animal. Nicole Pavio et al. 2010 [96]

L'excrétion dans les fèces est une voie d'infection importante pour les porcs, mais d'autres voies, comme l'urine, peuvent jouer un rôle important.

Compte tenu de l'histoire naturelle de l'infection par le VHE chez le porc, le risque d'exposition humaine par les produits du porc devrait être assez faible au moment de l'abattage. Cependant, Pavio et al. [96] reprennent plusieurs études qui ont démontré que les porcs en âge d'abattage peuvent encore être porteurs du virus.

Tout ce qui est décrit pour le porc est considéré comme transposable au sanglier puisqu'il s'agit de la même espèce.

b. Les cerfs et chevreuils

Le chevreuil, le cerf commun, le cerf sika et d'autres espèces de cerfs peuvent être infectés par le génotype 3. La séroprévalence varie entre 2 et 30%, tandis que la prévalence de l'ARN est d'environ 30%. La consommation de viande mal cuite a été incriminée dans des cas de contamination humaine.

3.2.1.2. Les réservoirs potentiels

a. Le lapin

En 2009, Zhao et al. [81] ont rapporté la découverte du VHE chez les lapins d'élevage (*Oryctolagus cuniculus*) en Chine. Plusieurs études sur la détection du VHE chez des lapins d'élevage ont suivies (Chine, Mongolie et Etats-Unis). En France, le VHE a également été détecté chez des lapins sauvages. Puis une souche de VHE chez un humain symptomatique a montré un degré élevé de similitude avec le VHE du lapin. Le virus VHE du lapin est aujourd'hui classé dans la famille Orthohepevirus A, génotype 3. Récemment le génotype 3 a été séparé en 3 clades (voir partie 2) dont un clade « rabbit », le 3ra. Le sous-type 3ra peut également infecter l'homme. Une étude française d'Abravanel et al. [97] en juillet 2017 montre

une prévalence de 0,5% (5/919) de génotype 3ra parmi les patients infectés par le VHE. Cependant le mode de contamination n'a pas été prouvée. Les lapins peuvent donc constituer un risque d'infection zoonotique chez l'homme.

b. Les chameaux

Une étude de Woo et al [53], en 2014 a mis en évidence une souche de VHE chez des chameaux. Après des analyses phylogénétiques, la dernière nomenclature classe le VHE du chameau dans l'espèce Orthohepevirus A mais crée un génotype à part, le génotype 7. Ce génotype a été décrit comme cause d'une hépatite E chez un transplanté hépatique. Ce patient consommait régulièrement de la viande et du lait de chameau. (Voir partie 2). D'autres études sont à effectuer.

c. Les chevaux

Le matériel génétique a été retrouvé chez 2% (étude chinoise) ou 4% (étude égyptienne) des chevaux. L'analyse phylogénétique a montré que ces souches :

- Étaient apparentées (97-100% d'identité nucléotidique) à des isolats humains égyptiens, pour l'étude égyptienne.
- Étaient de génotype 4 pour l'étude chinoise.

Ces données indiquent que les chevaux acquièrent une infection par le VHE et suggèrent que la transmission inter-espèces peut se produire. La question est de savoir si les chevaux sont susceptibles de jouer un rôle dans la transmission du VHE. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer cette observation et afin d'approfondir la question du potentiel zoonotique.

d. Les oiseaux

Le virus « VHE aviaire » est reconnu depuis longtemps comme l'agent causal d'une maladie du foie et de la rate chez les oiseaux ou syndrome de l'hépatite-splénomégalie, décrite à l'origine en Australie et plus tard sur d'autres continents [73].

Des études phylogénétiques ont montré que seulement 50% de la séquence aviaire est commune avec les souches VHE humaines et porcines. C'est la raison pour laquelle, dans la dernière nomenclature [49], le « VHE aviaire » est classé dans le genre Orthohepevirus mais est isolé dans une espèce à part : l'espèce Orthohepevirus B (voir partie 2). Reimar Johne et al [73] propose quant à lui que le virus « VHE aviaire » soit lui-même classé en 4 génotypes distincts. Hormis les poulets infectés, il a été montré que le « VHE aviaire » infectait les dindes dans des conditions expérimentales [98] et d'autres oiseaux sauvages [99] comme les pigeons, les grives et les hiboux. Par la suite, il a été important de déterminer si le « VHE aviaire » pouvait infecter les humains. Des expériences avec des singes non primates ont été réalisées [73]. Ces

expériences ont conclu que le « VHE aviaire » ne provoque pas de virémie ni de séroconversion chez les singes. Plus de 20 ans d'expérience sans détection du « VHE aviaire » chez l'homme donne une forte probabilité que les oiseaux ne sont probablement pas un réservoir.

e. Les chauve-souris

En 2012, l'équipe allemande de Drexler JF et al [83] retrouve le VHE dans différentes espèces de chauves-souris. Cette souche forme une branche phylogénétique distincte des souches VHE zoonotiques connues. La présence du VHE chez les chauves-souris semble peu fréquente, les humains et les chauves-souris sont rarement en contact et l'ingestion par les humains de matériel infecté par les chauves-souris est peu probable. Cependant, les chauves-souris de fruits (chauve-souris mangeant des fruits des arbres, comme la mangue), peuvent contaminer les fruits, avec la salive ou l'urine. Il s'agit ici simplement d'un raisonnement hypothétique puisque le virus VHE chez les chauves-souris est très différent des génotypes 1 à 4 et le risque d'exposition est probablement faible. En 2013 [100], les souches de VHE isolées chez la chauve-souris étaient classées dans un genre distinct : le genre *Chiropteranhepevirus*. Dans la dernière nomenclature, le VHE de la chauve-souris appartient à l'espèce *Orthohepevirus D* du genre *Orthohepevirus* et le genre *Chiropteranhepevirus* a été supprimé (voir partie 2).

f. Les rongeurs

Plusieurs espèces de rats peuvent être infectées par le VHE, mais principalement par une souche qui est éloignée des génotypes 1-4 et formant une branche distincte dans les arbres phylogénétiques. De plus, l'inoculation de cette souche à des singes macaques n'a pas provoquée d'hépatite E. Cependant, une étude de 2012 sur les rats aux Etats-Unis [101] a observée des rats infectés par le génotype 3 du VHE. Les rats pourraient donc constituer un risque zoonotique. Néanmoins, on ne sait pas si les rats peuvent être infectés par le génotype 4. Les furets peuvent être infectés par une souche du VHE qui se rapproche de la souche du VHE du rat. Cependant, la distance phylogénétique entre le VHE du rat et le VHE du furet est plus grande qu'entre les génotypes 1 et 2 des humains.

Dans la dernière nomenclature, le VHE du rat et du furet appartiennent à l'espèce *Orthohepevirus C* (génotype C1 pour le VHE du rat et C2 pour le VHE du furet) (voir partie 2). Le VHE trouvé dans le vison est également apparenté au VHE du furet et du rat. Comme pour le VHE chez le rat et le furet, la souche du vison est éloignée des génotypes 1-4.

3.2.1.3. Les carnivores

La mangouste est infectée par le VHE appartenant au génotype 3 et peut donc être considérée comme un virus zoonotique [86]. Aucun cas humain dû à une infection par la mangouste n'a été décrit. Ceci s'explique peut-être par le fait que les humains et la mangouste se rapprochent

rarement les uns des autres, et que le risque d'ingestion orale de matériel infecté par une mangouste par un humain semble assez faible. On ne sait pas si la mangouste peut également être infectée par le génotype 4.

Chez le renard, le VHE a été retrouvé uniquement dans les fèces et pourrait donc provenir d'un animal qui a été mangé par le renard. D'autres études sont nécessaires.

3.2.1.4. *Les herbacés : les élans*

Les élans seraient fréquemment infectés par le VHE selon l'étude de Lin et al [102]. Cependant, l'élan est infecté par des souches de VHE distantes des génotypes 1 à 4. Pour l'instant, il n'existe aucune preuve que ce virus puisse être zoonotique. De plus, l'élan est traditionnellement chassé et la viande est mangée, mais pas le foie. Cela peut contribuer à réduire le risque d'infections humaines.

3.2.1.5. *Les poissons (la truite fardée)*

Les américains William Batts et al en 2011 [90] ont décrit la présence du VHE chez les truites fardées. La nouvelle nomenclature classe cette souche dans un genre différent des Orthohepeviridae qui est le genre Piscihepevirus. (Voir partie 2).

3.2.2. Etude des séroprévalences dans les populations animales

De nombreuses études de séroprévalence ont été conduites en particulier dans des populations d'animaux d'élevage ou de compagnie. C'est le cas des bovins, des moutons, des chèvres, des chiens, des chats, des chevaux et des dromadaires. Une liste d'espèce où des anticorps anti-VHE ont été détectés est proposée :

D'élevage	Bovins	Le bétail (<i>Bos taurus</i>) Le yak (<i>Bos grunniens</i>)	[100]
	Mouton	<i>Ovis aries</i>	
	Chèvre	<i>Capra aegagrus</i>	[100], [103]
	Cheval	<i>Equus caballus</i>	[104]
De compagnie	Chien Chats	<i>Canis lupus</i>	[105] [69], [106]
Sauvages	Ours noir d'Asie	<i>Selenarctos thibetanus</i>	[107]
	Panthère nébuleuse	<i>Neofelis nebulosa</i>	

3.2.2.1. *Les ruminants (bovins, ovins et caprins)*

Les souches de VHE des ruminants n'ont pas encore été isolées. Les résultats des études sur les séroprévalences anti-VHE sont hétérogènes. Le tableau suivant résume les différents résultats :

	Egypte [100]	Inde [100]	Brésil [100]	Chine [100]	Espagne [108]
Bovins	11-14%	4,4 à 6,9%	1,4%	6-93%	
Ovins	4,4 %		0 %	0-12%	1,92 %
Caprins	9,4 %	0 %	0 %	0-10 %	0,60 %

Malgré ces preuves sérologiques abondantes, l'identification génétique définitive du VHE fait toujours défaut. Les hypothèses sont :

- La souche portée par les ruminants est génétiquement très différente des souches connues conduisant ainsi à l'échec de l'identification génétique du virus avec les techniques actuelles.
- La présence de réactions sérologiques non spécifiques. En effet, la validité des données sérologiques a été remise en question en raison du fait que les tests utilisés peuvent ne pas être spécifiques et mettre plutôt en évidence une réactivité croisée avec des protéines non virales.

La recherche dans ce domaine doit continuer à mieux répondre à ces préoccupations et confirmer la source de séropositivité anti-VHE chez les ruminants. Étant donné la large utilisation des bovins, des moutons et des chèvres dans la chaîne alimentaire humaine, l'identification génétique de souches VHE chez les ruminants pouvant infecter l'homme constituerait un problème potentiel de santé publique.

3.2.2.2. *Les animaux de compagnie (chiens et chats)*

Une étude au Royaume-Uni [105] trouve une séroprévalence anti-VHE chez le chien de 0,8% avec une séroprévalence humaine d'environ 13% dans ce pays. Dans d'autres pays où la séroprévalence anti-VHE humaine est plus importante, celle des chiens l'est également. Par exemple, en Chine la séroprévalence humaine est maximum de 25% selon les études et celle des chiens est maximum de 29% [106]. Selon les résultats de cette étude la séroprévalence canine est différente en fonction de la ville (voir tableau suivant).

City	No. of serum samples	No. of positive serum samples	Analysis positive rate(%)
Shenzhen	99	6	6.06
Macao	63	9	14.29
Canton	134	25	18.66
Shanghai	120	28	23.33
Beijing	242	71	29.34

Hepatitis E Virus Serosurvey among Pet Dogs and Cats in Several Developed Cities in China,
Huanbin Liang [106]

Selon cette même étude chinoise, la séroprévalence serait de 4% chez les chats nourris par de la nourriture pour chats et de 18% pour les chats omnivores. Une étude espagnole [108] et une étude japonaise [109] retrouve une séroprévalence chez les chats de 11,1% et 33% respectivement.

A ce jour, que ce soit chez le chien ou chez le chat aucune souche n'a été isolée par technique génétique.

3.2.2.3. Les chevaux

La séroprévalence chez les chevaux a été estimée autour de 13% dans une étude égyptienne [104] et autour de 16% dans une étude chinoise [99].

En 2010, l'institut de veille sanitaire a résumé la séroprévalence IgG anti VHE chez les animaux potentiellement réservoirs dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 Réservoirs animaux potentiels du virus de l'hépatite E / <i>Table 1 Possible animal reservoirs of Hepatitis E virus</i>		
Animaux	Pays	Séroprévalence %
Porc	Monde	30-80
Sangliers	Japon, France, Allemagne, Italie, Espagne, Hongrie	5-42
Cervidés	Japon, Hongrie	2,6
Lapin	Chine	57
Rat	Inde, Brésil, USA	50-80
Mangouste	Japon	8,3
Cheval	Chine, Egypte	13-16,3
Chat	Japon, Espagne	11,1-33
Chien	Brésil, Chine	7-17,8
Mouton	Chine, Espagne	1,9
Chèvre	Chine, Espagne	0,6-24
Bovin	Brésil, Chine, Inde	1,42-6,9
Poulet	USA, Australie, Hongrie	20-30
Canard	Chine	12,8

Hépatite E : nouvelles connaissances du côté animal. Nicole Pavio et al. 2010 [96]

3.2.3. Les différentes voies de contamination zoonotique

Le Centre National de Référence du VHE résume l'état actuel des connaissances sur la transmission zoonotique par ce tableau :

Aliments souillés	Eau.	Confirmé : transmission fréquente en zone d'endémie, dispositif d'assainissement insuffisant, à l'origine d'importantes épidémies.
	Légumes et fruits contaminés par contact avec une eau souillée (irrigation, lavage).	Suspecté : cas rapportés en zone d'endémie.
	Coquillages.	Suspecté : suspicion épidémiologique de lien avec la consommation de coquillages lors d'une TIAC sur un bateau de croisière en Méditerranée ; VHE mis en évidence dans des coquillages au Japon.
Aliments produits à partir d'animaux réservoirs du virus	Viande et abats de sanglier , notamment la fressure (cœur, rate, foie, poumons) souvent consommée presque crue.	Confirmé : cas documentés au Japon (viande crue ou peu cuite).
	Viande et abats de cerf , notamment la fressure (cœur, rate, foie, poumons) souvent consommée presque crue.	Confirmé : cas documentés au Japon (viande crue ou peu cuite).
	Produits à base de foie cru de porc destinés à être consommés cuits mais consommés crus par certains consommateurs (saucisses de foie et foies secs).	Confirmé : cas documentés en France (saucisses de foie cru de porc mi sèche de type figatelli). (plan de surveillance national en cours sur tous ces produits).
	Produits à base de foie de porc peu cuits destinés à être consommés cuits mais consommés crus par certains consommateurs (quenelles de foie...).	
	Produits à base de foie cru de porc consommés crus (saucisses de foie séchées, fumées...).	
	Autre charcuterie crue à base de muscle à consommer cuite (lardons...) et à consommer crue (jambons crus et/ou secs, saucisses à tartiner, longanisse, soubresade, saucisson, rosette et chorizo...).	Théorique : pas de cas cliniques rapportés à ce jour mais mise en évidence du virus dans les muscles dans des conditions expérimentales.
Porcs, cerfs et sangliers	Contamination manu portée liée à une hygiène des mains insuffisante, par contact direct ou indirect avec les animaux vivants ou leurs carcasses. Concerne particulièrement les chasseurs, les personnes travaillant dans les abattoirs, éleveurs et vétérinaires.	Suspecté sur la base d'études mettant en évidence une séroprévalence élevée dans ces populations, car le taux de séroprévalence anti-VHE semble supérieur dans le corps de métiers en rapport avec l'industrie porcine ¹ .

3.2.3.1. Contamination par consommation de viande

a. Les preuves de la contamination

La voie de transmission zoonotique majoritaire est celle de l'alimentation. Ce mode de transmission est depuis longtemps suggéré mais avant 2003 cette hypothèse était basée uniquement sur des preuves indirectes.

Depuis 2003 et l'étude japonaise [110], il existe des preuves évidentes reliant des infections à VHE à la consommation d'aliments contaminés. Il s'agit de quatre cas d'hépatite E qui ont été directement liés à la consommation de viande de cerf [110]. La même année, au Japon toujours, plusieurs cas d'hépatite E aiguë ont été attribués à la consommation de foie de porc non cuit

[111] ou de viande de sanglier[112].

Ensuite, des cas d'hépatite E aiguës ont été décrits, en France, après consommation de saucisse traditionnelle Corse de foie de porc cru (le figatelli) [7], [113] et après consommation de porcelet grillé et farci au foie de porc [114] et en Italie après consommation de figatelli [115]. La séquence du VHE trouvée dans la viande est toujours liée génétiquement à celle présente chez le patient l'ayant ingéré. D'autres études en France et en Italie, trouvent des souches de VHE qui restent infectieuses dans des saucisses de foie de porc. Ceci est un argument supplémentaire pour l'hypothèse que la consommation de produits contenant du foie de porc peut être un facteur de risque d'infection pour l'homme [116].

Une difficulté d'investigation de ce mode de contamination est liée à ce que le temps d'incubation de la maladie est long, de 3 à 8 semaines (moyenne de 40 jours), ce qui crée des difficultés pour prouver un lien de causalité. En effet, dans de nombreux cas les aliments ont été entièrement consommés ou jetés lorsque les symptômes cliniques apparaissent pour la première fois chez le consommateur.

D'autres études ont observé la présence du VHE dans les aliments contenant du porc de 1 à 11% selon le pays (Japon, Pays-Bas, Inde, Corée du Sud et Etats-Unis). Une étude conduite en France [117] révèle une prévalence élevée du VHE dans les produits de charcuterie préparés à partir de foie cru de porc (30% dans les produits de type figatelli). Compte tenu d'une prévalence individuelle de foies infectés de l'ordre de 4%, il semble très difficile de constituer des mélanges de foies indemnes pour la préparation de ces produits. Des solutions de traitement des foies sont donc nécessaires.

b. Les recommandations de préparations des viandes

Le VHE est un virus entérique non enveloppé, il est donc résistant dans le milieu extérieur.

Le VHE reste viable après un chauffage à 56°C pendant 1 h et il reste même infectieux jusqu'à 60°C.

Une étude française de 2014 de Barnaud et al [58] a étudié la stabilité et l'infectiosité du VHE à la chaleur. Trois températures utilisées en pratique par l'industrie sont étudiées (62°C, 68°C et 71°C) pendant trois temps (5, 10 et 20 minutes). Les auteurs observent que la plus faible réduction de charge virale est obtenue avec la combinaison (62°C, 5min) alors que la plus forte réduction de charge virale est obtenue avec la combinaison (71°C, 20min). Puis les auteurs ont inoculé des produits inactivés pendant 20min à 71°C à des porcs et aucune infection par le VHE n'a été observée.

Le CNR VHE et l'HAS (Haute Autorité de Santé) recommandent également cette combinaison. L'HAS a évalué l'impact des procédés de transformation (traitement thermique et séchage) sur

la survie du VHE dans les produits fabriqués à base de foie de porc cru qui :

- Sont cuits par le professionnel (saucisses au foie d'Alsace ou saucisson de foie d'Alsace,
- Sont cuits par le consommateur (saucisses fraîches de foie du Sud-Ouest)
- Sont consommés crus (figatelli, saucisses de foie séchées, foie salé séché).

Un traitement thermique à 71°C à cœur pendant 5 minutes est recommandé pour la décontamination des mêlées de foie de porc, et pendant 20 minutes pour les matrices complexes comme celle des figatelli. Colson et al [7] arrive aux mêmes conclusions sur la cuisson du figatelli en particulier. Enfin, l'HAS rappelle que « Le séchage pratiqué par les fabricants de produits à base de foie cru ne peut être considéré comme efficace sur l'inactivation du VHE. »

3.2.3.2. Contamination par consommation de lait de vache

En 2016, Huang et al. [118] a collecté des échantillons de selles et de lait de 140 vaches en Chine. 52 (37%) avaient un échantillon de selle positif pour l'ARN VHE. Parmi ces 52 vaches, des échantillons de lait ont été testés pour 6 d'entre elles. Tous les échantillons de lait étaient positifs pour l'ARN VHE. Le même génotype a été retrouvé dans les selles et dans le lait, le génotype 4h similaire aux souches infectants les humains et les porcs de cette région de la Chine. Ensuite les auteurs ont inoculé les souches retrouvées dans le lait à des macaques afin d'en évaluer l'infectiosité. Le lait cru et le lait pasteurisé contaminé par le VHE ont entraîné tous les deux une infection active chez les macaques. Par contre, une courte période d'ébullition (3 minutes à 100°C) semble inactiver complètement le virus dans le lait. Cette étude est importante car le lait de vache semble être une nouvelle source zoonotique d'infection par le VHE.

3.2.3.3. Contact direct avec l'animal

L'exposition par contact aux animaux infectés conduit à un risque élevé de transmission du VHE chez l'homme.

En Espagne [119], en Chine, en Thaïlande, aux Pays-Bas, en Suède, en Moldavie et aux États-Unis, les personnes travaillant avec des porcs, comme les vétérinaires, les éleveurs et le personnel des abattoirs, étaient également plus susceptibles d'être séropositifs pour le VHE. [100]. En Allemagne, un risque accru (1,5 à 3,5 fois plus) d'infection par le VHE a été démontré uniquement chez les employés des abattoirs de porc ; la même étude ne trouve pas de séroprévalence plus importante chez les vétérinaires et les éleveurs. Alors que d'autres études trouvent que seuls les vétérinaires ont une susceptibilité (1,5 à 3,5 fois) plus importantes d'être séropositifs anti-VHE [120].

Dans l'ensemble, on sait que les porcs sont un réservoir majeur pour le VHE et le contact avec les porcs est la voie la plus largement reconnue pour l'exposition professionnelle au VHE.

Cependant, il existe une multitude de nouvelles espèces animales chez qui des souches de VHE ont été isolées. Des études doivent donc être menées pour déterminer si le contact avec ces animaux peut être une voie de transmission du virus.

Par exemple, au Danemark, il a été prouvé que les fermiers en contact avec les chevaux sont significativement plus souvent séropositifs (IgG anti VHE) que la population « non contact » [121].

Enfin, la question de la transmission par contact avec un animal domestique se pose. Une étude japonaise de Kuno A et al. [122] rapporte un cas d'hépatite E aigue chez un patient de 47 ans. Selon les auteurs la seule voie de transmission possible serait le contact avec le chat du patient chez qui la sérologie IgG est positive. Le matériel génétique n'a pas été retrouvé chez le chat. En France, Renou et al. en 2007 a signalé un possible cas de transmission de VHE d'un cochon de compagnie à son propriétaire. En effet, l'isolement du virus avec des séquences VHE apparentées du patient et de son porc de compagnie suggère que la voie de transmission la plus probable était du porc à l'homme par contact (changement de la litière).

4. Transmission interhumaine

4.1. Transmission de la mère à l'enfant

4.1.1. Transmission materno-foetale

La transmission du VHE de la mère à l'enfant de femmes enceintes infectées a été signalée depuis le milieu des années 1980. Une étude historique publiée par Khuroo et al en 1995 [123] a été la première à observer la transmission verticale du VHE à l'aide de méthodes sérologiques et moléculaires. Sur 8 nourrissons dont la mère avait des marqueurs sérologiques d'une infection par le VHE avant l'accouchement, 6 (75%) d'entre eux avaient des signes d'infection par l'hépatite E et 5 (63%) de ces nourrissons présentaient des niveaux d'ARN VHE détectables dans le sang de cordon.

La transmission verticale du virus de l'hépatite E a depuis été documentée dans de nombreuses zones endémiques. Il existe un taux d'incidence très élevé de transmission verticale chez les femmes enceintes infectées par le VHE. Les taux documentés de transmission verticale du VHE sont représentés dans le tableau ci-dessous. Ces taux sont variables mais sont élevés ce qui souligne l'importance de la transmission verticale de l'infection par le VHE.

	Inde				Emirats Arabes Unis
Taux de transmission	33 %	50 %	70 %	79 %	100 %
Nombre de patientes	62	60	8	26	91
Année d'étude	2001-2002	1997-1998	1995	2008	1999
Référence	[124]	[125]	[123]	[126]	[127]

À ce jour, la transmission verticale du VHE de la mère au fœtus n'a été associée qu'aux infections par le VHE de génotype strictement humain (essentiellement le génotype 1), et il n'y a eu aucun signalement de transmission verticale des infections du génotype 3 ou 4 du VHE. Cependant, en 2015, la transmission verticale du génotype 3 a été démontrée expérimentalement chez des lapines gravides qui ont été infectées avec le VHE du lapin (classé maintenant en génotype 3). Ceci suggère la capacité potentielle du VHE de génotype 3 à être transmis de la mère au fœtus [128].

Pour rappel, chez les femmes enceintes, les conséquences d'une infection par le VHE de génotypes 1 et 2 peuvent être désastreuses avec une mortalité élevée (15 à 25 %) principalement au troisième trimestre. De plus, les infections par le VHE pendant la grossesse peuvent entraîner également des anomalies congénitales, un avortement spontané et même la mort. (Voir partie 5).

4.1.2. Transmission par le lait maternel

Une étude espagnole de mars 2016 de Riviero-Juarez et al. rapporte un cas de détection du VHE dans le lait maternel d'une femme [129]. Il s'agit d'une femme de 34 ans qui consulte pour fièvre, fatigue et perte d'appétit. Après une batterie de test, une sérologie anti-VHE négative et une virémie VHE à 31 324 IU/mL signent une hépatite E aigue. Cette femme allaitait son garçon de 18 mois. L'équipe médicale a arrêté l'allaitement et a prélevé le lait afin de le tester par RT-PCR.

Les résultats sont les suivants :

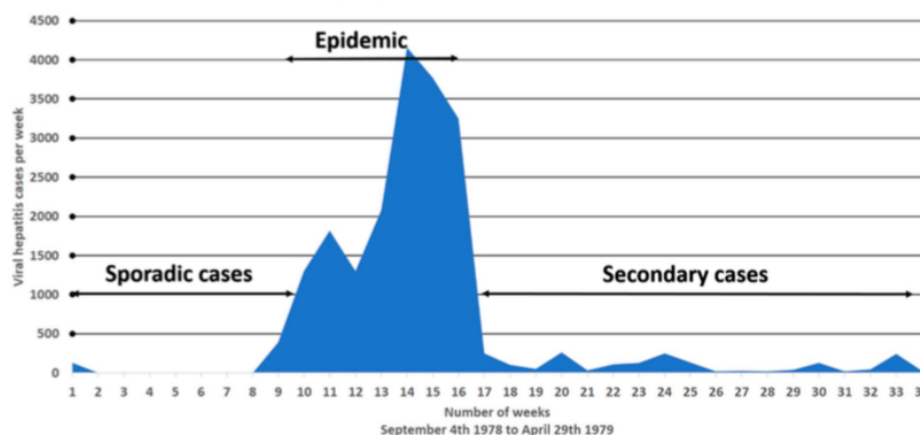
Sample	Oct 22, 2015	Nov 9, 2015	Nov 30, 2015	Dec 18, 2015
Blood	31,324 IU/mL	2,130 IU/mL	670 IU/mL	Negative
Milk	-	1,930 IU/mL	500 IU/mL	Negative

Les données suggèrent une corrélation des taux entre le sang et le lait ainsi qu'une corrélation de l'élimination du virus dans les deux liquides. Cet article est important car il prouve la présence du VHE dans le lait maternel qui pourrait donc être une voie de transmission de l'hépatite E. Des études complémentaires sont nécessaires afin de déterminer le pouvoir infectant du virus dans ce liquide.

4.2. Transmission de personne à personne

La transmission du VHE par contact de personne à personne, causant des épidémies, a été

controversée. Les épidémies d'hépatite E ne sont pas suivies de vagues secondaires d'infection [130].



Par conséquent, les spécialistes estiment que la transmission de personne à personne n'est pas la règle. Par contre d'autres études démontrent qu'il est possible que le partage familial de récipients d'eau pour le lavage des mains permette la contamination lors d'une épidémie [130].

4.3. Transmission nosocomiale

La transmission nosocomiale des infections par le VHE est considérée comme inhabituelle et la plupart des professionnels de la santé et des patients hospitalisés n'ont pas un risque élevé de contracter le virus. Cependant, plusieurs études portant sur la transmission de l'infection par le VHE dans les unités d'hémodialyse observent des épidémies d'hépatite E chez les patients hospitalisés et les travailleurs de la santé [130]. Cependant, ce ne sont que des études sérologiques et aucune ne prouve un lien par des analyses phylogénétiques.

4.4. Transmission sexuelle

Il n'existe aucune preuve directe que le VHE soit transmis par contact sexuel. Cependant, plusieurs études ont montré une plus grande séroprévalence des IgG anti-HEV chez les hommes homosexuels et les personnes infectées par le VIH [130].

4.5. Transmission par des produits d'origine humaine utilisés en thérapeutique

4.5.1. Transmission par transplantation d'organes

Un cas de transmission du VHE dans une allogreffe hépatique a été décrit par Schlosser et al. en 2012 [131]. Après la transplantation, les anticorps IgG et IgM anti-HEV et l'ARN du VHE ont été détectés dans le sérum du receveur alors qu'avant la transplantation la sérologie et la charge virale étaient négatives. Les mêmes recherches sur un échantillon de sérum du donneur donnent un résultat négatif. Cependant l'ARN du VHE est positif dans le tissu hépatique du donneur. Enfin, les analyses phylogénétiques identifient la même souche chez le receveur et

chez le donneur (génotype 3). Ainsi, cette étude confirme la transmission du VHE par un transplant de foie infecté et révèle également que le VHE peut persister dans le tissu hépatique malgré une sérologie négative. Cette observation peut illustrer l'entité physiopathologique d'hépatite E occulte qui est peu décrite chez l'humain mais connu chez l'animal [121].

C'est en 2017 que Pourbaix et al. [132] publie les deux premiers cas de transmission du VHE par une transplantation rénale. Le premier cas est un homme de 66 ans transplanté en 2013. 9 mois après cette transplantation le patient présente une sérologie anti-VHE négative et une virémie VHE positive à 6.56 log IU/mL, génotype 3f. Après deux mois de traitement l'ARN VHE est indétectable. Le deuxième cas est un homme de 65 ans. 11 mois après la transplantation rénale, l'ARN VHE est détecté (6.78 log IU/mL) dans le sang du patient, le génotype est aussi 3f.

Le donneur est le même pour les deux receveurs, c'est un homme de 73 ans, mort d'une hémorragie cérébrale. Les analyses rétrospectives ont démontré que ces deux receveurs ont été contaminés par le greffon de ce donneur. En effet, dans le prélèvement sanguin du donneur l'ARN VHE est détecté à 6.46 log IU/mL et les analyses phylogénétiques montrent une homologie de séquence de 100% entre les 3 souches (sur deux régions : ORF-2 et RdRp).

Pas de cas publiés à l'heure actuelle pour les transplantations cardiaques et pulmonaires (mai 2017).

Il est important de noter que les patients dont l'indication de transplantation d'organes est posée ne sont pas systématiquement testées pour l'infection par le VHE. Maintenant que la transmission du VHE par transplantation d'organe solide a été confirmée, la question du dépistage systématique du VHE chez les donneurs d'organes et chez les receveurs trouve sa pertinence.

4.5.2. Transmission par les produits sanguins labiles (PSL)

Des cas de transmission du VHE par les PSL ont été largement publiés. Tous les PSL sont incriminés.

Nous essayons de dresser le bilan plus exhaustif possible de la situation dans la partie 8 de ce travail, traitant du risque transfusionnel du VHE.

Partie 4 : Physiopathologie du VHE

Le VHE a longtemps été considéré comme un virus très difficile à cultiver in vitro.

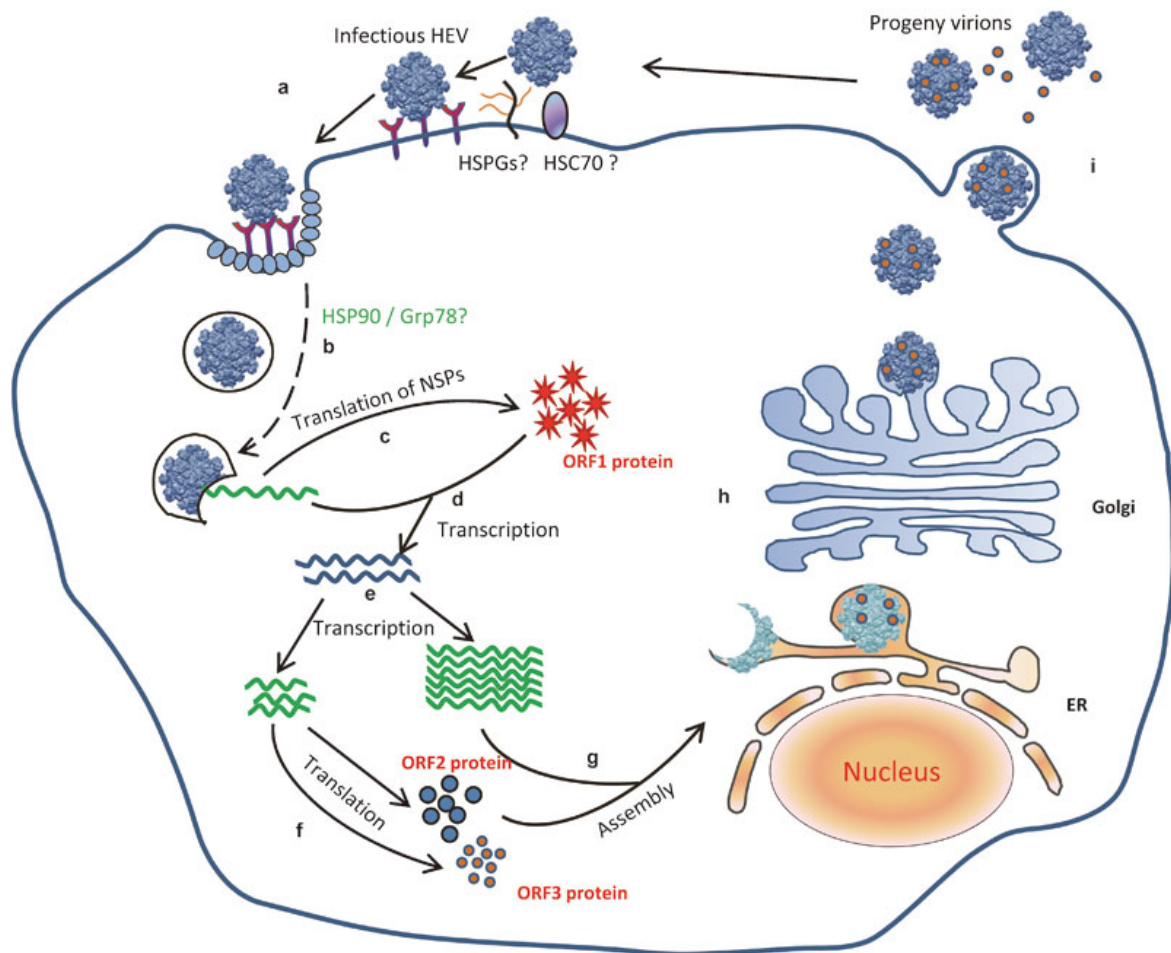
Néanmoins, des équipes réussissent à cultiver des souches de VHE. Le tableau ci-dessous est un résumé de la littérature à ce sujet.

Equipes	Génotype	Lignées cellulaires	
Tanaka et al., 2007 [133] Tanaka et al., 2009 [134]	3 et 4	PLC/PRF/5	Cellules d'hépatocarcinome humain
		A549	Cellules de cancer du poumon humain
Takahashi et al., 2010 [135]	1, 3 et 4	PLC/PRF/5 et A549	
Shukla et al., 2011 [136]	3	HepG2/C3A	Cellules d'hépatocarcinome humain
		LLC-PK1	Cellules rénales de porc

Enfin, Shukla et al. [136] rapporte qu'une souche de VHE-3 a pu infecter les cellules suivantes mais sans préciser si le virus a réussi à se reproduire :

- Huh-7 (cellules de l'hépatome humain),
- Caco-2 (cellules cancéreuses du colon humain),
- 3 types de cellules de cerveau de porc,
- Cellules de foie de cerf, de poulet, de singe, de vache, de souris, de cerf, de poulet, de chat, de chien et de lapin (l'auteur n'a pas fourni de nom spécifique aux cellules).

Même si les systèmes de culture cellulaire ne sont pas très robustes, le cycle d'infectiosité du VHE est de mieux en mieux compris. L'étude de Cao et al. de 2012 [137] résume les éléments du cycle qui sont connus dans un schéma (voir ci-dessous). Ce cycle a été actualisé en 2016 par Xin Yin et al [5] en essayant de mieux comprendre l'apport de l'enveloppe du virus circulant dans le sang.



Molecular biology and replication of hepatitis E virus. Dianjun Cao et al. 2012 [137]

1. Fixation et entrée du virus dans la cellule cible

1.1. Les différentes cellules cibles

L'hépatocyte est la cellule cible majoritaire mais d'autres organes ou tissus ont été décrits comme cible d'une réplication virale du VHE.

Williams et al. [138] ont observé une réplication du VHE dans les ganglions lymphatiques, la rate et l'intestin et Bose et al. [139] dans le placenta.

1.2. Fixation du VHE sur la cellules cible

Les virions VHE non enveloppés (VHE) acquis par voie orale, entrent dans le flux sanguin par un mécanisme inconnu. Le site principal de fixation et de réplication du VHE est l'hépatocyte. Xin Yin et al [5] suggèrent que compte tenu des différences entre le virus non enveloppé (VHE) et le virus « quasi enveloppé » (eVHE), il est probable que les deux formes utilisent différents mécanismes pour entrer dans les cellules cibles :

- Pour les formes non enveloppées du virus, la fixation cellulaire initiale (étape a du schéma ci-dessus) se ferait entre la protéine de capsid codée par ORF2 et un médiateur cellulaire qui peut être :
 - « Heparin Sulfate Proteoglycans » (HSPGs), qui sont exprimés à la surface de nombreux types de cellules et impliqués dans la fixation des virus enveloppés et non enveloppés.
 - « Protéine de choc thermique 70 » (HSC70)
- Pour les formes « quasi-enveloppées » du virus (eVHE) la fixation aurait lieu par une autre voie. Par contre, cette dernière serait moins efficace par rapport à celle des virions non enveloppés. En accord avec cette observation, Xin Yin et al [5] précise que le eVHE est moins infectieux que le virus fécal (VHE), qui n'est pas enveloppé.

Néanmoins Cao et al. [137] rappelle qu'à l'heure actuelle un récepteur cellulaire spécifique pour VHE n'a toujours pas été identifié.

1.3. Entrée du VHE dans la cellule cible

Sur le schéma, l'étape b correspond à l'entrée du virus dans la cellule. La protéine de choc thermique 90 (Heat Shock cognate Protein 90 : HSP90) et la protéine Grp78 (Glucose-regulated protein 78) seraient impliqués dans ce transport.

2. Multiplication intracellulaire du VHE

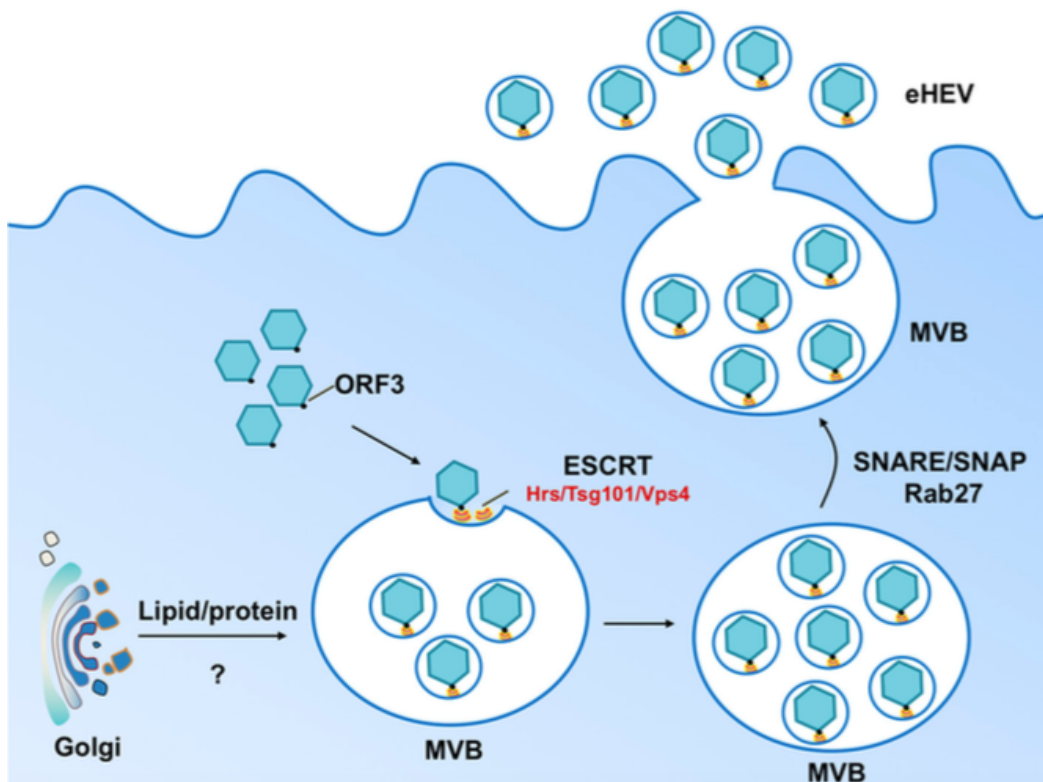
2.1. Réplication virale

- Etape c : La « cap » est enlevée et l'ARN génomique à sens positif est libéré dans le cytoplasme de la cellule. La localisation ainsi que les mécanismes aboutissant à cette décapsidation sont inconnus. Cet ARN sert de modèle pour traduire la polyprotéine non structurale ORF1 (NSP : Non Structural Proteins) dans le cytoplasme.
- Etape d : La polymérase virale (RdRp) ainsi traduite synthétise un ARN intermédiaire à sens négatif à partir de l'ARN génomique à sens positif.
- Etape e : Cet ARN intermédiaire sert de modèle pour la production d'ARN à sens positif et de l'ARN subgénomique bicistronique à sens positif.
- Etape f : Les protéines codées par ORF2 et ORF3 sont traduites à partir de l'ARN subgénomique bicistronique.
- Etape g : La protéine de capsid ORF2 s'assemble à l'ARN viral génomique pour former de nouveaux virions. Les virions naissants sont transportés vers la membrane cellulaire. La protéine ORF3 facilite le trafic des virions naissants qui sont alors libérés des cellules infectées.

Pour finir, Tanaka et al [133] a montré in vitro que le VHE n'est pas cytolitique. Les lésions hépatiques pourraient donc être liées à la réponse immunitaire comme cela a été montré pour d'autres virus des hépatites.

2.2. Synthèse de l'enveloppe du eVHE « quasi-enveloppé »

Le mécanisme de synthèse de l'enveloppe nécessaire au eVHE a été décrit par Xin Yin et al. en 2016 [5] (voir schéma ci-dessous) :



Role of Envelopment in the HEV Life Cycle, Xin Yin et al, 2016 [5]

La protéine pORF3 interagit avec :

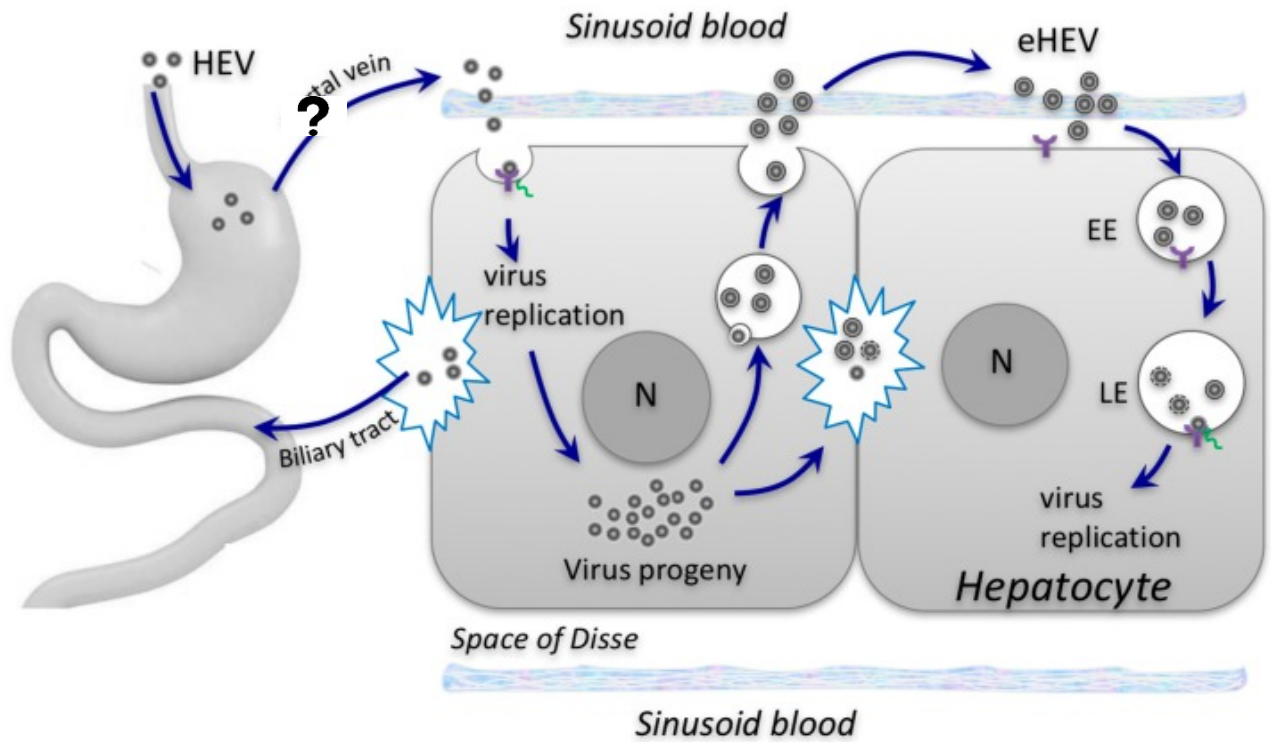
- La protéine du gène de susceptibilité tumorale 101 (Tsg101 : tumor susceptibility gene 101 protein) qui est un composant des complexes de tri cellulaire endosomal (ESCRT). Cette machinerie est impliquée dans le bourgeonnement de nombreux virus enveloppés (Virus de l'Immunodéficience Humaine, virus Ebola...)
- Et avec la capside virale

Cette liaison dirige le virion dans les corps multivésiculaires (MVB : MultiVesicular Bodies). Les eVHE sont ensuite libérés à l'extérieur de la cellule après fusion de la membrane des MVB et de la membrane plasmique. Ce processus serait régulé par Rab27 (de la superfamille des GTPase : Ras qui sont impliqués dans la régulation du transport vésical) et SNARE / SNAP (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF) Attachment protein REceptor / soluble NSF Attachment Protein).

3. Sortie des virions

D'après Xin Yin et al. [5], les virions VHE sont libérés :

- Des côtés basolatéraux (sinusoïdaux) des hépatocytes dans la circulation sanguine en tant que virions quasi enveloppés (eVHE).
- Du côté apical des hépatocytes en tant que virions non enveloppés et plus infectieux et sont excrétés par les voies biliaires dans les excréments.



Role of Envelopment in the HEV Life Cycle, Xin Yin et al, 2016 [5]

Partie 5 : Clinique et thérapeutique du VHE

L'hépatite E est actuellement la première cause d'hépatite aiguë virale dans le monde, y compris dans les pays industrialisés [140]. Bien que la plupart des cas d'hépatite E aiguës soient asymptomatiques ou paucisymptomatiques, les manifestations cliniques de l'hépatite E sont semblables à celles des autres hépatites virales.

De manière schématique, la description des manifestations cliniques peut être différenciée en deux groupes selon le génotype (génotypes 1+2 et génotypes 3+4). Ces deux groupes partageant aussi des caractéristiques épidémiologiques. En effet, les génotypes 1 et 2, strictement humains, de transmission oro-fécale dans les pays en voie de développement provoquent des hépatites aiguës asymptomatiques ou symptomatiques voire graves notamment chez la femme enceinte. Et les génotypes 3 et 4, de transmission zoonotique provoquent des hépatites aiguës essentiellement asymptomatiques mais peuvent également donner des infections chroniques, graves voire des formes extra-hépatiques.

1. Clinique

La période d'incubation de l'infection par le VHE varie de 2 à 6 semaines [56]. L'infection dure de 4 à 6 semaines et se déroule en plusieurs phases :

- Une phase pré-ictérique durant de 1 à 27 jours, marquée par une symptomatologie principalement digestive (douleurs abdominales, nausées, vomissements).
- Une phase ictérique durant de 10 à 24 jours, brutale, marquée par l'apparition d'un ictère, des urines foncées et des selles décolorées. Une cytolyse hépatique se produit avec un taux d'alanine aminotransférase (ALT) pouvant augmenter jusqu'à 40 fois la normale. En revanche, certains patients, même pendant la période virémique, ne montrent que des taux d'ALAT légèrement élevés ou même complètement normaux.
- L'évolution est le plus souvent favorable dans un délai de 3 à 5 semaines.

1.1. Tableaux cliniques associés aux génotypes 1 et 2

1.1.1. Hépatite E aiguë

Dans les pays en voie de développement où les génotypes 1 et 2 sont majoritaires, les infections aiguës sont asymptomatiques dans plus de 80 % des cas [140] mais sont d'avantage symptomatiques chez les jeunes adultes (15-30 ans). Le tableau clinique est alors semblable à celui des autres hépatites virales : jaunisse, fatigue, douleur abdominale, fièvre, ascite. A noter qu'un ictère est présent dans la moitié des cas [140]. Selon un article de Kamar et al publié dans the Lancet en 2012, le taux de mortalité dans des épidémies serait de 0,2 à 4 % dans la

population générale, voire plus élevé pour les enfants de moins de 2 ans [56].

1.1.2. Infection de la femme enceinte

Une préoccupation majeure en matière de santé publique est l'infection par le VHE de génotype 1 ou 2 pendant la grossesse. En effet, la mortalité serait plus élevée que dans la population générale.

L'équipe américaine de Navaneethan et al en 2008 (61) a fait une revue de la littérature sur la mortalité du VHE chez les femmes enceintes. Ils rapportent des taux de mortalité très élevés (cf. tableau ci-dessous).

Table 1. Studies on hepatitis E infection and pregnancy

Study	Patients (n)	Prevalence of hepatitis E virus infection (%)	Prevalence of fulminant liver failure (%)	Mortality rate (%)
Jaiswal et al. (15) (North India)	127	58	58	45
Singh et al. (14) (North India)	60	37	64	64
Khuroo et al. (16) (North India)	76	86	69	55
Beniwal et al. (8) (North India)	97	47.4	75	39.1
Tsega et al. (10) (Ethiopia)	32	59	–	42
Kumar et al. (12) (North India)	65	45	32	73
Patra et al. (13) (North India)	220	60	55	41
*Stoszek SK et al. (30) (Egypt)	2428	84.3	0	0
*Rasheeda et al. (77) (South India)	115	75	3.4	3.4

*Studies with low morbidity and mortality in pregnancy.

Hepatitis E and Pregnancy- Understanding the pathogenesis, Navaneethan et al. 2008 [141]

On s'aperçoit que le taux de mortalité est en effet plus élevé chez les femmes enceintes en Inde du Nord et en Ethiopie par rapport à celui de la population générale (0,2 à 4%). Par contre, elle est comparable à celle de la population générale en Egypte et en Inde du Sud. Les auteurs expliquent cette différence par une différence de génotype voire même de sous-type viral.

En 2010, Labrique et al. en fait de nouveau le point sur différentes études sur le sujet. Les auteurs rapportent un taux de mortalité de 10 à 42% [142].

A ce jour le taux de mortalité chez la femme enceinte au troisième trimestre est estimé entre de 15 et 25% d'après une revue récente de la littérature dans The Lancet en 2012 [56].

Ces formes sévères de l'infection sont liées à :

- Une insuffisance hépatique fulminante,
- Une encéphalopathie hépatique ou,
- Une coagulation intravasculaire disséminée.

D'autres complications pendant la grossesse incluent la rupture prématurée des membranes et

la détresse du fœtus. Plus de 35% des femmes enceintes éthiopiennes infectées par le VHE avaient des accouchements prématurés.

La transmission verticale du VHE existe (voir partie « Transmission »). Donc l'infection par le VHE pendant la grossesse a également des conséquences pour le nouveau-né comme des risques d'ictère néonatal voire de mort.

Une étude indienne [143] sur le tableau clinique des femmes enceintes a indiqué que les nausées et les vomissements étaient les symptômes prédominants de l'infection par le VHE chez les femmes enceintes (100% des femmes enceintes ayant une hépatite E). La fièvre était par contre significativement moins fréquente dans le groupe des femmes enceintes.

La cause de cette mortalité élevée n'est pas encore bien connue. L'étude américaine de Navaneethan et al. en 2008 [141] propose une explication physiopathologique :

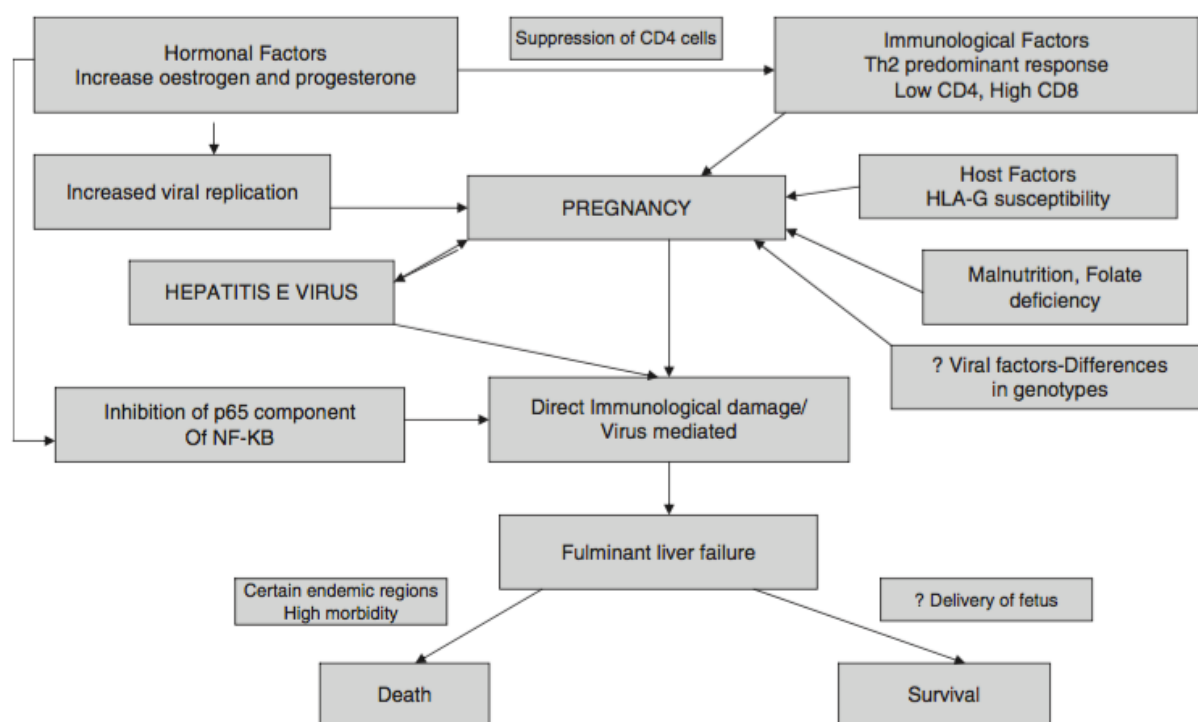


Fig. 1. Pathogenesis of hepatitis E virus in pregnancy.

Hepatitis E and Pregnancy- Understanding the pathogenesis, Navaneethan et al. 2008 [141].

La grossesse est associée à des taux élevés d'hormones stéroïdiennes. Ce qui :

- Favorise la réplication virale
- Inhibe directement le composant p65 de NF- κ B. Cette inhibition est physiologique pendant la grossesse, cela permet le maintien du fœtus. NF- κ B est un facteur de transcription aux effets cellulaires multiples, et notamment permet le développement et la régénération du

foie. L'inhibition de NF- κ B via l'inhibition du composant p65 prédispose la femme enceinte à un dysfonctionnement hépatique voire à une défaillance hépatique lorsqu'elle est exposée à des agents pathogènes infectieux hépatotropes (comme le VHE).

Pendant la grossesse, le système immunitaire maternel est modifié pour tolérer un fœtus génétiquement différent.

Le premier mécanisme est l'évitement des lymphocytes T :

- La couche externe du placenta (faite de trophoblastes) formant l'interface entre la circulation maternelle et fœtale n'expriment pas de protéines du Complexe d'Histocompatibilité Majeure (CMH). Cette couche est donc résistante aux lésions médiées par les lymphocytes T.
- Cependant, les cellules Natural Killer (NK) ne nécessitent pas de protéines de CMH mais les trophoblastes sont protégés contre les cellules NK car ils expriment une molécule unique d'antigène du leucocyte humain (HLA) appelée HLA-G inactivant les cellules NK.
- Le placenta exprime également une enzyme (indoleamine 2, 3-dioxygénase) qui inactive et épuise le tryptophane, un acide aminé essentiel à la fonction des cellules T et supprime donc l'immunité à médiation cellulaire à l'interface fœtus-placentaire.

Le deuxième mécanisme est la favorisation de la voie Th2 :

Les cytokines contribuent à la tolérance immunologique. Le placenta et les trophoblastes sécrètent des cytokines (TGF- β , l'IL-4 et l'IL-10), qui inhibent l'immunité cellulaire. La production de cytokines pendant la grossesse favorise la production d'anticorps par rapport aux réponses des lymphocytes T cytotoxiques.

En résumé, les changements immunologiques pendant la grossesse favorisent le maintien du fœtus par la suppression de l'immunité à médiation par lymphocytes T. Il existe un changement clair dans le paradigme Th1/Th2 pendant la grossesse vers la voie Th2. Ces changements immunologiques rendent donc la femme enceinte plus sensible aux infections et seraient la cause majeure des décès chez les femmes enceintes atteintes d'hépatite fulminante causées par une infection par le VHE.

Les auteurs suggèrent également qu'il y aurait une importance des génotypes et potentiellement des sous-types viraux.

1.2. Tableaux cliniques associés aux génotypes 3 et 4

1.2.1. Hépatite E aiguë

Dans les pays développés, l'infection est le plus souvent asymptomatique (>98%) [56]. Le profil des patients atteints d'hépatites aiguës symptomatiques par les génotypes 3 et 4 est différent de celui des patients atteints d'hépatites aiguës symptomatiques par les génotypes 1 et 2 [144]. Ce sont en général des patients d'âge moyen (âge médian 50-55 ans) et plus fréquemment des hommes.

J.M. Mansuy [144] et al ont étudié la fréquence des différents symptômes que l'on retrouve dans l'infection au VHE en France (génotype 3) sur 5 ans. Voici les fréquences des différents symptômes rapportés :

Symptom	Frequency (%)
Jaundice	67.7
Asthenia	40.3
Fever	27.4
Arthromyalgia	21
Abdominal pain	11.3
Headache	9.7
Nausea	9.7
Anorexia	8.1
Weight loss	6.5
Diarrhea	4.8
Purpuric rash	3.2

Acute hepatitis E in south-west France over a 5-year period, J.M. Mansuy et al, 2009 [144]

Des études ont observées que l'infection à VHE peut également être confondue avec une hépatite médicamenteuse ou s'associer à une toxicité médicamenteuse.

Par exemple, l'étude américaine de Timothy J. Davern et al, en 2011, s'intéresse à 318 patients avec une lésion hépatique suspectée d'être d'origine médicamenteuse. 50 (16%) ont été trouvés IgG anti-VHE positifs et 9 (3%) IgM anti-VHE positifs. Parmi ces 9 cas :

- 3 cas ont été attribués de manière certaine au VHE qui était alors reconnu comme cause de la lésion hépatique.
- 6 cas étaient classés comme possiblement liés au VHE.

Les auteurs concluent en disant que le VHE contribue à une part non négligeable de lésions hépatiques aiguës attribuées initialement à un médicament. Ce qui justifierait la réalisation d'une sérologie du VHE dans le bilan de première intention d'une hépatite aiguë, d'autant plus si celle-ci survient à un âge moyen (> 40ans) et s'il existe des facteurs de risque d'infections graves (hépatopathies préexistantes)

Une autre étude conforte cette observation. C'est celle des britanniques Dalton et al en 2007

dans laquelle 13% (n=6/47) des patients présentant les critères de lésions hépatiques liées à un médicament présentaient une hépatite E aiguë [145].

Dans ces deux études les souches VHE retrouvées étaient toutes des génotypes 3.

1.2.2. Formes graves de l'infection

Les formes sévères avec des tableaux d'hépatite fulminante sont observées principalement au cours d'épisodes épidémiques. Selon le Centre National de Référence du VHE, dans la population générale, la fréquence des hépatites fulminantes VHE serait de 1 % parmi les patients infectés par le VHE.

Les hépatites aiguës liées aux génotypes 3 et 4 se transformeraient davantage en hépatites graves de type fulminantes chez des patients présentant des comorbidités (hépatopathie ou consommation excessive d'alcool). L'infection VHE peut être alors source de décompensation de l'hépatopathie.

1.2.3. Femme enceinte

Au contraire des infections par les génotypes 1 et 2, les femmes enceintes infectées par les génotypes 3 et 4 ne semblent pas être plus à risque de développer une hépatite grave, même si les cas de femmes enceintes infectées par les génotypes 3 et 4 sont rarement rapportés [146].

1.2.4. Hépatite E chronique

1.2.4.1. Populations à risque

Les infections chroniques au VHE étaient initialement définies par un ARN viral persistant au moins 6 mois [147]. En 2013, sur la base d'une cohorte de 69 transplantés d'organe, Kamar et al. [148] n'observe pas de clairance du VHE entre 3 et 6 mois, ils proposent alors une définition d'hépatite E chronique par un ARN viral persistant au moins 3 mois.

Les infections chroniques à VHE ont été signalées pour la première fois chez des patients transplantés hépatiques et rénaux en Europe en 2008 [149]. Depuis, les cas chroniques d'hépatite E ont été continuellement signalés chez les receveurs d'organe [150], [151].

A l'heure actuelle, les infections chroniques ont été rapportées uniquement dans le cadre de :

- Transplantation d'organes solides [149] : rein et foie essentiellement mais aussi plus rarement décrit : pancréas, cœur et poumon [147].
- Co-infection par le VIH [152].
- Traitements de chimiothérapie en oncohématologie [153]

Versluis et al. [154] étudie la population des greffés de cellules souches. Sur 328 patients greffés, 8 (2,4%) cas d'hépatite E (ARN VHE positif) ont été diagnostiqués dont 5 hépatites chroniques. Selon les auteurs, la population greffée de moelle a donc une incidence faible

d'infection par le VHE par rapport aux autres infections opportunistes mais il existe tout de même une probabilité de 63% de développer une hépatite E chronique. D'autres études sont nécessaires afin de consolider cette observation.

Ce qui suggère que l'immunosuppression peut prédisposer à une infection chronique. Kamar et al. le montre avec leur étude sur des patients transplantés d'organe. En effet, ils trouvent que les taux de lymphocytes totaux et des CD4 étaient plus bas chez les patients évoluant vers une hépatite chronique (moyenne des taux de CD4 chez les patients ayant présenté une hépatite aiguë résolutive : 930 cellules/mm³, moyenne des taux de CD4 chez les patients ayant présenté une forme chronique : 220 cellules/mm³) [149].

A ce jour, la majorité de ces infections chroniques sont liées au génotype 3 [149], [155]. Des infections chroniques liées au génotype 4 ont été rapportées en Chine [156].

Selon une étude 2014, ces infections chroniques chez les immunodéprimés transplantés d'organes peuvent être des infections de novo ou des réinfections [157]. Dans cette étude, les auteurs estiment un seuil de protection des IgG antiVHE. En effet, un taux d'IgG < 7 WHO units/mL ne serait pas protecteur chez les immunodéprimés qui peuvent donc se réinfecter.

Deux études françaises permettent d'évaluer la proportion d'infection aiguë du VHE entre 5 et 6,5 % chez des receveurs de greffe d'organe solide [149], [158].

La fréquence de passage à la chronicité a quant à elle été étudiée dans la cohorte de Legrand-Abravanel et al en 2014 comportant 700 receveurs de greffe d'organe solide où 5% a contracté une infection par le VHE dont 47% ont développé une infection chronique [157]. Une proportion similaire de patients atteints d'une infection aiguë ayant développé une infection chronique (57 %) avait déjà été trouvée dans une autre étude de Kamar et al en 2008 [149]. Ce sont des receveurs de greffes rénales, hépatiques ou pancréatiques.

Enfin, selon le Centre National de Référence du Virus de l'Hépatite E (CNR VHE), dans la population des transplantés, l'évolution vers une infection chronique est observée dans environ 60% des cas et selon un article publié dans Lancet en 2012 (Kamar et al) [56] l'évolution vers la cirrhose se produirait dans 10% des cas en 12 à 36 mois.

1.2.4.2. Physiopathologie de l'infection chronique

Une explication physiopathologique a été proposée par une étude de Suneetha et al [159]. L'infection chronique serait liée à une altération des réponses des lymphocytes T spécifiques du VHE. De plus, Kamar et al [147], et Legrand-Abravanel [158] ont essayé de dégager des facteurs prédictifs des infections chroniques chez les transplantés d'organe. Il y aurait significativement plus d'infections chroniques lorsque les facteurs suivants sont observés :

- Un nombre faible de lymphocytes T CD2, CD3 et CD4 ;
- L'utilisation de tacrolimus plutôt que de ciclosporine ;
- Un âge <52 ans ;
- Une transplantation hépatique.

Les mêmes études suggèrent que l'amélioration de l'immunité cellulaire adaptative contre le VHE pourrait prévenir les infections persistantes du VHE. D'ailleurs une réduction de dose du traitement immunosuppresseur permet d'entraîner une clairance virale chez plus de 30% des patients [147].

1.2.4.3. Complications extrahépatiques des hépatites E chroniques

Les infections chroniques peuvent se compliquer par des troubles extrahépatiques. Cela est rare. Il est plus fréquent que des manifestations extrahépatiques se produisent dans le cadre d'hépatite E aiguë chez un patient immunocompétent. Kamar et al. ont rapporté que 6% des receveurs de transplantations d'organes solides souffrant d'une infection chronique par le VHE présentaient des signes et des symptômes neurologiques [160].

Une autre étude de Kamar et al. de 2010 présente un cas de complication neurologique chez un patient infecté chroniquement. Il s'agit d'un patient immunodéprimé, transplanté du rein, avec une hépatite chronique E qui a développé des symptômes neurologiques, en particulier une atteinte des nerfs périphériques avec une faiblesse musculaire proximale, se compliquant d'un syndrome pyramidal bilatéral. Pour la première fois, l'ARN du VHE a été détecté dans le sérum et dans le liquide céphalo-rachidien du patient transplanté [161].

Enfin, dans une étude britannique de 2014 [162], Woolson et al a réussi à mettre en évidence le virus dans le liquide céphalo-rachidien d'un patient immunodéprimé infecté chroniquement par le VHE et le génotype retrouvé est un génotype 3.

Les séquences génétiques retrouvées dans le LCR sont en général les mêmes que celle retrouvées dans le sang. Dans un seul cas la séquence n'était pas tout à fait identique.

Les auteurs affirment que les résultats de cette étude suggèrent que la lésion neurologique associée au VHE serait liée à l'émergence d'un variant neurotrope du VHE dans le cadre des quasi-espèces [161], [163]. Des travaux complémentaires sont nécessaires.

Les infections à génotype 4 ont été décrites comme plus sévères que les infections à génotype 3 [164] (cytolyse plus prononcée et ictère plus fréquent), mais ce génotype reste rarement isolé en France [165]. Cependant, il est à noter que le génotype 3, le plus fréquent en France, serait lié à la survenue de manifestations extrahépatiques et le développement d'infections chroniques chez des patients immunodéprimés.

1.2.5. Réinfections et réactivations du VHE

1.2.5.1. Réinfections

Des cas de réinfections ont été publiés mais principalement dans le cadre de patients immunodéprimés. Comme par exemple, l'article d'Abravanel et al. [157] en 2014. Une cohorte de 263 transplantés d'organe sont suivis pendant un an après leur transplantation. 38,4% sont séropositifs pour le VHE lors de la transplantation (titres moyens IgG au moment de la transplantation = 8 UI/mL, un an après la transplantation = 6,4 UI/mL). Parmi ce groupe, les auteurs ont observé 3 cas de réinfections. Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques des patients :

3 cas de réinfection			
Sexe	Femme	Homme	Homme
Age	57	60	46
Type de transplantation	Foie	Rein	Rein
Titre IgG lors de la transplantation (UI/mL)	2,1	6,2	0,3
Temps de réinfection après la transplantation (en mois)	5	11	12
Réinfection			
Positivité des IgM	Oui	Non	Oui
Charge virale (log copies/mL)	5,3	3,3	7,7
Génotype	3f	NR	3f
Issue	Résolution	Résolution	Infection chronique

Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients can evolve into chronic infections. Abravanel et al. (2014)[157]

Un autre cas a été publié par Servant-Delmas et al. [166] dans une étude portant sur une cohorte de 98 patients immunocompétents polytransfusés. Les auteurs retrouvent une réinfection chez un patient. Pendant le suivi ce patient avait des titres d'IgG anti-VHE autour de 10 UI/mL et a subi une augmentation des IgG à 400 UI/mL, l'ARN VHE et les IgM anti-VHE sont alors positifs. Les auteurs concluent à une réinfection.

1.2.5.2. Réactivations

En 2015, un cas de réactivation d'une infection à VHE a été décrit par le Coutre et al. [167] chez un patient greffé de cellules souches hématopoïétiques qui était infecté par le VHE deux mois avant la greffe (charge virale positive, sérologie positive). La charge virale et les IgM anti-VHE étaient négatifs un mois avant la greffe. Trois mois après la greffe, l'ARN viral a été détecté à nouveau. La réactivation a été documentée par des analyses phylogénétiques (même souche avant et après greffe) et après élimination de toutes les autres voies de transmission iatrogène (ARN VHE négatif sur les échantillons du donneur, sur les PSL reçus par le patient...). L'infection est devenue chronique avec la persistance d'une charge virale positive pendant plus de 6 mois.

1.3. Manifestations extrahépatiques

Les manifestations extrahépatiques sont des symptômes neurologiques, hématologiques, métaboliques, immunologiques... qui surviennent dans le cadre de d'hépatite E aiguë chez des patients immunocompétents. Au contraire des complications extrahépatiques touchant des patients immunodéprimés infectés chroniquement par le VHE.

1.3.1. Manifestations neurologiques

1.3.1.1. Tableaux cliniques

Les manifestations neurologiques liées à l'hépatite E sont relativement rares en pratique clinique. Plus de 95% des patients infectés par le VHE ne présentent pas de troubles neurologiques [163]. Parmi les symptômes neurologiques il y a notamment le syndrome de Guillain-Barré (SGB) [168], [169] mais aussi et plus anecdotiquement des cas de :

- Paralysie de Bell,
- Amyotrophie névralgique,
- Myélite transversale aiguë,
- Méningo-encéphalite aiguë.

Une étude récente de 2015 de Dalton et al [163], répertorie 91 cas de symptômes neurologiques dans le cadre d'une hépatite E. Cette étude permet d'avoir une idée sur la distribution des syndromes :

- 40% de SGB,
- 33% d'amyotrophie névralgique,
- 13% de myélite et méningo-encéphalite,
- 15% d'autres syndromes neurologiques.

Les caractéristiques épidémiologiques et génotypiques de cette cohorte sont :

- 93% (85/91) des patients était immunocompétent, en phase aiguë. 7% était immunodéprimés et infectés chroniquement.
- La moyenne d'âge de la cohorte était de 50 ans et 75% des patients était des hommes.
- Les cas étudiés provenaient d'Europe, d'Asie et des Etats Unis.

1.3.1.2. Considérations génotypiques et sérologiques

Toujours dans l'étude de Dalton et al [163], certains génotypes ont été identifiés (n=41). Il s'agit essentiellement de génotypes 3 (n=39) mais aussi de génotypes 4 (n=1). Il est à noter qu'un génotype 1 a aussi été isolé (immunocompétent, Bangladesh). Il paraît probable que la

fréquence des génotypes 1 et 2 soit sous-estimée car d'abord, peu de cas de manifestations neurologiques dans les zones où ces génotypes sont présents sont décrits et ensuite car la plupart des cas présents dans cet article et provenant d'Asie ne sont pas génotypés.

Dans une étude britannique de 2014 [162], Woolson et al dispose d'une cohorte de 7 patients infectés de manière aigue par le VHE et présentant des manifestations neurologiques. Il s'agit de patients immunocompétents et les génotypes isolés sont tous des génotypes 3.

Tous ces cas sont basés sur la mise en évidence d'IgM et +/- de l'ARN dans le sérum du patient afin d'affirmer le diagnostic d'hépatite E aigue. Au contraire des complications neurologiques dans le cadre de patients immunodéprimés et infectés chroniquement, le virus n'a pas pu être isolé dans le liquide céphalo-rachidien.

1.3.1.3. Lien entre VHE et troubles neurologiques

En terme de prévalence, une équipe néerlandaise observe un taux de 5% d'IgM anti VHE parmi les patients atteints de SGB (10/201) [170]. Cette proportion était dix fois supérieure à celle de la population témoin. De plus, l'ARN du virus est retrouvé dans le sérum de 3 des patients confirmant l'existence d'une association entre le SGB et le VHE. Tous les cas de SGB associée au VHE étaient asymptomatiques avec des résultats biologiques normaux. Les patients atteints avaient un SGB typique et aucun n'avait d'anticorps anti-ganglioside détectables.

Le diagnostic de l'hépatite E chez les patients présentant des symptômes neurologiques n'est pas simple. Dans ces cas, l'hépatite passe le plus souvent inaperçue. En effet, les patients sont immunocompétents et l'infection est asymptomatique.

1.3.1.4. Physiopathologie

La pathogénèse du VHE pour les troubles neurologiques est inconnue.

- La première hypothèse serait que dans le cadre des quasi-espèces, il y aurait une sélection des variants neurotropiques. Cependant, cette hypothèse repose sur l'observation d'un seul cas.
- Une deuxième hypothèse est l'acquisition par le virus d'une séquence lui conférant une capacité à infecter le système nerveux central. Ce serait des insertions qui ont été isolées chez deux patients [171], [172]. Là encore, le faible nombre d'observations et le fait qu'il ne s'agisse que de patients infectés par le VHE de manière chronique et des patients immunodéprimés ne permet pas d'affirmer ce mécanisme comme une généralité. Puisque la plupart des patients développant des symptômes neurologiques sont des immunocompétents.
- La troisième hypothèse est que le VHE code pour des antigènes induisant une réponse immune pouvant s'attaquer à des cibles neurologiques.

L'augmentation de la clairance du virus du sang et du LCR avec une thérapeutique antiviral (interféron et ribavirine) est associée à une amélioration des symptômes neurologiques dans le cas de patients infecté chroniquement par le VHE.

1.3.2. Manifestations hématologiques

1.3.2.1. Thrombopénie

L'association hépatite E et thrombopénie n'a été décrite que dans 5 études [162], [173]–[177]. 3 études dans des zones où les génotypes 1 et 2 sont fréquents :

- G. Ali et al en 2001 [174] rapporte un cas d'un homme indien de 38 ans consultant pour ictère, fièvre et taches purpuriques persistants depuis 4 jours. Une thrombopénie à 10G/L et une sérologie positive IgM anti-VHE sont retrouvées.
- L'étude chinoise de Suning Chen et al en 2007 [176] rapporte un cas de thrombopénie (13G/L) chez un homme de 34 ans présentant une fatigue, une perte d'appétit et un ictère depuis une semaine. La sérologie IgM et IgG anti-VHE sont positives. Le taux de plaquettes redevient normal en 8 semaines.
- L'étude de Rajoo Thapa et al en 2009 [175] rapporte un cas de thrombopénie chez une petite fille indienne de 8 ans (21G/L) qui présente depuis 15 jours un ictère, une fièvre et une anorexie. Les tests sérologiques IgM et IgG anti-VHE sont positifs. Le taux de plaquettes redevient normal en 4 semaines.

2 études dans des zones où les génotypes 3 et 4 sont fréquents :

- L'année précédente, Colson et al [173] rapporte un cas plus complet de thrombopénie (16G/L). Il s'agit d'une patiente de 72 ans immunocompétente qui présente une fièvre, un ictère, des douleurs abdominales et des nausées depuis 4 jours. Les IgM anti-VHE sont positives et le génome du VHE est retrouvé dans le sang de la patiente : il s'agit d'un génotype 3f.
- Une autre étude du Sud-Ouest de la France de 2010 [177] rapporte 3 patients infectés par le VHE-3f (sérologie et génome viral) présentant une thrombopénie. Il s'agit de 3 hommes :
 - 52 ans, plaquettes : 13G/L et présentant un ictère
 - 61 ans, plaquettes : 10G/L et présentant une asthénie, des arthralgies mais pas d'ictère
 - 20 ans, plaquettes : 1G/L et présentant un purpura et des expectorations hémorragiques mais pas d'ictère.

L'étude de Woolson et al au Royaume-Uni de 2014 [162] regroupe 106 patients sur 14 ans (1999-2013) qui ont été diagnostiqués pour avoir une hépatite E (soit IgM anti-VHE positives,

soit RT-PCR VHE positif soit ascension significative des IgG anti-VHE). Lors du suivi, les manifestations extra hépatiques sont notées. Les auteurs observent une prévalence de 11,3% de patients infectés de manière aigue par le VHE et présentant une thrombopénie < 150 G/L (n=12). Dans cette étude encore tous les génotypes sont des génotypes 3.

Pour conclure, il semblerait que les thrombopénies puissent être des manifestations extra-hépatiques associées au VHE de génotype 3. Il faut aussi noter que le diagnostic de VHE comme cause de thrombopénie repose sur l'exclusion d'autres causes de thrombopénie. Enfin on voit que l'évolution est favorable avec une normalisation du taux plaquettaire.

Par contre, le mécanisme de la thrombopénie dans ces cas n'est pas clair. Des anticorps antiplaquettaires ont été détectés dans le sérum du patient chinois [176].

1.3.2.2. Hémolyse

Il a été décrit que les infections par le VHA peuvent induire une hémolyse massive compliquant un déficit en G6PD. Selon Xing et al dans un article de 2011 [178], le VHE pourrait également induire une hémolyse dans ce cadre. Dans cet article, il présente un patient déficitaire en G6PD présentant une hémolyse, passant de 14g/dL d'hémoglobine à 5g/dL en deux jours. Il avait consommé de la viande de porc crue et sa sérologie IgM anti-VHE était positive. A ce jour 9 cas d'hémolyse compliquant un déficit en G6PD dans le cadre d'hépatite E ont été publiés en Inde, en Chine et au Pakistan [178]–[180]. Aucune étude génotypique n'a été faite.

1.3.2.3. Anémie aplasique

L'étiologie de ce syndrome a déjà été attribuée à divers virus hépatotrope tels que le VHA, le VHB et le VHC mais aussi à d'autres virus tels que le parvovirus B19, le cytomégalo virus, le virus EBV.

Shah et al. [181] a signalé en 2012 le premier cas d'aplasie ou d'anémie aplasique causée par une infection par le VHE. Il s'agit d'un patient Pakistanais immunocompétent de 32 ans dont l'hémogramme présentait une hémoglobine à 5,2 g/L, des plaquettes à 36 G/L et des leucocytes à 1,27 G/L.

L'aplasie ou « anémie aplasique » associée à l'hépatite (HAAA) est une variante rare mais distincte de l'anémie aplasique (AA), elle s'en diffère par [182]:

- La pancytopenie qui apparaît deux à trois mois après la phase aiguë de l'hépatite
- La survenue, le plus fréquemment, chez les jeunes enfants de sexe masculin
- Un mauvais pronostic avec une mortalité élevée (environ 85%) en l'absence de traitement.

1.3.3. Pancréatite aigue

L'association de la pancréatite aiguë (PA) avec l'hépatite virale est bien connue. Habituellement,

ces cas sont attribués au virus de l'hépatite A, au virus de l'hépatite B ou au virus de l'hépatite C. Dans la littérature 15 cas de PA associés au VHE ont été rapportés [183]–[186].

Sandeep Bhagat et al en Inde [183] a étudié 334 cas de pancréatites aiguës (de 2004 à 2006), 7 sont d'origine virale et 4 sont liées au virus de l'hépatite E. A l'occasion les auteurs reviennent sur 6 autres cas de PA associées à des hépatite E :

TABLE 2. Comparative Data of Patients With HEV-Related AVH and Acute Pancreatitis

	Mishra et al ¹²	Majumdar et al ¹³	Borgohain et al ¹⁴	Maity and Ray ¹⁵	Makharia et al ¹⁶	Jaroszewicz et al ¹⁷	Current Series			
							Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Age, yrs	14	32	18	18	45	28	25	22	17	24
Sex	M	M	M	M	M	M	M	M	M	F
Jaundice pain interval, d	10	15	At onset	30	At onset	15	12	17	17	16
Serum bilirubin, mg/dL	32	4	17.8	32.4	4.1	26.6	10.0	8.0	10.0	11.0
Serum ALT, IU/L	786	20	1307	88	1118	4428	358	221	420	129
Serum amylase, IU/L	1131	260	>2000	510	800	260	2135	103	1863	279
Severity	Mild	Mild Pseudocyst	Mild	Severe Grade E	Mild	Mild	Severe grade E	Mild	Mild	Mild
End-organ damage	None	None	None	Renal failure	None	None	None	None	None	None
Duration of stay/Recovery	4 d	Referred to surgery	9 d	5 wk	Not mentioned	6 d	23	7	9	8

Hepatitis viruses causing pancreatitis and hepatitis: a case series and review of literature,

Bhagat et al. 2008 [183]

Dans une autre étude, Pankaj Jain et al [185], a étudié 124 patients avec une hépatite aiguë. La prévalence de diagnostic de PA (7/124) a été de 5,65% et la prévalence de diagnostic de PA sur VHE (4/124) a été de 3,23%. Les autres cas étant liés au VHA (2/124) et au VHB (1/124).

Aucune de ces études ne détermine le génotype du VHE. Cependant, ce sont toutes des études indiennes où les génotypes 1 et 4 sont prédominants.

Une étude française observe un autre cas. Il s'agit de celle de C. Deniel et al en 2011 [187]. Le patient est un homme de 26 ans d'origine Pakistanaise qui a voyagé au Pakistan deux fois dans les deux derniers mois. Il présente un ictère, diarrhée, vomissements et asthénie. La sérologie IgM, IgG anti VHE et la recherche du génome viral sont positives. Il déclare une PA dont aucune cause n'est identifiée. 2 mois plus tard le patient est guéri. Dans cette étude, une détermination du génotype a été faite, il s'agit d'un génotype 1a.

Pour conclure, les PA sur VHE concerneraient plutôt des jeunes (11-30 ans) hommes et la symptomatologie se développent dans la deuxième ou la troisième semaine de l'infection. Les PA sur VHE ont en général une évolution favorable [186]. Peu de données génotypiques sont disponibles.

La pathogenèse de la PA associée à l'hépatite E n'est pas claire. Une des hypothèses est qu'elle pourrait être associée à des dommages directs des cellules pancréatiques par le virus ou à une lésion médiée par l'immunité cellulaire [185].

Malgré la rareté de l'association entre la PA et l'hépatite E aiguë, l'infection par le VHE devrait être ajoutée aux étiologies potentielles de la PA dans les régions où la maladie est endémique.

1.3.4. Troubles auto-immuns

Plusieurs études tendent à affirmer qu'une réponse auto-immune peut être initiée par une infection par le VHE. Cela surviendrait souvent chez des patients transplantés d'organes traités par des agents immunosuppresseurs.

Dans l'étude britannique de 2013 de Intisar Al-Shukri et al [188], les auteurs rapportent un cas d'arthralgie chez une patiente infectée par le VHE de génotype 3. D'après les auteurs le VHE pourrait causer des maladies rhumatismales, des éruptions cutanées, des douleurs articulaires. Une autre manifestation auto-immune serait des thrombopénies auto-immunes. En effet, une étude de Suning Chen et al en 2007 [176] l'observe chez un homme de 34 ans avec une thrombopénie à 13G/L, une sérologie IgM et IgG anti-VHE positive et la présence d'anticorps anti-plaquettes.

Enfin, d'autres manifestations auto-immunes sont décrites : glomérulonéphrite membranaire [174] et le purpura allergique [189].

Le mécanisme pathologique précis de ces manifestations auto-immunes après une infection par le VHE n'est toujours pas clair. Certains auteurs [190] ont observé une synthèse de cryoglobuline de type 3 chez un patient et avancent donc cette hypothèse comme l'origine des manifestations auto-immunes. Cette cryoglobuline apparaît souvent après la clairance du VHE, et les symptômes peuvent être améliorés par un traitement par corticoïdes [190].

1.3.5. Purpura allergique

En 2010, Thapa et al. [189] ont rapporté le premier cas de purpura allergique causé par une infection aiguë par le VHE.

La physiopathologie du purpura allergique accepté jusqu'à maintenant est un dépôt d'IgA et de complexes immuns dans différents tissus et vaisseaux sanguins fins, qui peuvent être causés par une infection bactérienne ou virale. De nombreux virus sont reconnus comme pouvant induire un purpura allergique, notamment l'adénovirus, le virus de la rubéole, le virus de la rougeole, le virus Coxsackie, le cytomégalovirus, le virus Epstein-Barr (EBV), le virus herpès simplex (HSV), les virus hépatotropes (HAV et HBV), le VIH et le virus varicella zoster. Plusieurs cas de purpura allergique causés par une infection par le VHE ont été rapportés par la suite. Selon les auteurs, étant donné que le VHE est similaire aux virus mentionnés ci-dessus, l'infection par le VHE peut également être l'un des mécanismes viraux causant le purpura allergique.

Ils proposent que le VHE soit inclus dans la liste des étiologies qui peuvent être associées au développement d'un purpura allergique chez les enfants.

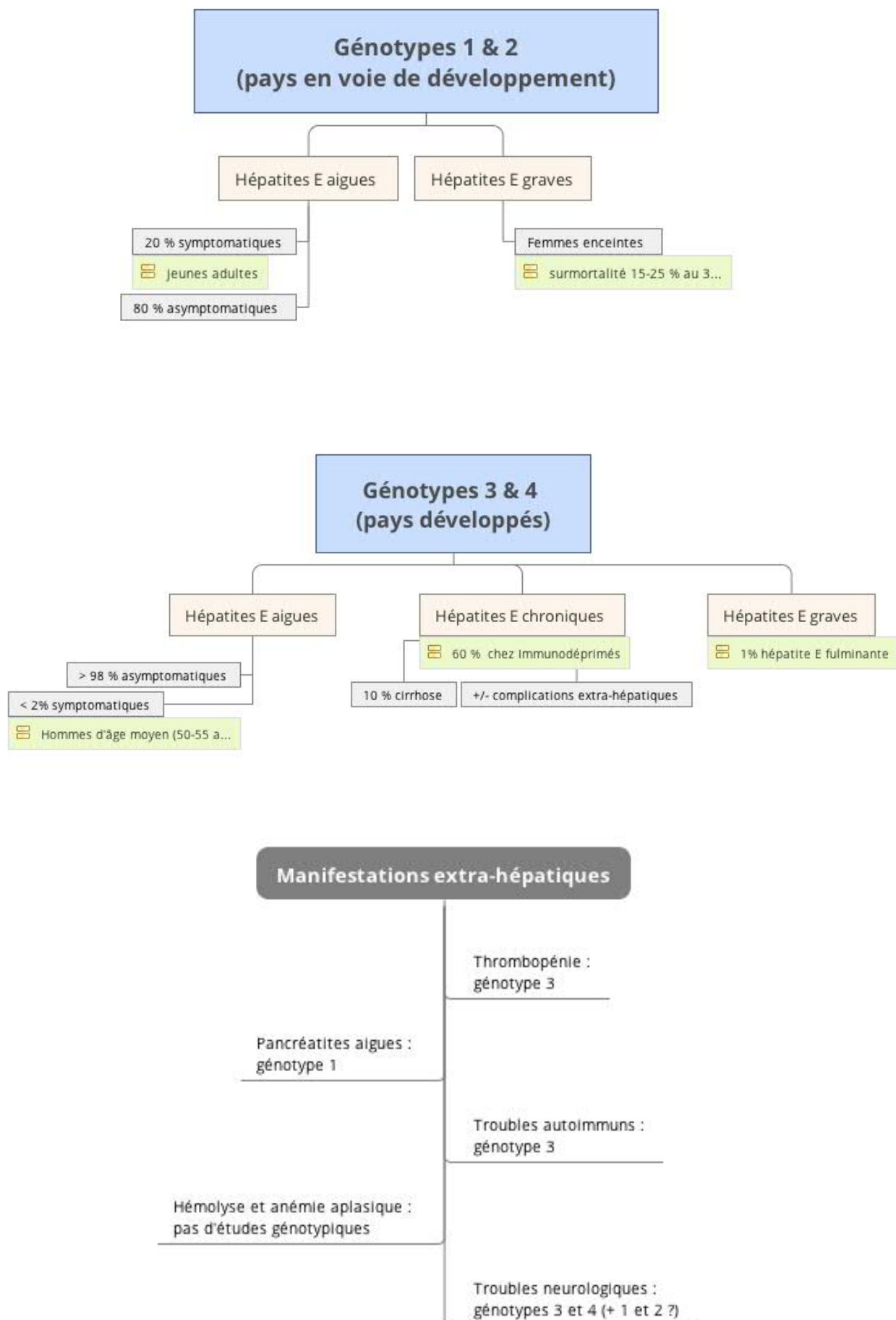
1.3.6. Néphropathies

L'infection aigue et chronique par le VHE peut causer une insuffisance rénale, mais elle est plus fréquente avec une infection chronique chez les patients transplantés d'organe. Les manifestations des lésions rénales comprennent la néphropathie glomérulaire, la cryoglobulinémie et une diminution de la clairance de la créatinine [191].

Le mécanisme pathologique de la lésion rénale causée par l'infection par le VHE n'est pas clair, mais la piste de la cryoglobulinémie est significative.

Lorsque le VHE est épuré, l'évolution est favorable avec un taux de clairance de la créatinine qui se normalise, une protéinurie qui diminue et la néphrite glomérulaire qui s'améliore [191].

Nous proposons ce schéma récapitulatif de la clinique du VHE :



2. Traitement et prévention de l'infection par le VHE

2.1. Traitement

2.1.1. Infection chronique

La prise en charge de l'infection VHE chronique a été étudiée principalement chez les patients transplantés d'organe mais aussi chez les co-infecté VIH-VHE et les patients souffrant d'une hémopathie.

La première ligne thérapeutique est la réduction du traitement immunosuppresseur car chez les patients transplantés d'organe cela entraîne une clairance virale chez près d'un tiers des patients [147].

Ensuite, la thérapie antivirale a été utilisée et des études comparent le taux de réponse virologique soutenue définie comme une charge virale indétectable 6 mois après l'arrêt du traitement [192].

Dans un premier temps l'interféron pégylé a été testé :

- Un traitement de 3 mois d'interféron pégylé (135 µg / semaine) a été utilisé chez trois patients transplantés du foie et un patient en hémodialyse (ancien transplanté de rein). Une réponse virologique soutenue a été obtenue chez trois des quatre patients.
- Un traitement de 12 mois d'interféron pégylé a également été efficace pour le traitement de l'infection par le VHE chronique après transplantation hépatique.

Cependant, l'interféron ne peut pas être utilisé après une transplantation rénale, cardiaque ou pulmonaire, car il augmente le risque de rejet aigu. Par conséquent, la ribavirine en monothérapie a été utilisée, produisant des résultats très intéressants (voir tableau ci-dessous).

Peu de patients co-infectés par le VIH et le VHE ont reçu un traitement antiviral. Selon Kamar et al. depuis 2014, 5 patients ayant reçu un traitement antiviral ont fait l'objet d'une étude :

- Un patient a reçu de l'interféron pégylé seul pendant 6 mois,
- Un patient a reçu de la ribavirine seule pendant 3 mois,
- Deux patients ont reçu de la ribavirine seule pendant 6 mois,
- Un patient a reçu de l'interféron pégylé pendant 6 mois suivi d'un traitement combiné interféron pégylé + ribavirine pendant 3 mois.

Une réponse virologique soutenue a été observée dans tous les cas sauf chez le patient traité par ribavirine en monothérapie pendant 6 mois.

Parmi les patients souffrant d'une hémopathie et d'une infection chronique par le VHE, l'interféron pégylé seul et la ribavirine seule pendant 3 mois ont été utilisés, entraînant une réponse virologique soutenue.

En 2014, Kamar et al. a fait la revue de la littérature des études au sujet de l'efficacité de la ribavirine. Les résultats sont résumés dans ce tableau :

TABLE 4 Ribavirin therapy in nonimmunocompetent patients

Study	No. of patients	Immunosuppressed patient group ^a	Duration of treatment (mo)	No. of patients with:	
				Virological response	Sustained virological response
Alric et al. (279)	1	Hematological patient	3	1	1
Chaillon et al. (295)	1	HT	3	1	1
Dalton et al. (301)	1 ^b	HIV	3	1	1
de Niet et al. (222)	1	KT	3	1	1
Del Bello et al. (41)	1	LT	3	1	1
Hajji et al. (273)	1	HIV	3	1	1
Junge et al. (254)	1	LT	6	1	1
Kamar et al. (296)	8	KT/SPK	3	8	4 of 6 ^c
Koning et al. (226)	4	HT	3–12	3	3
Mallet et al. (282)	2	SPK, hematological patient	3	2	2
Neukam et al. (300)	1	HIV	6	2	1
Pischke et al. (297)	11	KT, HT, lung transplantation	5	9	9
Pischke et al. (227)	4	HT	5	3	3
Riezebos-Brilman et al. (241)	2	Lung transplantation	4	2	2

^a HT, heart transplantation; HIV, human immunodeficiency virus; KT, kidney transplantation; LT, liver transplantation; SPK, simultaneous kidney-pancreas transplantation.

^b The patient received combined therapy with pegylated interferon and ribavirin.

^c Six of the eight patients had a 6-month follow-up after ribavirin cessation.

Hepatitis E Virus Infection, Kamar et al. 2014 [146]

Une plus grande étude sur le sujet est celle de Kamar et al. [192] qui étudie une cohorte de 59 transplantés d'organe (rein, cœur, poumon, foie, pancréas) traités par monothérapie de ribavirine. Il conclue à une réponse virologique soutenue de 78% avec un traitement par ribavirine seule pendant 3 mois. Le mécanisme par lequel la ribavirine atteint la clairance VHE est encore inconnu. Cela pourrait être dû à une inhibition directe de la réplication virale ou à un effet immunomodulateur.

Un article récent de 2017 d'Annemiek et al. [193] recommande un traitement de 3 mois avec un arrêt du traitement dès que la charge virale dans le sang et dans les selles est indétectable. Une prolongation du traitement jusqu'à 6 mois peut être envisagée.

Cet article reprend aussi des études portant sur le sofosbuvir. Il a été démontré que dans les systèmes modèles, le sofosbuvir peut inhiber la réplication du VHE de génotype 3 quand il est associé à la ribavirine. En effet, une charge virale indétectable a été obtenue temporairement (sans réponse virologique soutenue) avec la combinaison de sofosbuvir et ribavirine chez un patient greffé de moelle. Au contraire aucune baisse de la charge virale n'a été obtenue avec la combinaison de sofosbuvir et daclatasvir sans ribavirine [193].

2.1.2. Infection aigue

En général, les patients atteints d'infection aigue par le VHE ont une évolution spontanément favorable et aucun traitement n'est nécessaire.

Le traitement antiviral avec la ribavirine dans une infection aigue grave a été étudié par Colson et al. [194] C'était un patient de 61 ans infecté par le VHE de génotype 3 qui a été traité par ribavirine pendant 21 jours. A l'arrêt du traitement la charge virale était indétectable.

En 2016, Péron et al. [195] ont publié un article dans lequel 21 patients infectés par le VHE et possédant des facteurs de risque d'hépatite grave (soit à risque de développer une insuffisance hépatique aiguë, soit recevant un traitement immunosuppresseur pour une maladie auto-immune ou subissant une chimiothérapie) ont été traités par ribavirine.

Les résultats sont illustrés par le tableau ci-dessous :

Table 3. Ribavirin therapy

Patient n°	Dose (mg/day)	Duration (days)	Ribavirin dose reduction	Virological response	Time for undetectable RNA (days)
1	1000	10	No	SVR	13
2	1000	5	No	SVR	23
3	1000	7	No	SVR	25
4	600	90	No	SVR	48
5	600	15	No	Death	NA
6	800	11	No	SVR	30
7	800	3	No	SVR	35
8	800	21	No	SVR	30
9	600	90	Yes	SVR	78
10	1000	52	No	SVR	18
11	1000	33	No	SVR	16
12	1000	35	No	SVR	50
13	1200	51	Yes	SVR	50
14	1000	31	No	SVR	43
15	1000	4	No	SVR	19
16	1000	20	No	SVR	36
17	1000	35	No	SVR	28
18	1200	7	No	SVR	27
19	1000	26	No	SVR	23
20	1000	31	No	SVR	35
21	600	28	No	Death	NA

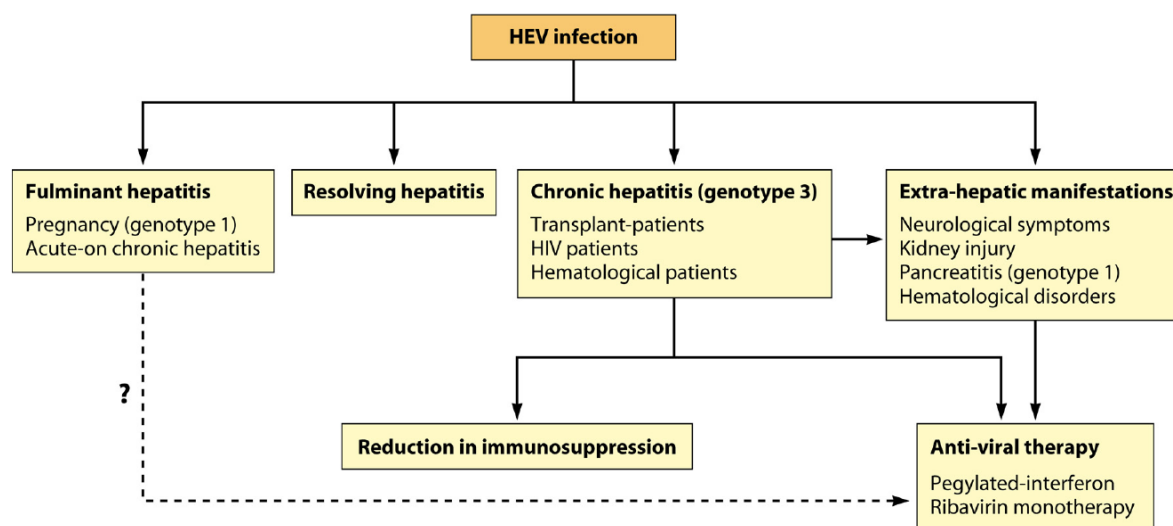
NA, not available (patients died before the second PCR or did not have a second PCR); SVR, sustained virological response.

Treatment of autochthonous acute hepatitis E with short-term ribavirin: a multicenter retrospective study. Peron et al. 2016 [195]

La thérapie par ribavirine a été poursuivie chez 19 patients jusqu'à ce que l'ARN du VHE soit indétectable. La durée moyenne du traitement était de 26 jours. Deux patients atteints de cirrhose et d'encéphalopathie préexistantes sont décédés.

Tous les autres patients ont atteint une réponse virologique soutenue. Il est difficile de déterminer si l'équipe a étudié l'histoire naturelle de la maladie ou l'efficacité de la thérapie par ribavirine.

En conclusion, Kamar et al. propose une recommandation de traitement (voir figure ci-dessous)



Hepatitis E Virus Infection, Kamar et al. 2014 [146]

2.2. Prévention

2.2.1. Prévention individuelle

Selon l'OMS la prévention est l'approche la plus efficace contre l'hépatite E. L'organisation estime qu'une réduction de la transmission du VHE et du nombre des cas d'hépatite E est possible en respectant certaines mesures.

Au niveau de la population, en :

- Maintenant des normes de qualité pour les approvisionnements publics en eau ;
- Mettant en place les systèmes d'élimination adéquats pour les selles.

Au niveau individuel, le risque infectieux peut être réduit en :

- Respectant des pratiques d'hygiène telles que le lavage des mains avec de l'eau propre, en particulier avant de manipuler des aliments ;
- Évitant de consommer de l'eau et/ou des glaçons et de la glace de qualité inconnue ;
- Respectant les pratiques de cuisson pour la sécurité sanitaire des aliments (voir partie 3).

2.2.2. Prévention vaccinale

Au moins 11 vaccins expérimentaux contre l'hépatite E ont été évalués chez les primates non humains. Seuls 2 de ces vaccins ont progressé jusqu'au stade de l'essai clinique chez l'homme, dont l'un, Hecolin®, a été mis au point et est fabriqué par Xiamen Innovax Biotech Co., Ltd. Ce vaccin a été homologué en Chine en décembre 2011 pour les personnes de >16 ans. Le fabricant recommande l'administration de ce vaccin aux sujets présentant un risque élevé d'infection à VHE, 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 d'endémie. Ce vaccin n'a pas été homologué dans d'autres pays à ce jour. L'autre vaccin expérimental ayant progressé au stade des essais cliniques (rHEV, basé sur la protéine de capsid de 56 kDa) n'a fait l'objet d'aucun développement commercial.

Selon le fabricant, Hecolin® (ou HEV 239) est un vaccin basé sur un peptide recombinant du VHE composé de 239 acides aminés correspondant aux acides aminés 368-606 du cadre ORF2 qui code la protéine de capsid du VHE. La séquence d'acides aminés est dérivée d'une souche chinoise du génotype 1 du virus.

Le fabricant recommande l'administration intramusculaire de 3 doses, à 0, 1 et 6 mois.

En 2015, le Groupe stratégique consultatif d'experts (SAGE) de l'OMS sur la vaccination a examiné les données existantes sur la charge de morbidité imputable à l'hépatite E ainsi que celles sur l'innocuité, l'immunogénicité, l'efficacité et le rapport coût/efficacité du vaccin anti-hépatite E qui a été homologué. Les conclusions sont les suivantes :

Le vaccin est fortement immunogène, la séroconversion se produisant chez pratiquement tous les sujets qui ont été vaccinés selon un calendrier de 3 doses sur 6 mois (à 0, 1 et 6 mois). En effet, dans le cadre d'une vaste étude de phase III sur environ 113 000 participants, 98,7% présentaient une multiplication d'au moins un facteur 4 de la concentration d'anticorps après vaccination, par rapport à 2,1% des sujets dans le groupe témoin (infection VHE). Les concentrations moyennes d'anticorps anti-VHE dans le groupe ayant reçu le vaccin étaient de 19,0 UI/ml. Il est à noter également que ce taux diminue progressivement. En effet, au bout de 25 mois après la vaccination le taux n'est plus que de 1,62 UI/mL.

La durée de positivité des anticorps anti-VHE a été étudiée. L'OMS indique dans son rapport qu'ils demeurent détectables jusqu'à 4,5 ans (54 mois) chez 93,3% des personnes vaccinées.

L'OMS rappelle que l'immunogénicité du vaccin n'a pas encore été évaluée chez les personnes de moins de 16 ans et de plus de 65 ans, ni dans les populations exposées à un risque accru d'hépatite E grave, notamment les personnes immunodéprimées ou atteintes d'une affection hépatique chronique préexistante. L'immunogénicité du vaccin après administration par voie sous cutanée ou intradermique n'a pas non plus été étudiée.

La conclusion de l'OMS est que le vaccin protège contre l'infection symptomatique à VHE, avec un taux d'efficacité très élevé. Elle s'appuie notamment sur une étude pendant laquelle l'apparition de nouvelles infections à VHE a été surveillée par le biais d'un suivi des participants afin de déceler tout signe de séroconversion spontanée.

L'incidence des nouvelles infections à VHE était significativement plus faible parmi les sujets vaccinés que dans le groupe témoin, laissant supposer que l'administration d'au moins 2 doses du vaccin avait permis de prévenir de nouvelles infections par le VHE.

L'efficacité à long terme a été étudiée pour une période allant jusqu'à 25 mois après

l'administration de toutes les doses. L'efficacité globale contre l'infection à VHE était de 79,2%. Le niveau de protection de la première année après la vaccination est semblable à celui de la deuxième année.

Néanmoins l'OMS précise que

- Les données relatives à cette protection portent principalement sur l'hépatite induite par le génotype 4 du virus. Les données sur la protection contre les maladies provoquées par les autres génotypes du VHE sont soit très limitées (génotype 1), soit indisponibles (génotypes 2 et 3).
- Les données sur l'efficacité du vaccin chez les enfants (<16 ans), les personnes âgées (>65 ans), les femmes enceintes, les personnes immunodéprimées font défaut.
- Les données sur l'efficacité dans le cadre d'une administration post exposition ou de la lutte contre une épidémie n'a pas encore été étudiée.
- Les données sont issues d'essais cliniques, elles portent donc sur l'efficacité potentielle du vaccin, mais on ne dispose d'aucune donnée sur son efficacité sur le terrain.

Depuis ce rapport, certaines équipes ont étudié l'efficacité de ce vaccin sur les autres génotypes. D'abord, dans une étude à grande échelle [196], 23 personnes ont contracté une infection à VHE (22 dans le groupe placebo et 1 dans le groupe vacciné), 13 patients ont fait l'objet d'une analyse du génotype viral : 12 étaient de génotype 4 et un de génotype 1. Cela indique que la protection conférée par le vaccin HEV 239 dans cette étude était essentiellement contre l'infection par le génotype 4 du virus.

Ensuite, des éléments indirects laissent supposer que le vaccin offre une protection contre les principaux génotypes humains. En effet, il a été observé qu'un anticorps monoclonal neutralisant (8G12) se lie aux peptides de capsid recombinants E2 des 4 génotypes avec un degré d'affinité équivalent, montrant que cette région de la protéine de capsid virale est inchangée d'un génotype à l'autre, ce qui fournit la preuve indirecte d'une protection croisée probable. Cet anticorps a par ailleurs pu neutraliser l'infectiosité des génotypes 1 et 4 du VHE in vitro. Selon les auteurs on pourrait alors escompter une protection du HEV 239 contre les 4 génotypes du VHE [197].

La position de l'OMS est : « *Le seul vaccin actuellement homologué contre l'hépatite E (HEV 239, ou Hecolin®) est jugé prometteur par l'OMS. Il a démontré sa grande efficacité contre l'hépatite E chez les sujets sains âgés de 16 à 65 ans en Chine.*

L'OMS estime que les données sur ce vaccin sont encore insuffisantes pour une utilisation dans le cadre de la vaccination systématique. Cette position actuelle de l'OMS ne doit pas exclure

son utilisation dans des situations spécifiques comme dans le cadre d'épidémie ou de groupes particuliers. En effet, l'OMS reconnaît que les risques de morbidité et de mortalité liés à l'hépatite E ou à ses complications sont particulièrement élevés. En particulier, son utilisation devrait être envisagée 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. Dans les autres cas (voyageurs, agents de santé, travailleurs humanitaires déployés ou en transit dans des zones touchées par une épidémie d'hépatite E) il convient de faire une évaluation individuelle des risques et des avantages du vaccin pour la personne concernée et d'envisager sa vaccination.

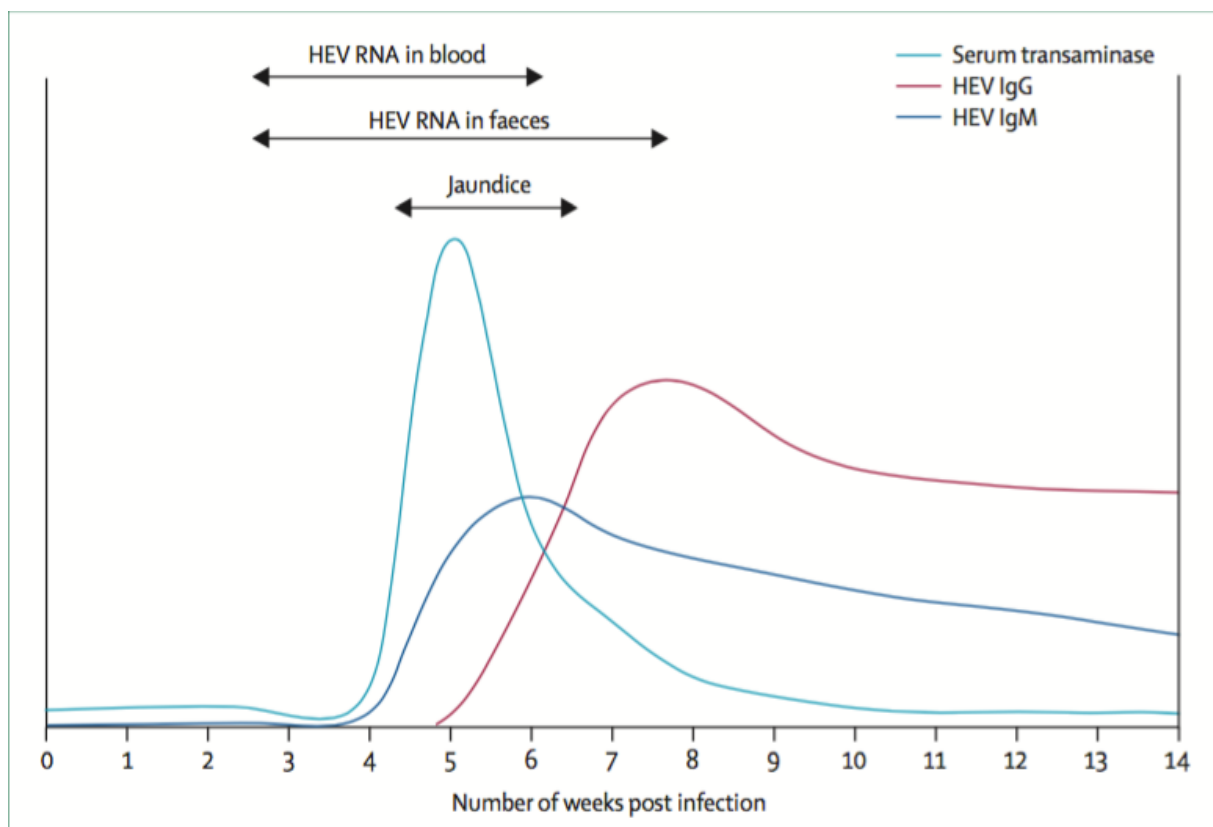
À mesure que des données supplémentaires deviendront disponibles, l'OMS réexaminera sa position sur le vaccin contre l'hépatite E et l'adaptera le cas échéant. »

Partie 6 : Diagnostic de l'infection à VHE

L'infection par le VHE peut être diagnostiquée soit indirectement en détectant des anticorps anti-VHE dans le sérum du patient, soit directement en détectant le génome du VHE dans le sang ou d'autres fluides corporels (selles principalement). Il faut noter également que comme toute hépatite virale les enzymes hépatiques sont perturbées. La cytolysé hépatique est marquée dès le début de la symptomatologie avec des taux d'alanine amino-transférase (ALAT) pouvant dépasser 2000 UI/l. Le retour à des taux normaux sont observés dans un délai de 2 à 3 mois au cours de la phase de guérison.

1. Cinétique des marqueurs d'infection par le VHE

Kamar et al. [56] propose dans The Lancet cette illustration de la cinétique des marqueurs d'infection par le VHE :



Hepatitis E, Kamar et al. 2012 [56]

1.1. Le génome viral

Selon Kamar et al. [56] l'ARN viral est détectable dans le sang et les selles avant la phase aiguë. La virémie maximale survient pendant la période d'incubation et la phase précoce de la maladie. En cas d'infection aiguë spontanément résolutive, l'ARN VHE ne persiste pas longtemps, devenant indétectable dans le sang environ 3 semaines après le début des symptômes parallèlement à la normalisation des transaminases. Le virus est éliminé dans les selles pendant

2 semaines supplémentaires. La fenêtre de l'ARN détectable est donc étroite et si les patients présentent une maladie tardive, un résultat indétectable d'ARN du VHE n'exclut pas une infection récente.

Les concentrations sériques d'ARN du VHE dans la phase aiguë sont comprises entre 2,1 et 8,3 log copies/ml chez des patients immunocompétents [146]. Il n'y a pas de relation entre la concentration d'ARN du VHE dans le sérum et les symptômes cliniques.

Chez les immunodéprimés (transplantés d'organe notamment), la concentration d'ARN du VHE varie de 2,7 à 7,8 log copies/ml [146]. Le niveau de la charge virale n'est pas associé à l'évolution vers l'infection chronique.

1.2. Les anticorps

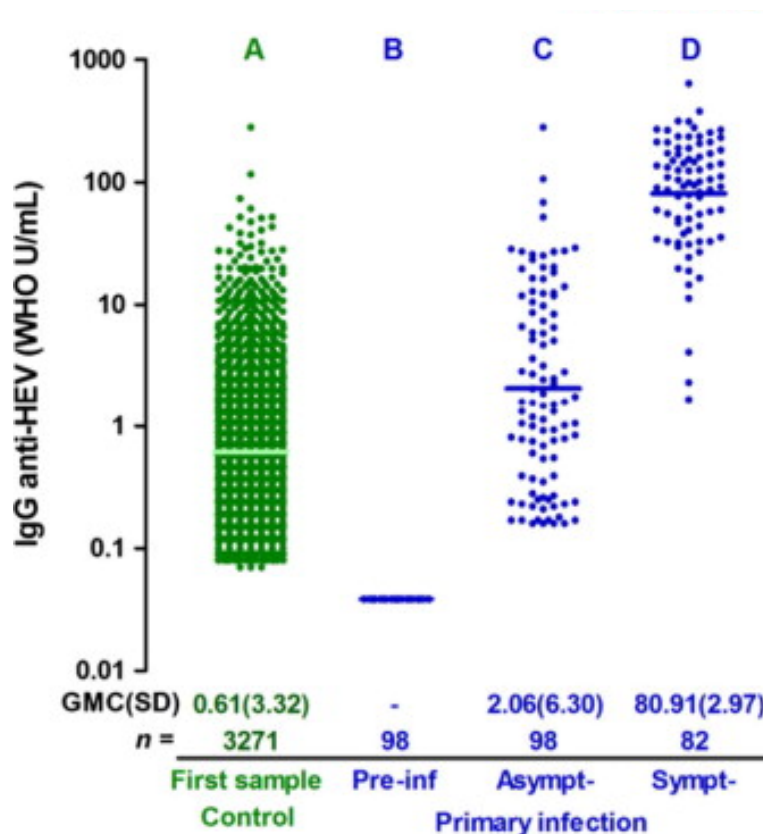
Après une période d'incubation de 2 à 6 semaines, une première réponse IgM a lieu. Cette réponse rapide est suivie d'anticorps IgG plus durables.

Une étude de Huang et al. [198] a déterminé la cinétique des anticorps anti-VHE après une infection.

- Les niveaux d'IgM anti-VHE avaient déjà atteint leur maximum lors de l'admission des patients, mais ils sont restés à des niveaux relativement élevés pendant 8 semaines. Les anticorps IgM ont diminué rapidement par la suite, se négativant chez la plupart des patients après 32 semaines.
- Les taux d'IgG anti-VHE étaient en cours d'augmentation lorsque les patients se présentaient pour atteindre leur maximum environ 4 semaines après le début des symptômes. La durée exacte de la réponse anticorps IgG anti-VHE demeure incertaine. D'après Huang et al. [198], les IgG anti-VHE étaient encore positifs au-delà d'un an. Et dans une autre étude [199], les anticorps IgG anti-VHE étaient détectables chez près de la moitié des patients atteints d'hépatite E 14,5 ans après l'infection.

Selon le CNR, les anticorps anti VHE de type IgG et IgM sont détectables dès le début de la symptomatologie avec un taux maximum au bout d'un mois pour décroître au bout de 2 à 6 mois pour les IgM. Les IgG persistent de 18 mois à plus de 10 ans.

Un élément supplémentaire apporté par l'étude de Zhang et al. [200] est que les niveaux d'IgG anti VHE sont significativement plus élevés quand l'infection est symptomatique (80,91 UI/mL) plutôt qu'asymptomatique (2,06 UI/mL). Pour illustrer ce propos, le schéma ci-dessous reprend les niveaux d'IgG pendant une infection asymptomatique et symptomatique.



Protection against hepatitis E virus infection by naturally acquired and vaccine-induced immunity, J. Zhang et al. 2014 [200]

2. Stratégie diagnostique

2.1. Diagnostic indirect : la sérologie

Les tests de sérologie commerciaux et les kits de diagnostic rapide peuvent détecter la présence d'anticorps IgM ou IgG induits par les quatre génotypes majeurs de la VHE, représentant un sérotype unique. Il n'y a pas de test sérologique spécifique au génotype. Aucune réactivité croisée de l'antigène VHE avec un autre agent pathogène n'a été rapportée [146].

2.1.1. Recherche d'IgM

La présence d'IgM anti-VHE est un marqueur d'infection aiguë. Il existe différents kits commerciaux pour la recherche d'IgM. Cependant, la sensibilité et la spécificité sont différentes. Pour preuve, dans sa revue de la littérature Kamar et al. [146] rapporte une étude qui a comparé les différents kits IgM anti-VHE. La conclusion est une hétérogénéité des sensibilités (de 72% à 98%) et des spécificités (de 78,2% à 95,6%).

Le CNR VHE a établi un tableau (voir ci-dessous) des sensibilités et des spécificités pour les deux techniques fréquemment utilisés en Europe : Adaltis et Wantai.

Performance des tests IgM

	<i>HEV IgM ELISA, Wantai</i>	<i>ElAgen HEV IgM, Adaltis</i>
% Specificité (95%IC)	99,6 (98,7 - 100)	100 (99,8 -100)
% Sensibilité (95%IC)		
Immunodéprimés	85 (70,2 - 94,3)	87,5 (73,2 - 95,8)
Immunocompétents	97,7 (87,9 - 99,9)	97,7 (87,9 - 99,9)

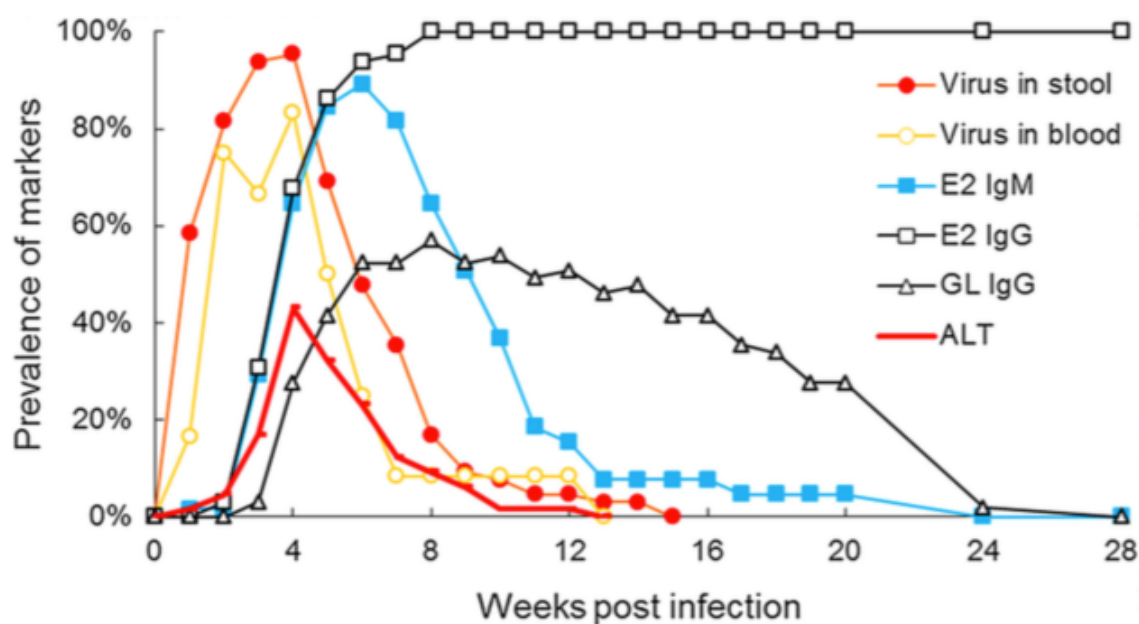
Issu du rapport annuel d'activité 2013, *Centre de national de référence des virus des hépatites à transmission entérique*

Il existe également des tests rapides de détection d'IgM anti-VHE. Au début de leur développement, leurs performances (sensibilité de 53.3%, spécificité de 98.6%) étaient jugées moyennes dans *le bilan d'activité' du Centre National de Référence des hépatites entérotransmissibles*. Depuis, de nouveaux tests rapides ont été commercialisés avec des performances plus satisfaisantes. Kamar et al. [146] rapporte une sensibilité de 93% et une spécificité de 99,7% (avec des sérums de patients d'Asie du Sud-Est, où le génotype VHE 1 est répandu) et de 82% et 100% respectivement pour des sérums de patients de France où le génotype VHE 3 est majoritaire.

2.1.2. Recherche d'IgG

La présence d'IgG anti-VHE seule est un marqueur d'infection passée et sa détermination permet d'illustrer l'immunité ou une exposition antérieure au VHE. Cependant cette détermination est problématique. En effet, les kits disponibles dans le commerce ont des performances analytiques très différentes.

Une des explications est l'utilisation de différents antigènes. Zhang et al. [201] illustre cet argument avec une courbe rapportant la prévalence des marqueurs de diagnostic en fonction du temps (schéma ci-dessous). On s'aperçoit que les résultats des IgG anti VHE sont très différents selon l'antigène utilisé. Par exemple, en utilisant l'antigène E2 (kit Wantai), 100% des sujets sont séropositifs et pendant plus de 28 semaines alors qu'avec l'antigène GL (kit Genelabs), la séroprévalence est beaucoup plus faible et se négative en 24 semaines.



Hepatitis E virus: neutralizing sites, diagnosis, protective immunity, Zhang et al. 2012 [201]

De plus, les limites de détection de ces tests sont également différentes. Selon Bendall et al. [202] la limite de détection des tests utilisant l'antigène E2 est de 0,25 UI/ml alors qu'elle est de 2,5 UI/mL pour les tests utilisant l'antigène GL.

Une autre explication est que la plupart des kits ont été validés avec des sérums de patients atteints d'hépatite E aigue. Cependant, leur aptitude à détecter une immunité ou une infection antérieure, n'est pas testée.

La conséquence est que cette variabilité explique surement les différentes estimations de la séroprévalence du VHE. L'utilisation de tests plus sensibles a entraîné une augmentation des estimations de la séroprévalence.

Une concentration protectrice d'anticorps IgG anti-VHE n'a pas été définie. Différents seuils sont évoqués par différentes études. Zhang et al. [200] propose un seuil à 1 UI/mL, Shrestha et al. [203] propose un seuil à 2,5 UI/mL, Abravanel et al. [157] propose un seuil à 7 UI/mL pour les patients immunodéprimés et d'autres études placent même le seuil à 10 UI/mL [204].

Comme pour les IgM, le CNR VHE a établi un tableau (voir ci-dessous) des sensibilités et des spécificités pour les deux techniques fréquemment utilisés en Europe pour la recherche d'IgG anti VHE : Adaltis et Wantai.

Performance des tests IgG

	<i>HEV IgG ELISA, Wantai</i>	<i>EIAgen HEV IgG, Adaltis</i>
% Specificité (95%IC)	97,8 (95,6 - 99,9)	89,5 (85,0 - 94,0)
% Sensibilité (95%IC)		
Immunodéprimés	45 (29,3 - 61,5)	15 (5,7 - 29,8)
Immunocompétents	93,2 (81,3 - 98,6)	81,8 (67,3 - 91,8)

Issu du rapport annuel d'activité 2013, *Centre de national de référence des virus des hépatites à transmission entérique*

Il existe également des tests d'immunoblot IgG qui ont été utilisés pour confirmer les résultats des tests d'IgG anti-VHE, mais cette technique n'est pas fiable. Kamar et al. [56] rapporte une étude qui a calculé la spécificité de la technique pour la détection des IgG anti VHE à seulement 66%.

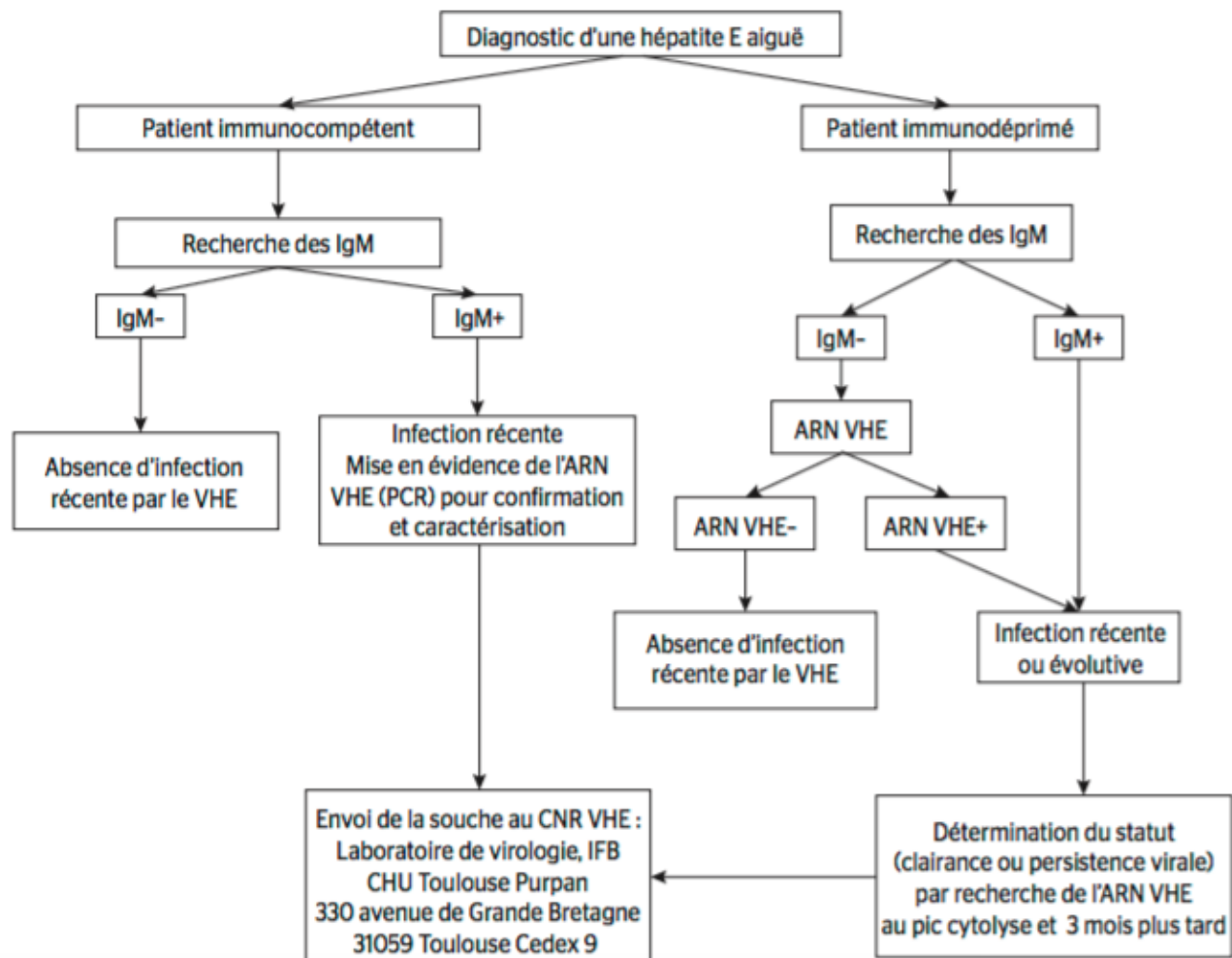
2.2. Diagnostic direct : la recherche de l'ARN viral par RT-PCR

La détection et la quantification de l'ARN du VHE dans le sang et dans d'autres fluides biologiques (selles essentiellement) sont basées sur la PCR en temps réel avec des amorces ciblant des régions conservées entre les génotypes du virus. Une étude a observé une performance optimale pour les PCR utilisant des amorces ciblant la région ORF3 [146].

Dans une étude multicentrique internationale [205], de grandes variations dans la performance des méthodes de PCR « maisons » ont été observées, avec des différences inter-laboratoires de 2 à 3 log copies/mL pour la sensibilité et de 0,4 à 1 log copie/mL pour la reproductibilité. C'est pourquoi, en 2013, une norme internationale de l'OMS (basé sur le génotype 3a) a été établie afin de normaliser la détection et la quantification de l'ARN du VHE. Selon Kamar et al. [146] les kits commerciaux de PCR ARN VHE sont maintenant évalués selon cette norme.

2.3. Algorithme diagnostique de l'infection VHE

Le CNR propose un schéma (voir ci-dessous) de diagnostic basé sur la détection des IgM en première ligne.



Hépatite E, Roque-Afonso. 2016 [140]

Partie 7 : Séroprévalence du VHE

Concernant les études de séroprévalence, il est important de prendre en considération la technique utilisée. En effet, depuis 2011, les troussees fournies par la société chinoise Wantai sont beaucoup plus sensibles que les troussees disponibles précédemment. Cette avancée technique a permis de faire progresser les connaissances sur l'épidémiologie de l'infection. Ce point a été illustré par une étude de séroprévalence IgG anti-VHE réalisée sur une même population de donneurs de sang dans différents pays et notamment en France avec l'étude de Mansuy et al. [206] dans laquelle les auteurs comparent la séroprévalence d'une même cohorte de donneurs de sang de la région Midi Pyrénées avec deux techniques. Les résultats ont été dans un premier temps de 16 % avec la trousse de première génération) et de 52 % avec la trousse Wantai.

Nous avons obtenu les chiffres de la séroprévalence anti VHE :

- Avant 2010 à l'aide du rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé intitulé « *The Global Prevalence of Hepatitis E Virus Infection and Susceptibility : A Systematic Review* » [207]
- Entre 2010 et 2014 à l'aide de la révision de 2014 du même rapport [208]
- Après 2014 à l'aide d'une recherche PubMed

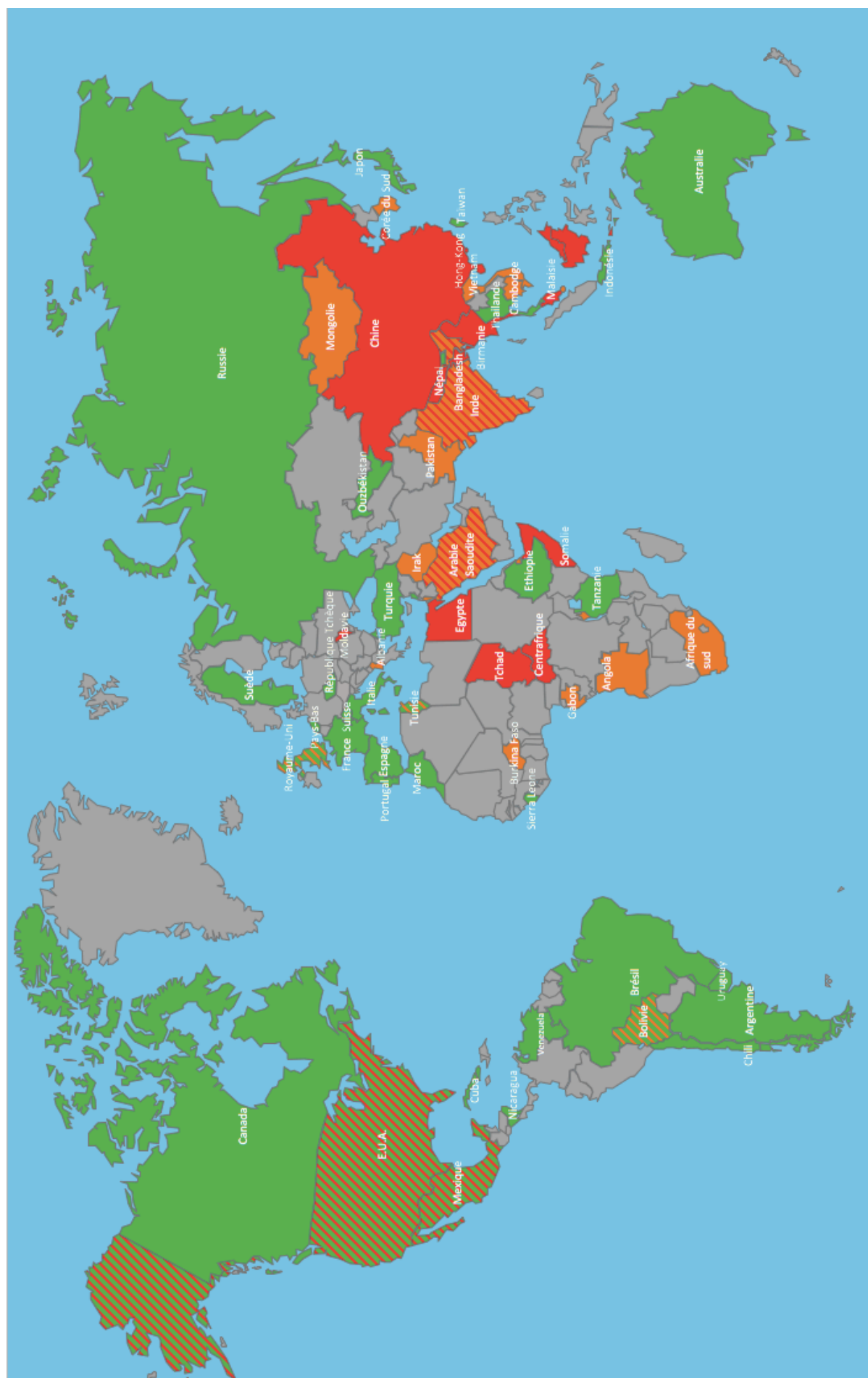
Nous proposons alors deux cartes de séroprévalence anti-VHE. La première concerne les données avant la mise en place de la technique Wantai et la deuxième avec la technique Wantai afin d'observer les évolutions de la séroprévalence anti-VHE.

Les données et les références utilisées pour construire les cartes sont disponibles dans les tableaux suivants les cartes.

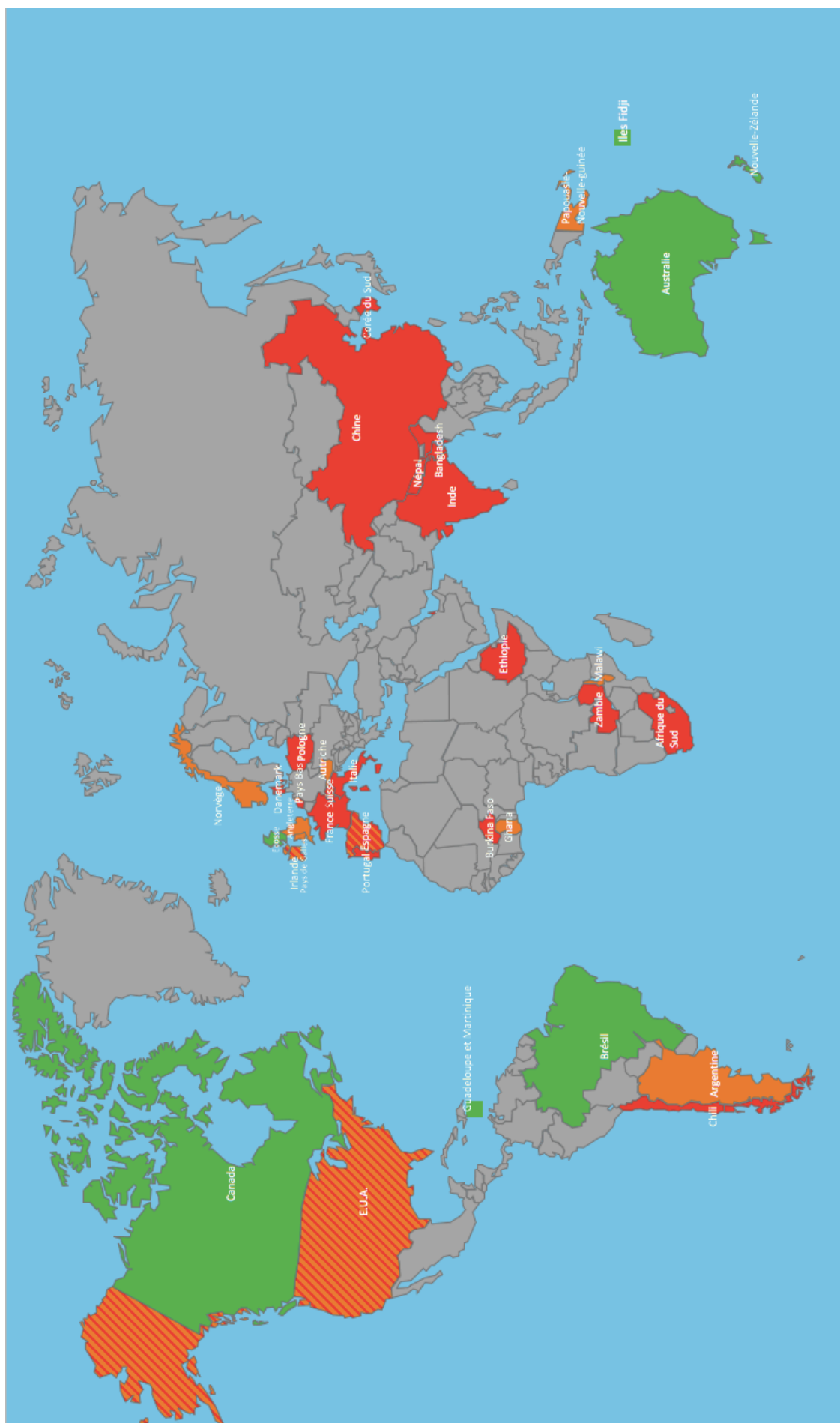
Légende :

- Rouge : séroprévalence > 20 %
- Orange : séroprévalence entre 10 et 20 %
- Vert : séroprévalence < 10 %

1. Représentation des séroprévalences VHE avant la technique Wantai



2. Représentation des séroprévalences VHE avec la technique Wantai



3. Données et références

3.1. Amérique

Pays	Année	réf.	Technique sérologique	Séroprévalence IgG anti VHE (%)		
				Enfants	Adultes	Global
Etats-Unis	1988-1994	[207]	Test maison			21
	1988-1994		DS	2,6	9,9-21,4	10,2
	2009-2010			1,1	4,2-14,6	6
	1997		Genelabs		13,7-31	
	1989		Test maison		3,3	
	1998				0	
	2009		Wantaï		5-12	
	2006	[209]	Wantaï		21,8	
	2012				16	
	2015	[210]	Test maison		3,2	
Canada	1980	[207]	Genelabs		3	
	1998-2000		Abbott		2,4	
	2015	[211]	Wantaï		5,9	
Bolivie	1992-1998	[207]	Test maison		16,2	
	1999		Abbott	3,8-5,5	3,4-15,4	7,3
	2003		Abbott	1,7		
	2006		DiaPro	2,4-8,7	6,3	4,0-24
Mexique	1987-1988		Abbott	1,1-9,6	13,7-14,2	10,5
	1996		Abbott		6,3	
	2006-2007 (campagne)		Diagnostic automation		36,6	
Nicaragua	1990-1992		Abbott		4,6-8,0	
Venezuela	1991-1992		Test maison		1,6-3,9	
Argentine	1994-1995		Abbott	0,15	1,81	
	2012	[212]	Wantaï			15,4
Chili	1996	[207]	Non précisé		7	
	1996		Non précisé		4	
	2012	[213]	Wantaï			32,6
Uruguay	1997	[207]	Abbott		2,8	
Brésil	1994-1998		Abbott		4,3	
	1997		Abbott		3,3	
	2000		Abbott		3	
	1997-1998		Abbott		4,5	
	2002		Abbott	1	0,8-6,9	2,4
	2004		Wantaï		2,0-7,5	
	2012-2014	[208]	Mikrogen			5,3
	2014		Wantaï			9,8

Cuba	2005	[207]	Test maison			5,3
	2000		Test maison		1,4	
	2010		Genelabs	4,2	8,0-14,4	10

3.2. Afrique

Pays	Année	Réf.	Technique sérologique	Séroprévalence IgG anti VHE (%)		
				Enfants	Adultes	Global
Egypte	1992	[207]	Abbott	5,2-17,76	14,3-29,9	17,2
	1993		Non précisé			56,4
	1995		Non précisé			38,9
	1997		Abbott	36,2-75,6	48,1-69,9	67,6
	1998		Non précisé		45,3	
	2006		Genelabs	22,2		
	2010		DiaPro	8,3	17-33	21
Maroc	1995		Abbott			3,95
	2000		Genelabs	2	8,5	7,2
Tunisie	2006	[207]	Globe Diagnostic SRL		12,1	
	2008		Globe Diagnostic SRL		10	
	2009		Globe Diagnostics Srl		4,5	
	2011	[214]	MP diagnostics		5,4	
Angola	1998	[207]	Abbott		12,5	
Gabon	2005		Genelabs	14,8	13,5-16,8	14,1
République centrafricaine	1995		Abbott		24,2	
Burundi	1986		Abbott		14	
Djibouti	1992-1993		Abbott		19	
Ethiopie	1989		Non précisé			3
	2015	[215]	Wantai		31,6	
Somalie	1992-1993	[207]	Genelabs			61,1
Tanzanie	1995		Sorin Biomedica		0	
	1992		Abbott		0,2	
	1996		Abbott			6,6
Zambie	1999		Fortress = Wantai		33-52	
Afrique du Sud	1992		Test maison		2,05	
	1996		Abbott		Ville : 6,6 Campagne : 15,3	Global : 10,7

	2016	[216]	Wantai			27,9
Tchad	1993	[207]	Article non disponible			22
Ghana	2012	[208]	Wantai		15	
Nigeria	2014		Diagnostic Automation	1,4	6,6-55,9	45,5
	2012		DRG International	7,7		
Burkina Faso	2010-2012		DiaPro		19,1	
	2016	[217]	Wantai			39,0
Sierra Leone	1998	[207]	Article non disponible	8		
Malawi	2012	[218]	Wantai			16,5

3.3. Asie

Pays	Année	réf.	Technique sérologique	Séroprévalence IgG anti VHE (%)		
				Enfants	Adultes	Global
Chine	2005-2006	[207]	ELISA MPD HEV 4.0	5,1-8,4	22-34	23,5
	2003-2004		Wantai		43,5	
	2014	[219]	Wantai		28.26	
	2015	[8]	Wantai		30-42	
	2015		Wantai		25-66	
Japon	2010	[207]	Test maison		5,3	
Corée du sud	2006		Wantai		23,1	
			Genelabs		14,3	
Hong-Kong	2008		Biotec Laboratories	6,8 – 8,0	16-56	28,7
Singapore	1993		Genelabs			10-15
Cambodge	2010-2014	[220]	Non précisé	5,8	21,2-35,3	18,4
Malaisie	1998	[207]	Non précisé	40-50	43-67	44-50
Bangladesh	2003-2004		WRAIR; Silver Spring	3,8	27,1-41,5	22,5
	2015		[221]	Wantai		49.8
Israël	2009-2010	[207]	DS	0,5	1,1-37,5	10,6
Turquie	2004		Non précisé	5,7		
Iran	2014	[222]	DiaPro	2,3	46,3	
	2016	[223]				8,1
Mongolie	2002	[207]	Test maison		10-16	
Ouzbékistan	2002		Non précisé		4	
Taiwan	2004		Test maison		8,9	
Bhoutan	1995-1996		Abbott	0	3	2
Inde						

- Sud	2001		Genelabs	1		
- Sud	2001		Test maison	5,3-16,7		
- Nord (urbain)	1996		Test maison	23,8	8-13	
- Nord (rural)	1997		Abbott	59-64	50	
Népal	1992- 1993			Test maison	16	24-31
	2015	[221]	Wantäi			47.1
	2016	[224]	Wantäi			41,9
Pakistan	1999-2000	[207]	Abbott	19	16	
Indonésie	1996		Non précisé			
Bali				18	20	
Lombok				3	4	
Surabaya				0	0,5	
Bornéo (épidémie en 1987				15	50	
Birmanie	1998-2000		Test maison	3	32-42	31,5
Thaïlande	1998-1999		ANOGEN		6,9-10,6	8,7
Vietnam	1994		Abbott	4	11-19	11
Irak	2000		Nuclear Laser Medicine)	0-19	18,7-19,9	17,5
Liban	1998		Non précisé			4
Arabie Saoudite	1995		Test maison		13,9-28,6	
Qatar	2013-2016	[225]	Wantäi			20.7

3.4. Europe

Pays	Année	réf.	Technique sérologique	Séroprévalence IgG anti VHE (%)	
				Enfants	Adultes
Albanie	1993	[207]	Abbott	1,3	13,1
République Tchèque	1989		DiaPro		5,7
	2017	[226]	Mikrogen		8,6
Moldavie	1997-1998	[207]	Test maison		24,7
Russie	1997		Abbott		1,7
	2004			18,2	
	2013	[8]	RPC Diagnostic Systems		4,75
Norvège	2016	[227]	Wantai		14
Danemark	2015		Wantai		19,8
Pays-Bas	2011-2012		Wantai		26,7

Grèce			2014		Adaltis		9,43
Suisse			2013		MP Diagnostics		4,9
					DiaPro		4,2
					Wantai		21,8
Espagne	Catalogne	2006		Biokit		7,3	
		2015		Mikrogen		10,72	
		2015		Wantai		19,97	
		2008		[8]		Bioprobes	4,6
	Grenade	1995	[228]	Abbott	1,79	3,1	
	Madrid	1999		Abbott		3,9	
		2008		Abbott		2,17	
	Valence	2004-2007			Wantai		4,1
Allemagne	Pays	2011	[227]	Axcom		34,3	
		2012		rL Mikrogen (WesternBlot)		16,8	
		2008-2010	[8]	ELISA Mikrogen +WB	1		
	Ouest	2010		ELISA Mikrogen + WB		5,5	
	Est	2011		ELISA Mikrogen		15,5	
	Berlin	2012		ELISA Mikrogen		11	
	Nord	2013		ELISA Mikrogen		6,8	
	Royaume-Uni	Angleterre	Londres	1996	[229]	Abbott	
			1991	[227]	Wantai		13,5
			2004		Wantai		13
Sud-Ouest			1999-2004	[230]	Genelabs		16
			2008	[227]	Wantai		15,8
Nord + Pays de Galles			2010	[230]	Wantai		10
Ecosse		2013	[227]	Wantai		4,7	
Irlande		2016		Wantai		5,3	
	2016	[231]			8-43,8		
Pays Bas		2006-2007	[232]	MP Diagnostics		1,9	
	Nord-Est	2011-2012	[230]	Wantai		27,9	
	Nord-Ouest					23,6	
	Sud-Est					30,5	
	Sud-Ouest					25,1	
Autriche		2009	[233]	Fortress = Wantai		14,3	

		2013-2014	[234]	Wantai		13,6
Italie	Sud (Pouilles)	2003	[235]	Abbott HEV		2,9
	Sud (Pouilles)	2011	[236]	DiaPro		1,3
	Sud (Calabre)	2011	[237]	DiaPro		17,8
	Nord (Lombardie)	2011	[237]	DiaPro		9
	Nord et Centre	2004	[238]	BioChain		8,82
	Centre (Rome)	2002-2011	[239]	DiaPro		5,38
	Centre (Toscane)	2007-2013	[240]	Adaltis		9,1
	Centre (l'Aquila)	2014	[230]	Wantai		49
San Marino		1990-1991	[241]	Abbott		1,5
Portugal		1997	[242]	Abbott		2,5
		2013	[243]	Wantai		33,3
Belgique		2011	[244]	Biorex		14
Suède		2006	[245]	Abbott		9,2
Pologne		2017	[246]	Wantai		49,6
Finlande		2017	[247]	Axiom		5,8
Serbie		2014	[248]	Test maison		15
Croatie		2015	[249]	Mikrogen		5,6

3.5. Océanie

Pays	Année	Ref	Technique sérologique	Séroprévalence IgG anti VHE (%)		
				Enfants	Adultes	Global
Australie	1992	[250]	Abbott		0,4	
	2013	[251]	Wantai		5,99	
Nouvelle Zélande	2006	[252]	Wantai		4	
Nouvelle Calédonie	1998-1999	[253]	Non précisé		1,7	
Papouasie nouvelle Guinée	2003-2005	[254]	Wantai	11,4	16,1	15,2
Iles Fidji				3,3	1,7	2,3
Archipel Kiribati				13,3	6	8,8

Partie 8 : Risque transfusionnel lié au VHE

Le risque transfusionnel est caractérisé par la possibilité de survenue d'un effet indésirable grave chez un receveur de produit sanguin causée par la transfusion de produits contaminés par un pathogène. L'étude du risque transfusionnel doit donc prendre en compte une composante donneur et une composante receveur.

1. Risque transfusionnel : composante donneur

Ce risque est lié à deux caractéristiques concomitantes du donneur infecté au moment du don :
Le donneur de sang doit être prélevé au cours de la phase virémique de l'infection rendant ainsi les produits sanguins potentiellement infectieux et contaminants ;

Et le donneur de sang doit être asymptomatique de telle sorte qu'il puisse passer la barrière de la sélection clinique des donneurs réalisée par le personnel médical de l'EFS lors de l'entretien pré don ;

Il faut aussi prendre en considération, le risque qu'un donneur de sang soit exposé à l'infection. L'importance de la circulation virale peut être appréciée par des études de prévalences des marqueurs de l'infection en population générale.

1.1. Durée de la virémie

Le risque de prélever un donneur virémique est fonction de la durée de la virémie, plus la virémie est longue plus le risque est élevé. La virémie est estimée classiquement à 4 à 6 semaines [56], une étude aux Pays-Bas de suivi de donneurs de sang virémiques a montré que la virémie pouvait se prolonger jusqu'à 68 jours soit près de 10 semaines [255].

Cette notion est quelque fois à moduler car dans le cas de certaines infections (Virus West Nile [256], Dengue), la présence concomitante de charges virales faibles et d'anticorps neutralisants (donc plutôt en fin de virémie) ne rend pas nécessairement le produit sanguin contaminant pour le receveur.

Une revue de la littérature permet d'observer qu'un don virémique est associé à une sérologie négative chez le donneur (IgM et IgG anti VHE négatifs) à hauteur de 75%, ce qui veut dire que les dons ARN VHE positifs ont généralement lieu en début d'infection (voir partie 9).

1.2. Proportion des infections asymptomatiques

Comme nous l'avons vu dans la partie 5 traitant des manifestations cliniques du VHE, l'infection par le VHE est en général asymptomatique avec une fréquence estimée à 67% [257] jusqu'à 98 % [56]. Cette proportion élevée est un élément majeur à prendre en considération

puisque le donneur infecté n'est pas écarté du don sur la base de la présence de signes cliniques évocateurs d'une infection lors l'entretien pré-don.

1.3. Exposition de la population des donneurs de sang à l'infection VHE

Les études de prévalence du marqueur signant une infection active (ARN VHE) permettent d'estimer le nombre potentiel de dons infectés et les études de séroprévalence permettent d'évaluer l'importance et les éventuelles variations géographiques de la circulation virale.

Prévalence de l'ARN VHE dans les populations de donneurs de sang :

La présence de l'ARN du VHE a été mise en évidence avec des prévalences variant selon les pays. Nous résumons l'état des connaissances à ce sujet dans le tableau ci-dessous :

	Pays	Dons ARN VHE +		Nombre de dons	Pool / unitaire	Réf
2017	Canada	0	0	13,993	Pool 100	[211]
2016	Australie	1/14 799	0,007%	14 799	Unitaire	[258]
2013	Ecosse	1/14 520	0,007%	43 560	Pool 24	[8]
2014	USA	1/ 9 500	0,010%	18 829	Unitaire	
2013	Japon (Hokkaido)	1/ 9 050	0,011%	2 500 000	Pool 20	
2012	Suède	1/ 7 986	0,012%	95 835	Pool 96	[259]
2012	Allemagne	1/ 6 925	0,014%	93 955	Pool 96	[260]
2012	Allemagne	1/ 4 525	0,022%	18 100	Pool 96	[259]
2014	Espagne (Catalogne)	1 / 3 333	0,030%	9998	Unitaire	[261]
2012	Allemagne	1/ 3 050	0,033%	12 200	Pool 100	[8]
2014	Angleterre	1/ 2 848	0,035%	225 000	Pool 24	[262]
2016	Irlande	1/ 2 778	0,036%	47 229	Unitaire	[263]
2011	Pays Bas	1/ 2 436	0,041%	41 415	Unitaire	[8]
2016	Danemark	1/ 2 331	0,043%	25 637	Unitaire	[264]
2014	France	1/ 2 218	0,045%	53 234	Pool 96	[265]
2014	Allemagne	1/ 2 027	0,049%	91 216	Pool 100	[8]
2013	Allemagne	1/ 1 760	0,057%	72 200	Pool 100	
2011	Allemagne	1/ 1 240	0,080%	16 125	Pool 48	
2016	France	1/ 1 560	0,060%	9363	Pool 6	[266]
2016	France	1/ 744	0,134%	5211	Unitaire	
2016	Pays Bas	1/ 726	0,137%	59 474	Pool 96	[267]
2014	Pays Bas	1/ 658	0,150%	11 191	Pool 96	[8]
2003	Inde	1/ 50	2%	200	Unitaire	

On s'aperçoit qu'il existe de forte variation géographique concernant la présence de l'ARN du VHE témoignant d'une épidémiologie complexe pour cette zoonose.

1.4. Caractéristiques des dons ARN VHE positifs

1.4.1. Sérologie

Dans la plupart des études les dons de sang ARN VHE positifs ont été prélevés à une phase précoce de l'infection au cours de laquelle les anticorps IgM et IgG anti-VHE ne sont pas détectables.

Le tableau suivant résume les profils sérologiques de plusieurs études :

Pays	Auteurs	Kits sérologie	Dépistage Pool/unitaire	Effectifs donneurs	IgG et IgM négatifs	IgG négatifs et IgM positifs	IgG positifs et IgM négatifs	IgG et IgM positifs
Allemagne	Adlhoeh et al [268]	MP diagnostics	Unitaire	3	67%	0%	0%	33%
Allemagne et Suède	Baylis et al [259]	Wantai	Pool 96	12	67%	17%	8%	8%
Allemagne	Vollmer et al [269]	MP diagnostics	Pool 48	13	77%	8%	0%	15%
Pays Bas	Slot et al [255]	Wantai)	Pool 96	13	69%	0%	15%	15%
Japon	Minagi et al [270]	Kit maison	Pool 50 ou 500	36	81%	0%	14%	6%
Autriche	Fisher et al [234]	Wantai	Pool 96	7	100%	0%	0%	0%
Irlande	O'Riordan et al [271]	Wantai	NR	5	80%	20%	0%	0%
Danemark	Harritshoj [264]	Wantai	Unitaire	10	50%	0%	10%	40%
Pays Bas	Vollmer et al [272]	Wantai	Unitaire	10	70%	10%	0%	20%
France	Gallian et al [265]	Wantai	Pool 96	23	78%	0%	0%	22%
Angleterre	Tedder et al [273]	Wantai	Pool 96	79	72%	2%	5%	21%
Moyenne					74 %	5%	5%	16%

La plupart des études retrouvent une sérologie négative lors du don ARN VHE positif avec une moyenne de 74%.

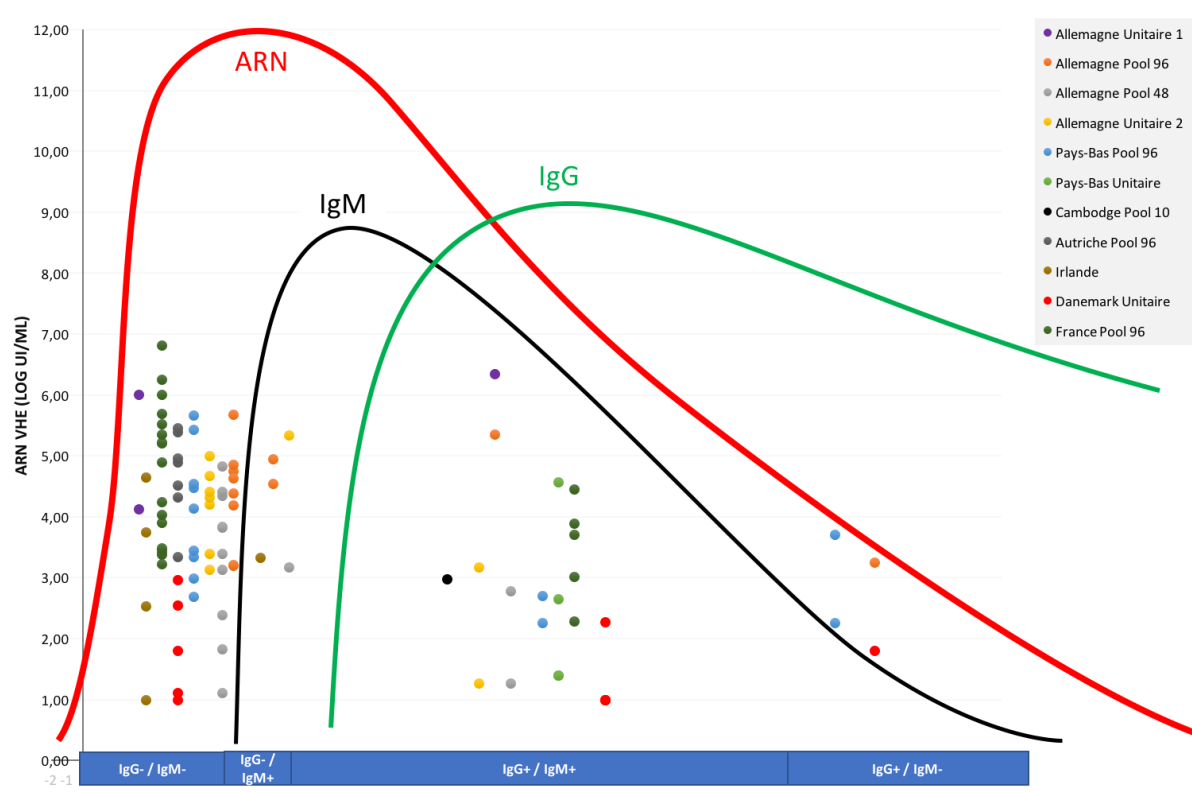
Cependant, certains auteurs observent des sérologies négatives associées à une virémie de manière moins fréquentes. C'est le cas de l'étude japonaise de Sakata et al [274] qui retrouve un profil sérologique négatif dans 13% des cas et positif (IgM et/ou IgG positif) dans 87% des cas. C'est aussi le cas de l'étude chinoise de Wang et al [275] dans laquelle la proportion de sérologie négative est de 33%. Ces études ne sont pas tout à fait comparables à la nôtre puisqu'elles s'intéressent à des donneurs dont les ALAT sont élevées à > 200 UI/L (pour l'étude japonaise) et à > 60 UI/L (pour l'étude chinoise). Or comme nous l'avons exposé dans la partie 6, les ALAT s'élèvent chez maximum 40% des patients et lorsqu'elles sont élevées, les IgM et/ou les IgG sont positifs.

1.4.2. Charge virale

Nous résumons dans le tableau suivant la charge virale des dons ARN VHE positifs ayant un profil sérologique négatif des études publiées sur ce sujet.

Charge virale moyenne (UI/mL) pour les donneurs ayant un profil sérologique négatif		
Allemagne et Suède	Baylis et al [259]	43 028
Allemagne	Vollmer et al [269]	13 423
Pays Bas	Slot et al [255]	91 719
Japon	Minagi et al [270]	10 091
Autriche	Fisher et al [234]	109 600
Irlande	O’Riordan et al [271]	12 640
Danemark	Harritshoj [264]	340
Pays Bas	Vollmer et al [272]	31 020
France	Gallian et al [204]	618 064

Nous avons établi un graphique des charges virales (en UI/mL) en fonction du profil sérologique du don ARN VHE positif pour différentes études :



Etude de séroprévalence :

Comme nous l'avons vu dans la partie 7, l'infection par le VHE est ubiquitaire dans le monde avec cependant des taux de prévalence variant selon les continents, les pays voire parfois selon les régions d'un même pays. Les variations dues aux trousseaux sérologiques utilisés doivent aussi être prises en compte lors de l'interprétation des données.

Les taux élevés d'ARN viral observés en France sont confirmés par ces études de séroprévalence montrant qu'environ 25% des donneurs de sang en France ont été en contact avec le virus VHE.

En 2007, Boutrouille et al. [276] ont étudié la séroprévalence IgG antiVHE dans la population générale pour la première fois. Cette étude a été effectuée sur 1998 donneurs de sang de deux régions différentes : Ile de France et Pays de la Loire. Ensuite, d'autres études se sont intéressées aux autres régions de France. Toutes les études sont résumées dans ces tableaux :

Réf	[276]		[206]		[277]		
Région	Ile de France	Pays de la Loire	Toulouse (urbain)	Ariège (Rural)	Midi-Pyrénées		
					Urbain	Rural	Enfants
Effectif	998	1000	267	262	268	244	188
Type de population	Donneurs de sang (adultes)						Enfants hospitalisées en chirurgie
IgG AntiVHE (%)	2,91	3,50	14,2	19,1	42,9	63,1	3,7
	3,20		16,6		52,5		
Technique	Genelabs				Wantai		

Réf	[278]										
Région	Midi-Pyrénées							Languedoc-Roussillon			
	Ariège	Aveyron et Lot	Gers	Haute Garonne	Hautes Pyrénées	Tarn	Tarn et Garonne	Aude	Gard et Lozère	Hérault	Pyrénées orientales
Effectif	94	172	171	777	234	263	186	191	246	656	363
Type de population	Donneurs de sang (adultes)										
IgG AntiVHE (%)	71,3	23,2	37,4	46,3	32,9	36,5	44,6	64,9	21,9	32,3	36,6
	41,5							35,9			
	39										
Technique	Wantai										

En 2016 [277], une étude nationale dresse une carte de la France métropolitaine et DOM TOM de la séroprévalence IgG anti VHE (Wantai). Les auteurs ne précisent pas les chiffres de tous les départements mais il en ressort :

Groupe de séroprévalence		Nombre de départements	Séroprévalences remarquables
1-10 %		3	Mini : 8,0% (Haute-Loire) Moyenne : 22,4 % Maxi : 86,4% (Ariège)
10 – 30 %		79	
> 30 % :		16	
Sud-Ouest	64,6 %	8	
Sud-Est (+ Corse)	38,3 %	5	
Nord-Est		3	

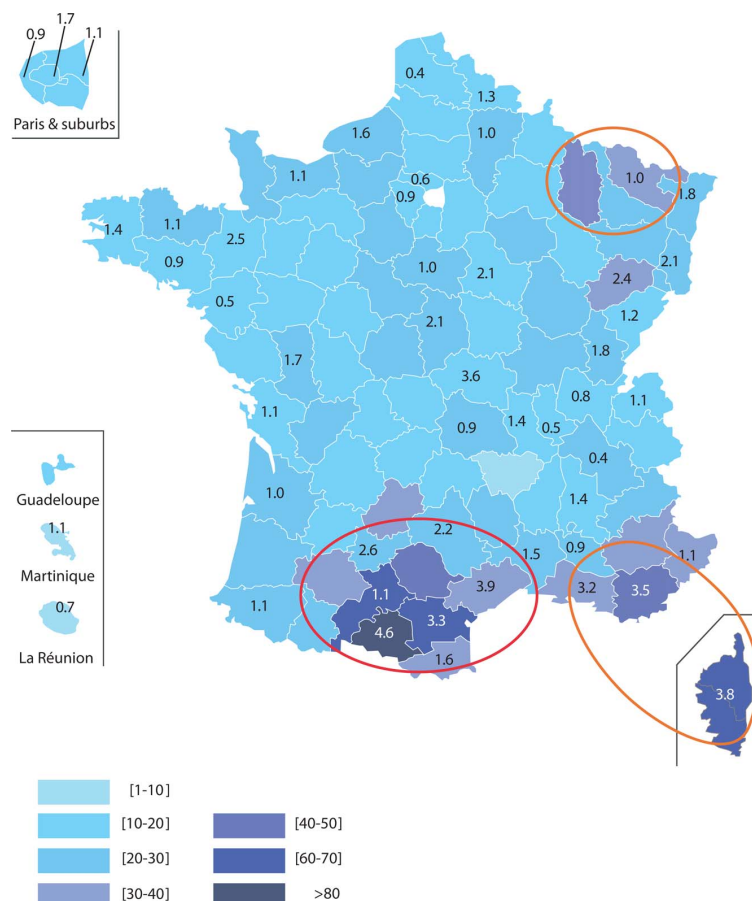


FIG. 1. Prevalence of anti-HEV IgG and IgM: distribution in French administrative areas. A color code describes the anti-HEV IgG seroprevalence classes. Black numbers represent the seroprevalence of anti HEV IgM in each administrative area.

A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors, Mansuy et al. 2016 [277]

Au total, le risque que des dons infectieux soient prélevés en France est important car la virémie peut être longue : jusqu'à plus de 2 mois, la proportion de formes asymptomatiques est très élevée et l'infection par le VHE est présent sur l'ensemble du territoire français avec des variations régionales et avec une prévalence ARN VHE moyenne de l'ordre de 1/1000 dons collectés. De plus, les dons sont très généralement séronégatifs.

2. Risque transfusionnel : composante receveur

Les formes sévères de l'infection par le VHE-3 pouvant affecter les receveurs de produits sanguins sont :

- Les formes fulminantes chez des patients présentant des pathologies hépatiques sévères pré existantes (ex : patients atteints de cirrhose alcoolique en attente de greffe hépatique [56])
- Les formes chroniques de l'infection pouvant évoluer rapidement vers une fibrose hépatique puis une cirrhose [56].

Pour les formes chroniques les populations à risque ont été identifiées et les patients concernés présentent un état d'immunodépression. Il s'agit de malades transplantés d'organe, de patients

ayant un traitement immunosuppresseur (hémapathies/onco-hématologie), de patients coinfectés par le VIH et le VHE. Ces catégories de patients sont souvent transfusées et sont donc à risque d'être infectées par le VHE et de manière soit chronique soit sévère.

La population des receveurs de produits sanguins est une population de malades généralement âgés et présentant un statut immunitaire affaibli en particulier par leurs pathologies et/ou leurs traitements (ex traitement immunosuppresseur des hémapathies).

Le risque transfusionnel est donc potentiel pour les receveurs de produits sanguins principalement au décours de transplantations (organes, tissus) de greffes de cellules et de traitements d'hémapathies et dans une moindre fréquence pour des patients infectés par le VIH ou présentant une affection hépatique pré existante sévère.

3. Cas de contamination par transfusion : un risque avéré

En 2000, en Inde, où l'hépatite E est endémique, une équipe a signalé trois cas d'hépatite E potentiellement transmis par transfusion [279]. Néanmoins, ils n'ont pas réussi à démontrer l'association de la transfusion sanguine avec l'infection par l'hépatite E par analyse moléculaire des souches.

La certitude d'un risque de transmission du VHE par produits sanguins a été démontrée de façon expérimentale en 2004 suite au déclenchement d'une infection chez un singe rhésus par l'injection de plasma d'un sujet présentant une hépatite E aiguë. Et c'est la même année que le premier cas certain d'infection par le VHE après transfusion, au Japon, a été publié [280].

3.1. Situation dans le monde

En 2014, Patricia Hewitt et al. [262] a étudié le risque transfusionnel lié au VHE dans la population des donneurs de sang anglais. Sur 225 000 dons de sang, l'équipe a identifié 79 donneurs ARN VHE positif. Les dons ont conduit à la fabrication de 129 produits sanguins labiles dont 62 ont été transfusés à 43 receveurs qui ont été suivis. 18 receveurs avaient un ARN VHE positif. A partir de ces résultats l'équipe a identifié les types de PSL incriminés et leur taux de transmission. Tous les types de PSL sont impliqués avec des taux de transmission différents (voir tableau suivant). Au total, 42% des PSL ont conduit à une contamination par le VHE chez un receveur, avec des variations de 25% pour les CGR à 100% pour les plasmas et les concentrés de granulés d'aphérèse.

	Culots de globules rouges	Plaquettes		Plasma	Granuleux	PSL
		Mélange	Aphérèse			
Nombre de receveurs	16	10	14	2	1	43
Nombre de receveurs infectés	4	4	7	2	1	18
Taux de transmission	25 %	40 %	50 %	100 %	100 %	42%

Le risque de transmission est significativement plus élevé si la charge virale du PSL est élevée.

Cette étude a été complétée par une estimation du risque transfusionnel au regard du risque alimentaire (Tedder et al. [273]) et conclue en proposant une formule où le risque transfusionnel lié au VHE est égal au risque alimentaire à partir de 13 PSL transfusés.

Les cas publiés d'infection par le VHE liés à une transfusion de PSL sont résumés dans le tableau ci-dessous par type de PSL :

	Date	Contexte de la transfusion	Symptomatologie		Pays	Génotype VHE	Dose infectante (UI)	Charge virale donneur (UI/mL)
			Donneur	Receveur				
Plasma	2004	Chirurgie cardiaque	Asympto	Aigue	Japon	4		
	2006	Cirrhose biliaire primitive	Ictère	Ictère	Royaume-Uni	3		
	2014	2 patients / 1 donneur - Greffe rénale - Greffe hépatique	Asympto	Asympto	France	3f		
	2014	Purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT)	NR	NR	Canada	3		
	2015	Leucémie aiguë myéloïde + CIVD sous chimiothérapie	NR	Cytolyse biologique	Japon	3		
	2016	Transplanté rénale	NR	Cytolyse biologique	France	3f		31 622 776
	2017	Greffe hépatique	NR	Cytolyse biologique	Australie	3		947
Culots de Globules rouges	2006	Lymphome testicule		Ictère	Royaume-Uni	3		
	2007	Lymphome sous chimiothérapie	NR	Aigue puis chronique	Japon	3		
	2007	Tumeur rhabdoïde rénale	Asympto	Ictère	France	3f		
	2014	Acutisation d'une AREB1	NR	Cytolyse	Japon	3		1 200
	2017	Chirurgie pour anévrisme mycotique	Asympto	Fatigue ictère	Espagne	3		75 000
Plaquettes	2008	Lymphome Hodgkin	Asympto	Aigue	Japon	4		
	2012	Cardiopathie ischémique + Purpura thrombopénique idiopathique	Asympto	Ictère	France	3f		17 000
	2013	Immunodépression	Asympto	VHE chronique	Allemagne	3	7 056	120
	2015	Chirurgie cardiaque	Asympto	Asympto	Japon	3	4 920 836	
	2017	Immunocompétent : Accident de ski	NR	Ictère	France	3f		230
	2017	2 patients / 2 donneurs : Transplantés d'organe	NR	NR	France	3f	316 227	

3.1.1. Hépatite E transmise par transfusion de plasma

- En 2004 le premier cas d'infection par le VHE après transfusion de 23 produits sanguins a été décrit au Japon. C'était la première fois qu'une analyse phylogénétique révélait que l'infection par le VHE chez un receveur était liée à un plasma frais congelé infecté. En effet, la souche d'ARN du VHE détectée chez le donneur avait une identité complète avec celle détectée chez le receveur [280].
- En 2006, le premier cas européen d'infection par le VHE transmis par transfusion de plasma a été rapporté au Royaume-Uni [281]. Alors que chez le receveur, l'infection était asymptomatique (à l'exception d'un ictère léger et d'une élévation des enzymes hépatiques), le donneur a développé une hépatite E aiguë et a fait un signalement post don qui a conduit à une enquête.
- En 2014, la première étude sur le continent américain est canadienne [97]. Il s'agit de deux patients avec un PTT traité par des transfusions itératives de plasma. L'ARN a été retrouvé chez les deux receveurs. Cependant, aucun aliquot des plasmas transfusés n'était disponible afin de comparer les souches virales. Le seul argument des auteurs était épidémiologique et basé sur le fait que ces deux patients ont reçu du plasma issu du même donneur.
- En 2015, une équipe japonaise [282] a rapporté la transmission d'une souche VHE génotype 3 par une transfusion de plasma chez une patiente traitée par chimiothérapie pour une leucémie aiguë myéloïde.
- En 2017, la première étude australienne [283] rapportant une transmission par transfusion de plasma a été publiée. Il s'agit d'un garçon de 6 ans transfusé avec 18 PSL lors d'une transplantation hépatique. Le donneur avait mangé du porc dans le sud de la France lors d'un voyage quelques semaines avant le don.

3.1.2. Hépatite E transmise par transfusion de CGR

- En 2006, une infection par transfusion de CGR a été publiée au Royaume-Uni [281]. Il s'agit d'un receveur suivi pour un lymphome testiculaire. Le donneur était le même que celui de la transmission par plasma (voir plus haut).
- En 2007 et 2014, deux autres cas d'infection à VHE suite à une transfusion de CGR ont été décrits au Japon [284], [285]. Le premier receveur était sous chimiothérapie pour un lymphome et le deuxième a eu besoin d'un support transfusionnel dans le cadre d'une acutisation d'une AREB1.
- En 2017, le dernier cas publié dans la littérature internationale est un cas espagnol [286]. Ce cas documente la notion qu'une transmission par transfusion à un receveur immunocompétent

était possible. En effet, le receveur a été transfusé en CGR dans le cadre d'une chirurgie pour un anévrisme mycotique.

Dans tous les cas, l'homologie de séquence génomique du VHE chez le donneur et le receveur a été observée. Il s'agit de souches VHE de génotype 3.

3.1.3. Hépatite E transmise par transfusion de plaquettes

- En 2008, le premier cas d'infection par le VHE transmis par transfusion de plaquettes a été signalé au Japon [287]. Une étude rétrospective a révélé que le donneur avait été infecté en consommant du porc grillé 23 jours avant le don.
- En 2013, une publication [93] concerne un patient allemand immunodéprimé transfusé en plaquettes et ayant développé une hépatite E chronique.
- En 2015, un cas d'un japonais [288] infecté par le VHE lors d'une transfusion de plaquettes a été publié. Le contexte de la transfusion est une chirurgie cardiaque.

Dans ces cas, la même souche a été isolée chez le receveur et chez le donneur.

3.2. Situation en France

3.2.1. Les produits sanguins labiles en France : généralités

Trois types de plasma thérapeutiques sont actuellement autorisés en France et distribués par l'EFS comme produits sanguins labiles :

- **Le plasma frais congelé sécurisé par quarantaine (PFC-Se)** : ce plasma est issu d'un don unitaire de sang total ou d'aphérèse, déleucocyté et congelé dans les 24 heures après le prélèvement et ne subit aucun traitement physico-chimique. Il est sécurisé par une quarantaine minimale de 60 jours et libéré uniquement après un nouveau contrôle du donneur à l'issue de cette période.
- **Le plasma frais congelé viro-atténué par amotosalen (PFC-IA)** : ce plasma est issu d'un don unitaire d'aphérèse ou d'un mélange de 5 à 6 dons issus de sang total, déleucocyté et traité dans les 8 à 12 heures par une méthode d'atténuation des pathogènes associant un psoralène (amotosalen-HCl) à une illumination par les UVA. Lors de l'illumination, les molécules d'amotosalen induisent des liaisons covalentes avec les ARN viraux, les empêchant de se répliquer. L'amotosalen résiduel est ensuite adsorbé.
- **Le plasma lyophilisé (PLYO)** : ce plasma est jusqu'à présent destiné aux unités militaires déployées en Operations Extérieures. Il est issu d'un mélange de 10 dons différents au maximum à partir d'aphérèse et viro-atténué par amotosalen. Le plasma lyophilisé est produit par le Centre de Transfusion Sanguine des Armées (CTSA).

Le PFC-Se et le PFC-IA sont produits par l'EFS. Ces plasmas se conservent 1 an à -25°C à partir de la date initiale du don et 6 heures à température ambiante après décongélation.

Un dernier type de plasma thérapeutique existe. C'est le **plasma frais congelé viro-atténué par solvant/détergent (PFC-SD)**. Ce plasma est constitué d'un mélange de plasmas issus de dons d'aphérèse ou de sang total. Il est traité par une méthode d'atténuation des pathogènes associant un détergent (tri n-butyl phosphate : TnBP) et un solvant (TritonX100). Le PFC-SD que produisait l'EFS était un mélange de 100 dons d'aphérèse. Le PFC-SD produit dans d'autres pays est un mélange pouvant comprendre 1 000 à 1 500 dons. Suite à l'adoption de la loi de financement de la Sécurité Sociale en 2015, le PFC-SD a été retiré de la liste et des caractéristiques des produits sanguins labiles. Ce type de plasma est aujourd'hui un Médicament Dérivé du Sang (MDS).

L'essentiel du plasma prélevé par l'EFS (90%) est adressé au Laboratoire français du Fractionnement et des Biotechnologies (LFB), établissement sous contrôle de l'Etat, pour la fabrication de médicaments dérivés du sang (MDS) (albumine, facteurs de coagulation et les immunoglobulines).

Bien qu'il n'existe pas à ce jour de recommandations internationales ni de recommandations de bonnes pratiques de la HAS sur la vérification d'absence de virus de l'hépatite E (VHE) pour le plasma ; en France, l'EFS fait un dépistage génomique viral (DGV) du VHE sur une fraction des plasmas quelque soit son type.

Si l'on se réfère à l'article 1, II, 3° de la décision du 20 octobre 2010 fixant la liste et les caractéristiques des produits sanguins labiles (modifiée par décision du 9 janvier 2015) :

« *La qualification VHE négatif s'applique :*

- *au plasma frais congelé sécurisé par quarantaine issu de sang total ou d'aphérèse pour lequel le contrôle de l'absence du génome viral du VHE est effectué ;*
- *au plasma frais congelé d'aphérèse traité pour atténuation d'agents pathogènes par amotosalen pour lequel le contrôle de l'absence du génome viral du VHE est effectué ;*
- *au plasma lyophilisé déleucocyté traité pour atténuation d'agents pathogènes par amotosalen pour lequel le contrôle de l'absence du génome viral du VHE est effectué. »*

De plus, la pharmacopée européenne de 2015 introduit l'obligation du DGV pour le VHE sur les plasma-SD [289].

L'EFS recommande d'utiliser préférentiellement un plasma VHE free chez les patients pour lesquels l'infection par ce virus peut entraîner des complications dans les situations suivantes :

- Greffes d'organes
- Greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)
- Autres déficits immunitaires
- Hépatopathies chroniques.

Les besoins des malades sont estimés à 15% selon les établissements de santé. 20 % environ du stock de PFC de l'EFS fait l'objet d'un dépistage de l'ARN du VHE.

3.2.2. Cas publiés de transmission du VHE par produits sanguins en France

En 2017, Domanović et al. [263] publie, dans Eurosurveillance, un article faisant le point sur la transmission du VHE par transfusion en Europe. Concernant la France entre 2006 et 2013, 16 cas de transmission du VHE par transfusion ont été signalés, tous de génotype 3 et principalement chez des receveurs de greffe d'organes solides immunodéprimés ainsi que des patients sous traitement de chimiothérapie pour de l'oncohématologie. Tous les types de PSL sont incriminés.

3.2.2.1. Hépatite E transmise par transfusion de plasma

Deux cas [290] de transmission du VHE par des unités de plasma traités par Intercept™ provenant du même donneur ont été publiés. Les virus non enveloppés comme le VHE sont connus comme étant résistants au traitement solvant/détergent et cette nouvelle transmission VHE par le plasma congelé traité par Intercept™ met également en évidence la résistance du VHE à la technologie de réduction des pathogènes par Intercept™. Les receveurs étaient des patients transplantés de rein et de foie. Le génotype était 3f.

Un cas de transmission du VHE par échange plasmatique a été publié en 2016 [291]. Il s'agit d'une patiente de 48 an traitée par échange plasmatique dans le cadre d'un rejet de transplantation rénale.

Le plasma-SD a été impliqué dans plusieurs cas de contamination de receveur et a justifié la mise en œuvre d'un test de DGV VHE dès fin 2012.

3.2.2.2. Hépatite E transmise par transfusion de CGR

En 2016, Colson et al. [292] décrit le premier cas en France. C'est un enfant souffrant d'une infection par le VHE transmis par transfusion après l'administration de concentré de globules rouges. Le receveur ne présentait pas de signes cliniques. L'augmentation des transaminases a conduit à des investigations qui ont permis le diagnostic d'infection par le VHE.

3.2.2.3. Hépatite E transmise par transfusion de plaquettes

Deux cas de transmission du VHE par transfusion de plaquettes ont été publiés.

En 2012 [293], il s'agit d'un patient de 81 ans transfusé par des plaquettes dans le cadre d'un PTI. La contamination par la transfusion de plaquette a été objectivée par la même souche chez le donneur et le receveur. La donneuse est une femme de 53 ans vivant en campagne et consommant de la viande de porc crue.

En 2017 [294], il s'agit d'un patient immunocompétent qui a reçu 9 CGR, 7 PFC et une poche de MCPS infectée.

3.2.2.4. Hépatite E transmise par transfusion de PSL non précisé

En 2017, Lhomme et al. [295] dispose d'une cohorte de 60 patients transplantés d'organe dont le sérum est positif pour ARN VHE. 7 patients ont reçu des transfusions de PSL et 3 ont été transfusé par des produits ARN VHE positif issus de 3 donneurs différents. Parmi ces 3 patients, seulement 2 sont infectés par une souche avec une identité génétique supérieure à 99% avec la souche du donneur. Les auteurs ne font pas mention du type de PSL mais rapporte que la dose infectante des produits est de 5,5 log UI.

3.2.3. Récapitulatif des EIR déclarés entre 2006 et 2015 liés au VHE en France

En France, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a publié en 2015, un récapitulatif des événements indésirables receveurs (EIR) dus au VHE.

Cette analyse est rétrospective et descriptive, elle fait la liste des EIR VHE d'imputabilité forte (probable (2) ou certaine (3)), déclarés dans la base e-FIT du 1er janvier 2006 au 31 décembre 2014.

La définition des niveaux de l'imputabilité est :

- Imputabilité probable : souches virales du receveur et du donneur sont du même génotype, mais que la comparaison phylogénétique n'a pu être faite, ou n'a pas permis de conclure à l'identité des souches.
- Imputabilité certaine : la comparaison phylogénétique a été faite et a permis de conclure à l'identité des souches virales receveur et donneur, ou que ces souches ne sont pas différenciables.

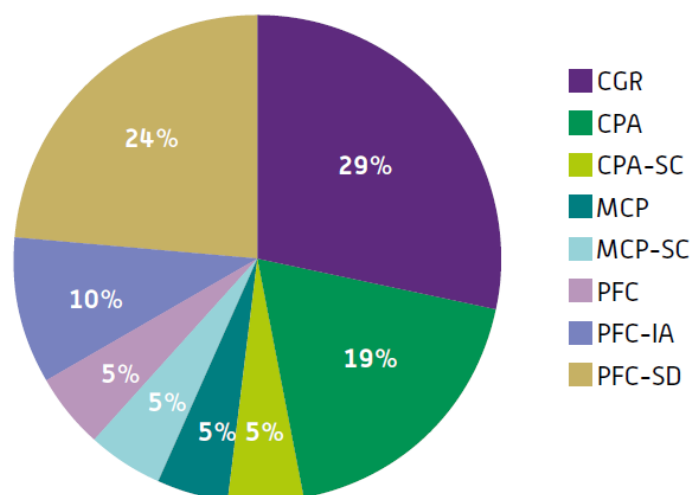
De 2006 à 2014, 108 EIR d'origine infectieuse ont été déclarés dans la base e-FIT répartis de la façon suivante :

- 60 par agent bactérien,
- 3 de nature parasitaire,
- 45 dus à des virus dont 21 cas de VHE fortement imputables à la transfusion soit 12,28 % des EIR « infectieux » ou 47 % des EIR « viral ». Ce qui correspond à 0.08 EIR VHE pour 100 000 PSL cédés.

Parmi ces 21 cas d'hépatite par le VHE, il y en a bien 16 qui sont d'imputabilité certaine (niveau 3) comme on peut le retrouver dans l'article de Domanović et al. [263] et 5 d'imputabilité probable (niveau 2).

Tous les types de PSL peuvent transmettre le VHE, indépendamment de leur mode de préparation :

- Plasma : 39 %
- Plaquettes : 34 %
- Globules rouges : 29%



4. Eléments à préciser concourant dans l'appréciation du risque transfusionnel

Certaines données utiles dans l'appréciation du risque restent à déterminer comme la charge virale minimale infectieuse ainsi que le rôle protecteur des anticorps anti-VHE.

4.1. Dose minimale infectieuse

La dose minimale infectieuse est un paramètre difficile à estimer car il dépend en partie de la susceptibilité individuelle à l'infection et tout particulièrement de la situation immunitaire de l'individu. C'est ainsi qu'il peut être observé que les produits sanguins issus du même don infecté transfusés à 2 receveurs différents puisse conduire à la contamination de l'un deux et à l'absence de contamination de l'autre.

Une estimation de la dose minimale infectieuse chez les patients à risque de développer une forme sévère de l'infection est nécessaire pour déterminer les seuils de détection efficaces à appliquer lors de la mise en œuvre d'un test de dépistage du génome viral.

Les doses infectieuses en ARN VHE observées lors de cas de contamination par produits sanguins et décrits dans la littérature sont consignées dans le tableau ci-dessous.

	Génotype VHE	Charge virale du donneur (UI/mL)	Dose infectieuse (UI)	Réf
Plasma	3f	31 622 776		[291]
	3	947		[283]
CGR	3	1 200		[285]
	3	75 000		[286]
Plaquettes	3f	17 000		[293]
	3	120	7 056	[93]
	3		4 920 836	[288]
	3f	226		[294]
PS	3f		316 227	[295]

A ce jour, la dose infectieuse la plus basse ayant conduit à une contamination avérée du receveur est de 7 056 IU. Cette contamination a été observée lors de la transfusion d'un concentré plaquettaire à un homme de 47 ans, immunodéprimé qui a développé une hépatite E chronique. La charge virale du donneur était de 120 UI/mL.

Les doses minimales infectieuses observées lors de cas de contamination en France feront l'objet d'une prochaine publication mais sont à ce jour, toutes supérieures à cette valeur.

4.2. Rôle protecteur des anticorps anti-VHE

4.2.1. Niveau de protection des IgG anti-VHE

Le niveau de protection apporté par les anticorps neutralisants IgG anti-VHE résultant d'une infection ancienne est important à estimer d'autant plus que 25% des donneurs de sang ont été en contact avec le virus au cours de leur vie et que les études montrent que la prévalence IgG anti-VHE augmente avec l'âge. Ce paramètre est important en particulier pour estimer la protection des receveurs de PSL souvent âgés mais aussi pour déterminer la potentielle susceptibilité des donneurs de sang à être réinfectés.

A ce jour, il n'y a pas de seuil IgG anti-VHE de protection défini vis-à-vis de l'infection par le VHE. Toutefois, plusieurs taux ont été proposés dans la littérature en particulier au décours des études conduites sur les essais vaccinaux (Zhang et al. [200] et Shrestha et al. [203]) et sur une étude sur le risque de réinfection des patients transplantés (Abravanel et al. [157]).

Les différents taux de protection proposés varient de 1 UI/mL à 10 UI/mL, en passant par 2,5 UI/mL et par 7 UI/mL (voir partie 6).

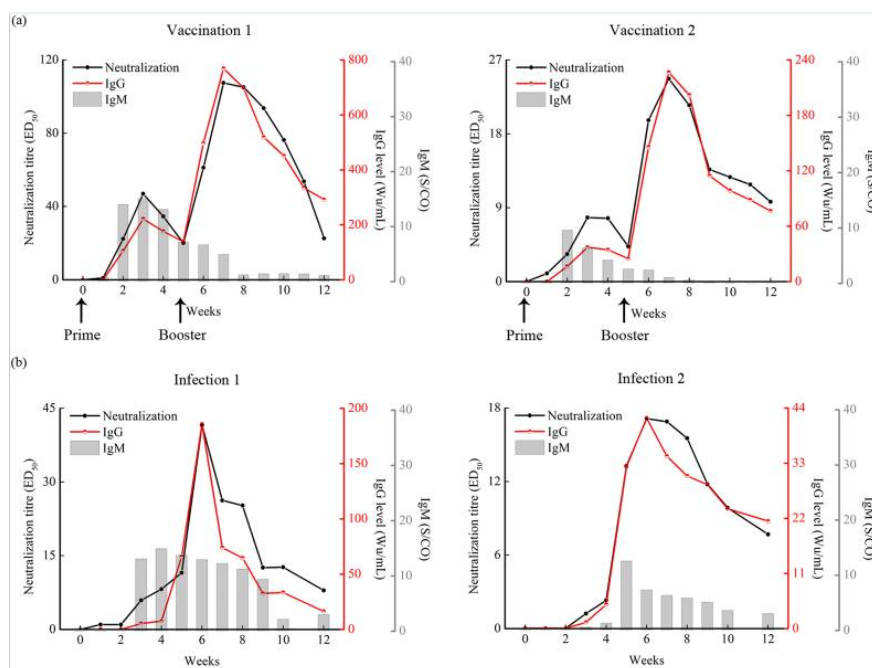
4.2.2. Pouvoir neutralisant des IgG anti-VHE

Le pouvoir neutralisant des anticorps est une information essentielle pour laquelle peu de données sont disponibles car la réalisation de tests de séroneutralisation est peu pratiquée.

Le développement de tests de séroneutralisation des anticorps anti-VHE est un challenge scientifique qui permettra d'affiner les données de séroprévalence et d'estimer le niveau de protection apporté par ces anticorps indépendamment du titre pour les personnes vaccinées et

pour les malades appartenant aux populations à risque de présenter des formes sévères de l'infection.

L'étude de Cai et al. [296] en 2016 apporte quelques éléments de réponse. C'est une étude expérimentale de vaccination/infection de 4 macaques dans le but de valider une nouvelle méthode d'évaluation des titres d'anticorps neutralisants contre le VHE. En effet, les méthodes traditionnelles pour évaluer les titres d'anticorps neutralisants contre le VHE sont la PCR en temps réel et l'immunofluorescence, qui sont peu reproductibles et opérateurs dépendants. Dans cette étude, les auteurs développent un nouveau test de neutralisation à haut débit par cytométrie en flux.

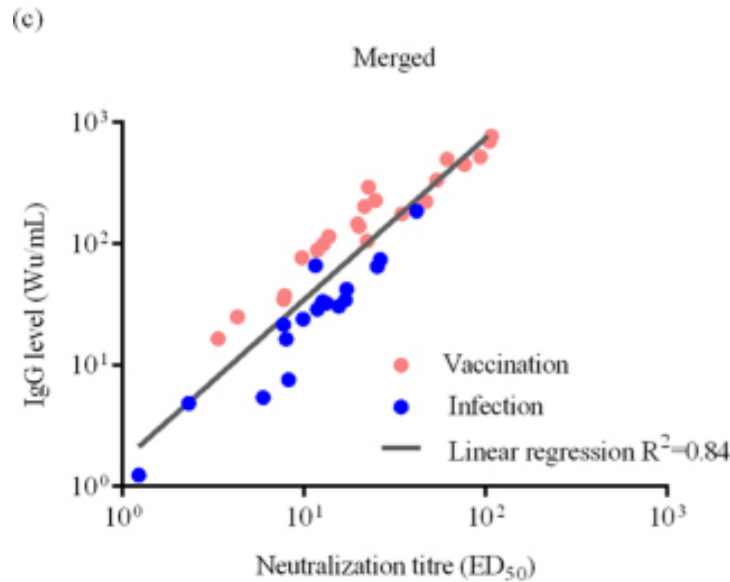


A high-throughput neutralizing assay for antibodies and sera against hepatitis E virus, Cai et al. 2016 [296]

D'après les résultats de cette étude (voir graphiques ci-dessus), les titres d'IgG (mesuré par la technique Wantai) et les titres d'IgG obtenus après séroneutralisation sont comparables. Ces résultats sont observés dans le cadre de la vaccination et de l'infection naturelle. A noter, dans le cadre de l'infection, la cinétique des titres de neutralisation et des taux d'IgG ont atteint un sommet 6 semaines après l'infection avant une diminution coïncidant avec la négativation de la virémie.

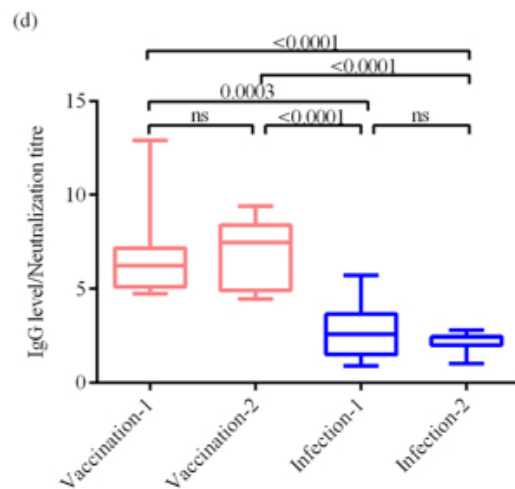
Dans cette étude, les titres de neutralisation ont également augmenté de façon importante en tout début de vaccination ou d'infection. Un niveau élevé d'IgM anti-VHE a été détecté à ce stade. Les IgM contribueraient également à la neutralisation du virus dans le cadre de l'infection et de la vaccination.

Les auteurs ont également exprimé les titres de neutralisation en fonction des taux des IgG (voir graphique ci-dessous).



A high-throughput neutralizing assay for antibodies and sera against hepatitis E virus, Cai et al. 2016 [296]

Il existe une forte corrélation entre le titre de neutralisation et le taux d'IgG anti VHE que ce soit lors d'une vaccination ou lors d'une infection. Le coefficient de corrélation proche de 1 (0,84), exprime que presque chaque unité d'IgG est neutralisante.



A high-throughput neutralizing assay for antibodies and sera against hepatitis E virus, Cai et al. 2016 [296]

Cependant, d'après le graphique ci-dessus, il est intéressant de noter que les rapports des taux IgG / titres neutralisation des macaques vaccinés étaient significativement plus élevés que ceux des macaques infectés.

La moyenne de ce rapport dans le groupe vacciné était approximativement trois fois supérieure à celle du rapport dans le groupe infecté. Alors qu'aucune différence significative du rapport n'est observée entre deux macaques traités de la même manière.

La conclusion est que la vaccination doit stimuler une augmentation de trois fois des taux d'IgG pour atteindre un titre de neutralisation similaire à celui de l'infection par le VHE. Les anticorps induits par la vaccination sont moins neutralisants que les anticorps acquis de manière naturelle. Les auteurs précisent que pour infecter les macaques, des souches de génotype 1 et 4 issues de selles de macaques sont utilisées. Néanmoins, les auteurs ne mentionnent ni la façon d'infecter les animaux ni les doses utilisées. Pour la vaccination, les auteurs précisent qu'ils utilisent le vaccin Hecolin mais ne mentionnent pas la dose injectée. Enfin, aucune information concernant les charges virales n'est présente dans l'étude.

Ces données préliminaires concernant le titrage des anticorps IgG anti-VHE neutralisant nécessitent des études complémentaires dans des populations humaines.

Partie 9 : Travail de recherche : cinétique des marqueurs de l'infection dans le suivi de donneurs de sang infectés par le VHE

Dans le cadre de notre thèse, nous avons été associés à la réalisation d'un travail de recherche conduit par l'EFS portant sur l'étude de la cinétique des anticorps anti-VHE chez les donneurs de sang infectés.

Il s'agit d'une étude rétrospective sur des échantillons séquentiels de dons de sang prélevés chez des donneurs de plasma testés positif en ARN VHE lors du dépistage de l'ARN VHE réalisé au laboratoire de Bordeaux.

Nous avons réalisé les tests ELISA, la mise au point de la technique de titrage des IgG anti-VHE, analysé et discuté les résultats obtenus.

La plupart des données disponibles dans la littérature ont été obtenues chez des patients hospitalisés qui ont été suivis au décours du diagnostic de l'infection. Il existe peu de données sur la cinétique des anticorps concernant les personnes asymptomatiques.

1. Objectifs

Objectifs principaux :

- Déterminer la cinétique des anticorps IgM et IgG chez des donneurs de sang asymptomatiques et à priori immunocompétents lors des dons. Ce travail s'inscrit dans une étude à long terme de suivi de donneurs de sang qui va se poursuivre avec la constitution d'une collection d'intérêt ;
- Estimer le délai d'apparition des anticorps et la durée de leur persistance ;
- Etudier la possibilité de cas de réinfection par le VHE ;
- Evaluer le niveau et la durée de la protection conférée par ces anticorps synthétisés au décours d'une infection naturelle. Et éventuellement comparer à la protection vaccinale.

Objectif secondaire

- Mettre en œuvre au laboratoire de l'EFS et valider une technique de quantification des IgG anti-VHE afin d'en estimer le titre lors d'infection par le VHE chez des donneurs asymptomatiques.

2. Matériel et méthodes

2.1. Population étudiée

Il s'agit de donneurs de sang réguliers acceptés au don de sang selon la réglementation en vigueur. Les donneurs de sang ont tous fait un don de plasma qui a occasionné un résultat ARN-VHE positif lors du dépistage réalisé par l'ETS de Bordeaux.

Le dépistage de l'ARN du VHE sur les dons de plasma peut être différé de plusieurs semaines en particulier pour les plasmas faisant l'objet d'une sécurisation par quarantaine.

Dès que le résultat du dépistage était disponible, les donneurs ont été informés qu'ils étaient infectés par le Virus de l'Hépatite E en vue d'une prise en charge médicale et écarté du don pendant 6 mois.

2.1.1. Critère d'inclusion dans l'étude

Dans cette étude, afin de se donner la possibilité d'étudier des cas de réinfection par le VHE chez des personnes non immunodéprimées, les donneurs sélectionnés sont ceux pour lesquels des échantillons de dons antérieurs au don « index » ARN-VHE positif étaient encore disponibles dans les bibliothèques transfusionnelles. Notre cohorte comporte 20 donneurs de sang originaires de France métropolitaine.

2.1.2. Période d'étude

Les échantillons testés ont été collectés entre le mois de février 2010 et le mois de juin 2016, soit une période d'étude de 76 mois (un peu plus de 6 ans).

La période d'étude d'un donneur a varié de 26 à 76 mois (moyenne : 53.2 mois, médiane : 54.5 mois).

Les délais entre 2 dons séquentiels ont varié de 14 à 644 jours (moyenne : 70 jours, médiane : 42 jours).

2.1.3. Caractéristiques de la population étudiée

Il s'agit de 20 hommes âgés de 27 à 61 ans ; moyenne = 46.4 ans et médiane = 43.5 ans.

Les caractéristiques de cette population sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : caractéristiques de la population étudiée

Donneur	Région	Age au moment du don positif	1 ^{er} don disponible	Don ARN VHE positif	Dernier don disponible	Période d'étude (En mois)
1	Bourgogne Franche Comté	58	05/05/2010	28/05/2014	18/03/2015	58
2		59	17/02/2010	18/03/2013	20/03/2015	61
3		31	11/06/2010	17/09/2012	24/10/2014	52
4	Nord de France	59	11/10/2010	05/10/2012	18/09/2015	59
5		27	08/02/2010	30/10/2012	23/06/2014	52
6		44	06/09/2010	03/11/2014	15/12/2014	51
7		61	21/02/2010	04/12/2014	27/01/2015	59
8		40	22/02/2010	12/11/2012	27/06/2016	76
9	Alsace Lorraine Champagne	36	07/06/2010	29/01/2013	19/05/2014	47
10	Centre Atlantique	37	17/07/2010	25/04/2014	07/11/2014	51
11	Alpes Méditerranée	43	15/03/2010	04/04/2013	04/07/2015	63
12	Rhône Alpes Auvergne	41	10/05/2010	15/10/2012	25/04/2014	47
13	Pays de la Loire	40	05/02/2010	30/08/2013	06/02/2015	60
14		50	30/12/2010	23/07/2014	16/02/2015	49
15	Pyrénées Méditerranée	57	22/03/2011	11/10/2012	04/06/2013	26
16		60	02/04/2010	29/10/2012	17/06/2013	38
17		60	25/02/2010	29/11/2012	05/07/2013	40
18	Bretagne	37	19/03/2010	25/01/2013	16/01/2015	57
19		34	26/02/2010	30/04/2013	27/03/2015	61
20		53	26/02/2010	07/10/2013	18/12/2014	57

2.1.4. Profil virologique du don « index » ARN VHE positif

- ARN VHE :

La charge virale a été quantifiée par le CNR VHE de Toulouse, elle varie de 1147 à 5 155 800 UI/mL, moyenne : 402 482 UI/mL, médiane : 7239 UI/mL.

- Génotype viral :

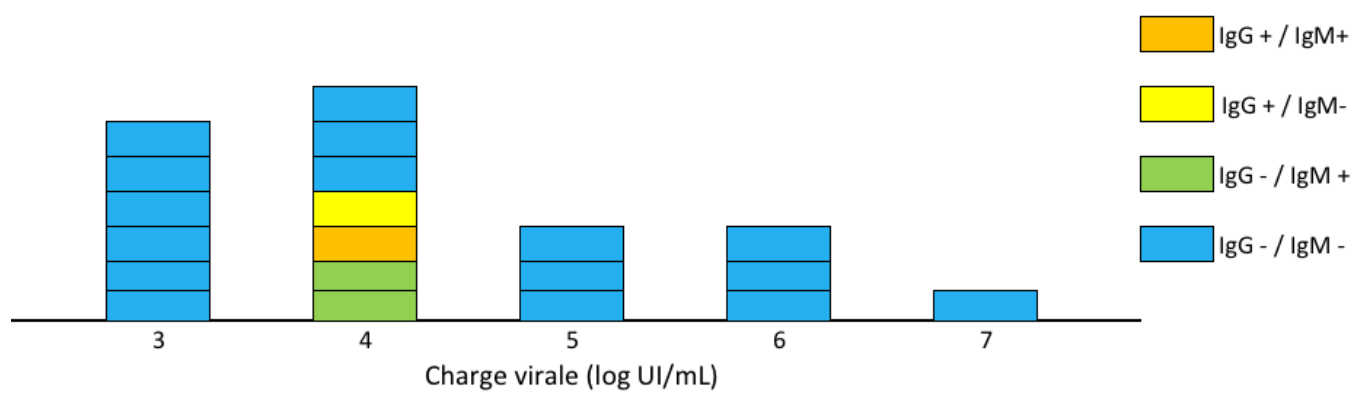
La réalisation de la caractérisation génomique des souches identifiées a été réalisée par le CNR VHE de Toulouse. On observe la distribution génotypique suivante :

- 17/20 souches sont de génotypes 3 incluant :
 - 11 souches 3f,
 - 5 souches 3c,
 - Et une souche 3 dont le sous-type n'a pas été déterminé.
- 3/20 souches sont de génotype indéterminé.

Tableau 2 : profils virologiques lors du don « index » ARN VHE positif

Donneur	IgM	IgG		Charge virale (UI/mL)	Génotypes
			UI/mL		
1	-	-		52728	3c
2	-	-		111696	3f
3	-	-		1903	3f
4	-	-		1404000	3f
5	-	-		2293	3
6	-	-		1147	Indéterminé
7	-	-		2340	Indéterminé
8	+	-		8502	Indéterminé
9	-	-		1981	3f
10	-	+	0,41	11154	3c
11	-	-		61932	3c
12	-	-		1333	3f
13	-	-		3994	3f
14	+	-		5975	3f
15	+	+	12,44	19344	3f
16	-	-		391560	3c
17	-	-		803400	3f
18	-	-		5155800	3c
19	-	-		4852	3f
20	-	-		3705	3f

Graphique 1 : illustration de la répartition de la charge virale des donneurs en fonction de la sérologie du « don index ».



On observe donc 4 profils sérologiques lors du don « index » ARN VHE positif détaillés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : résumé des 4 profils virologiques lors du don « index » ARN VHE positif

Nombre de donneurs	IgM	IgG	Taux IgG (UI/mL)	Charge virale moyenne (UI/mL)
16 (80%)	-	-		500 292
2 (10%)	+	-		7 238
1 (5%)	+	+	12,44	19 344
1 (5%)	-	+	0,41	11 154

80% des donneurs inclus dans notre étude ont été prélevés à une phase précoce de l'infection avant que les anticorps ne soient détectables.

2.2. Détection des anticorps IgM et IgG anti-VHE

Tous les échantillons issus des bibliothèques transfusionnelles ont été testés au laboratoire de Virologie Emergente de l'Etablissement Français du Sang Alpes Méditerranée (EFS AM) à Marseille.

Les plasmas ont été testés à l'aide du kit *Wantai HEV IgG ELISA* et *Wantai HEV IgM ELISA* (Wantai Biologic Pharmacy Enterprise, Beijing, RPC). Ces tests sérologiques utilisent un antigène recombinant correspondant au cadre de lecture ouvert 2 (ORF2) du génome VHE de génotype 4 [297]. Les tests ont été effectués selon les instructions du fabricant et les échantillons de plasma qui ont donné une valeur d'absorbance supérieure à la valeur de positivité ont été considérés comme positifs pour les anticorps anti-VHE.

2.2.1. Principe de la technique utilisée : ELISA Wantai®

Wantai ELISA utilise une plaque préfixée par des anti-IgM (ou anti-IgG) antihumaines d'origine animale (murin). C'est une technique en 2 étapes d'incubation :

- Pendant le premier temps d'incubation : capture des IgM (ou IgG) du patient sur le support suite à l'ajout de l'échantillon du patient. Le tout est suivi d'un lavage (élimination des autres substances et des autres classes d'immunoglobulines)
- Pendant le deuxième temps d'incubation : les IgM (ou IgG) spécifiques anti-VHE sont capturés grâce à l'ajout de l'antigène recombinant ORF-2 associé à l'enzyme HRP (horseradish peroxidase). L'ajout du substrat et du chromogène permet la détection des IgM (ou IgG) anti-VHE.

2.2.2. Performances analytiques

2.2.2.1. Les performances analytiques communiquées par le fabricant

a. Kit Wantai IgM

Sur la notice du fournisseur, on peut lire que la spécificité du kit IgM a été testé sur des groupes non VHE : cas d'hépatite A, cas d'hépatite B, cas d'hépatite C, cas vaccinés contre le VHB, cas testés pour des virus de routine, donneurs de sang, et personnes saines. La spécificité dans le groupe des personnes saines et des autres groupes est de 98,6% et 97,7% respectivement. La spécificité moyenne est de 98,4%.

Il n'y a pas d'interférences avec le facteur rhumatoïde même pour des valeurs élevées (>2000 U/mL), avec des concentrations élevées de bilirubine, d'hémoglobine et de triglycérides.

La sensibilité du kit IgM est trouvée à 97,1%.

b. Kit Wantai IgG

La notice du fournisseur indique que la sensibilité du kit IgG a été évaluée à 97,96%, 99,08% et à 100% selon les études.

2.2.2.2. Les performances analytiques communiquées par le CNR

Dans son rapport d'activité 2013, le CNR a étudié les différentes performances analytiques des kits Wantai sur des populations de patients immunocompétents et immunodéprimés. Les résultats sont les suivants :

Performances analytiques		HEV IgM ELISA Wantai®	HEV IgG ELISA Wantai®
Spécificité (%)		99,6	97,8
Sensibilité (%)	Immunodéprimés	85	45
	Immunocompétents	97,7	93,5
Valeur prédictive positive	Immunodéprimés	97,1	81,8
	Immunocompétents	97,7	91,1
Valeur prédictive négative	Immunodéprimés	97,5	88,9
	Immunocompétents	99,6	98,3
Limite de détection			0,25 UI/mL

Données publiées dans le *rapport d'activité du CNR VHE 2013*

La population des donneurs de sang étant à priori constituée d'individus immunocompétents, les performances des tests sérologiques étudiés sont donc satisfaisantes en termes de performance analytiques.

2.3. Titration des IgG anti-VHE

La mise en œuvre de la technique de titration des IgG anti-VHE utilisée par le laboratoire du CNR de Toulouse a constitué un objectif secondaire des travaux réalisés au laboratoire de Virologie Emergente de l'EFS.

La technique de titration publiée par Abravanel et al. [157], a été appliquée ; elle a recours à l'étalon international IgG anti-VHE de l'OMS.

2.3.1. Etalon OMS 95/584

L'étalon utilisé est le « WHO REFERENCE REAGENT FOR HEPATITIS E VIRUS ANTIBODY, human serum, NIBSC code: 95/584 »

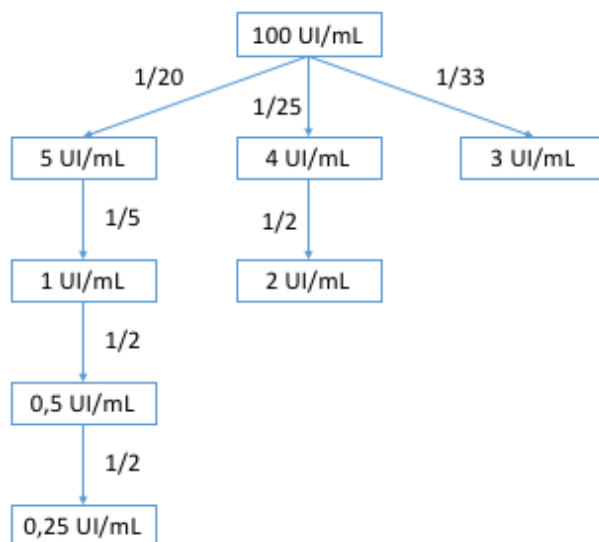
Ce réactif de référence a été créé en 1997 par le comité d'experts pour la normalisation biologique et sert d'étalon de référence pour la quantification des anticorps IgG anti-VHE.

Chaque ampoule de 0,5 mL contient 50 unités (soit 100 UI/mL). Il doit être reconstitué dans 0,5 ml d'eau distillée.

2.3.2. Etablissement de la gamme étalon

L'étalon international est dilué pour réaliser une gamme étalon comprenant 7 points. Les dilutions sont réalisées, selon les recommandations du CNR, dans du PBS (Phosphate Buffered Saline).

Les dilutions sont calculées afin d'obtenir des concentrations d'IgG anti VHE de 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 et 0,25 UI/mL (voir schéma ci-dessous).



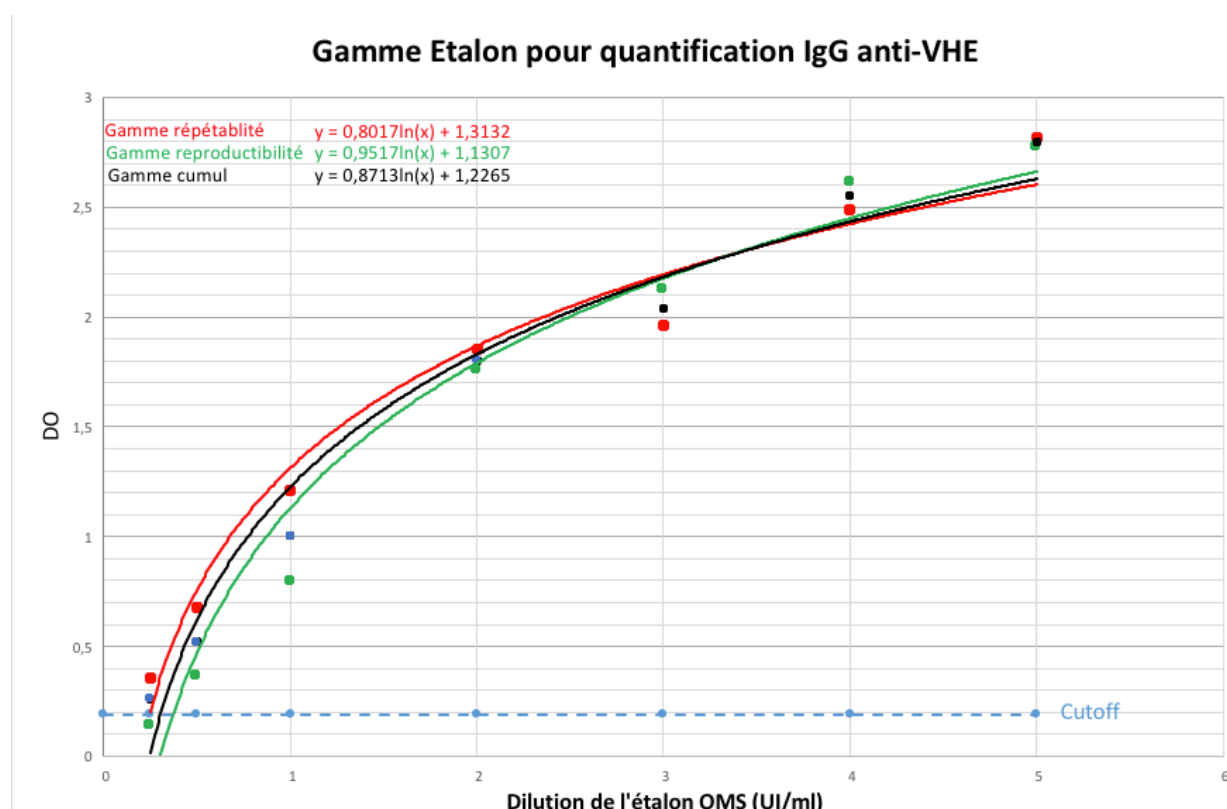
Les gammes d'étalonnage doivent être refaites lors de chaque changement de lot de réactif.

Afin de vérifier les performances en termes de robustesse de cette technique de titration, nous avons réalisé des études de :

- Répétabilité (chaque point de gamme est testé 10 fois dans la même série de test) tels que le recommande le CNR.
- Reproductibilité en testant des points de gamme lors de chaque série de tests.

Les graphes ci-dessous donnent les représentations obtenues en calculant la moyenne de chaque point de gamme déterminée lors des tests de répétabilité (en rouge), lors des tests de reproductibilité (en vert) et les valeurs moyennes de chaque point de gamme lors du cumul de toutes les valeurs obtenues (en noir).

Graphique 2 : gamme étalon pour quantification IgG anti-VHE (semi-logarithmique)

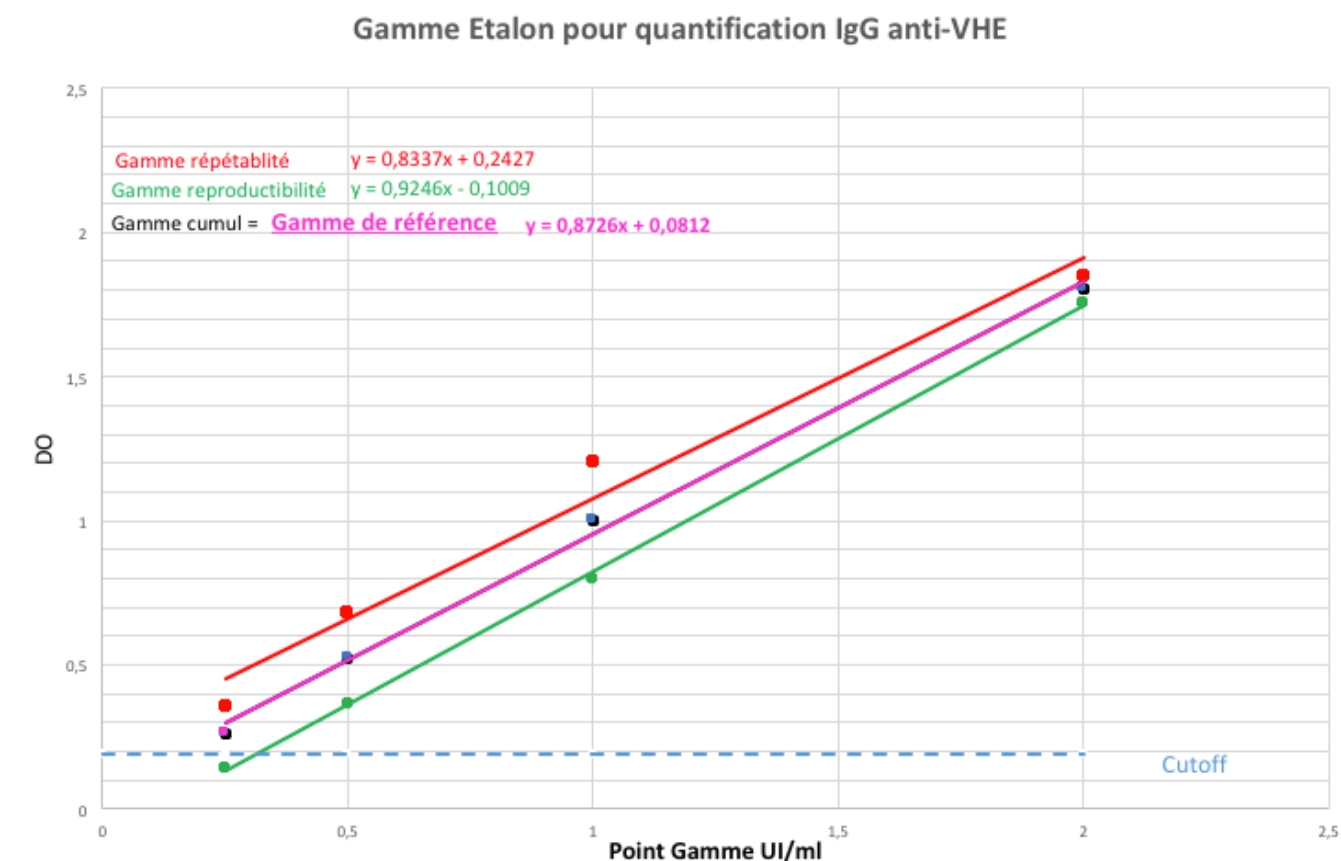


Les gammes issues des tests de répétabilité, de reproductibilité sont similaires à celle issus du cumul de toutes les données. En conséquence, pour un même lot d'IgG anti-VHE, la réalisation d'une gamme en réalisation 10 déterminations de chaque point est suffisante car peu de variations sont susceptibles d'être observés lors des séries de tests ultérieures.

Dans notre étude, nous avons choisi d'utiliser la gamme de cumul obtenus avec le maximum de tests réalisés pour chaque point.

Le modèle semi-logarithmique permet de modéliser au mieux les gammes obtenues. Il met en évidence une saturation du signal mesuré (Densité optique) avec des titres en anticorps au-delà de 2 à 3 UI/mL. Outre l'utilisation de l'équation obtenue pour des titres > 2 UI/mL, on peut toutefois définir une plage de linéarité entre la DO et le titre permettant une quantification pour les valeurs < 2 UI/mL.

Graphique 3 : gamme étalon pour quantification IgG anti-VHE (linéaire)



Nous avons pu définir une zone de linéarité : de 0 à 2 unités de Densité Optique (DO). Nous diluons tous les sérums affichant une densité optique supérieure à 2 unités et nous calculons le titre d'IgG avec l'équation de la gamme de référence : $y = 0,8726x + 0,0812$. Donc le

$$\text{titre IgG} = \frac{DO - 0,0812}{0,8726}$$

2.4. RT-PCR

L'extraction des acides nucléiques a été effectuée avec le kit NucleoSpin® 96 Virus Core (Macherey-Nagel, Düren, Germany) en utilisant l'automate ID STARlet® (Hamilton Company, Reno Nevada).

Le kit de RT-PCR utilisé est le kit VHE RealStar® 2.0 (Altona Diagnostics GmbH, Germany). C'est un test de diagnostic in vitro marqué CE, basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection et la quantification de l'ARN spécifique du VHE.

La technologie de RT-PCR en temps réel utilise la réaction de transcriptase inverse (RT) pour convertir l'ARN en ADN complémentaire (ADNc) qui sera amplifié. Il y a utilisation de deux sondes, une pour l'ARN du virus et marquée par le fluorophore FAM™, une pour le contrôle interne (IC) et marquée par le fluorophore HEX™.

La réaction d'amplification a été effectuée avec un thermocycleur BioRad CFX96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Le programme de la PCR est le suivant (données fournisseur) :

	Stage	Cycle Repeats	Acquisition	Temperature [°C]	Time [min:sec]
Reverse Transcription	Hold	1	-	55	20:00
Denaturation	Hold	1	-	95	02:00
Amplification	Cycling	45	-	95	00:15
			yes	55	00:45
			-	72	00:15

L'évaluation des performances analytiques du kit HEV RT-PCR 2.0 de RealStar® a été réalisée en utilisant la « Norme internationale de l'Organisation mondiale de la santé pour les techniques d'amplification des acides nucléiques du virus de l'hépatite E (NAT), code PEI: 6329/10».

Les performances analytiques annoncées par le fabricant sont les suivantes :

- Sensibilité de la technique RT-PCR = 0,20 UI/μl d'éluat.
- Zone de linéarité : de 1 UI/μl à 108UI/ μl soit de 1000 UI/mL à 1011 UI/mL.

3. Résultats

Les résultats bruts sont disponibles en annexe.

3.1. Cinétique des anticorps IgM anti-VHE

Nous allons étudier le délai d'apparition des IgM et la durée de portage des IgM. Cette durée est dite minimale (si l'on prend en compte la durée entre le premier don IgM+ et le dernier don IgM+) ou maximale (si l'on prend en compte la durée entre le premier don IgM+ et le premier don IgM-).

Nous classons les cinétiques IgM observées en différents groupes :

- Cinétique nulle : aucun IgM n'a été objectivé pendant le suivi
- Cinétique « complète » : le « don index » est IgM -, puis on observe des dons IgM+, suivis par au moins un don IgM-
- Cinétique « incomplète » : le « don index » est IgM -, puis tous les dons suivants sont IgM+
- Cinétique « quasi complète » : le « don index » est IgM+ mais la cinétique se termine par un don IgM-

Le tableau 4 présente les donneurs pour chaque cinétique.

Tableau 4 : répartition des donneurs en fonction de la cinétique IgM

Cinétique	Patients
Nulle	1, 3, 4, 10, 11, 12, 13, 16, 20
Complète	2, 9, 17, 18, 19 + 2 ^e pic du donneur 8
Incomplète	5, 6, 7
Quasi-complète	14 + 1 ^e pic du donneur 8

Le donneur 15 est classé à part car son « don index » est IgM + et son dernier don est aussi IgM+.

3.1.1. Sérologies nulles : absence d'IgM

Comme présenté dans le tableau ci-dessus, dans 9 cas, la présence d'IgM n'a pas pu être objectivée au décours du suivi des donneurs à cause des délais entre le don « index » ARN-VHE positif et le premier don disponible : entre 32 jours et 644 jours (voir le tableau 5).

Tableau 5 : cinétiques IgM négatives et délai entre le don index et le premier don disponible

Donneurs	Date du don index	Date du 1 ^{er} don dispo	Délai entre le don index et le premier don disponible (en jours)
1	28/05/2014	29/06/2014	32
3	17/09/2012	02/08/2013	319
4	05/10/2012	11/07/2014	644
10	25/04/2014	03/09/2014	131
11	04/04/2013	26/07/2013	113
12	15/10/2012	19/01/2013	96
13	30/08/2013	12/09/2014	378
16	29/10/2012	03/04/2013	156
20	07/10/2013	23/06/2014	259

3.1.2. Délais d'apparition et durées de portage des IgM

Au total, la présence d'IgM positifs a pu être observées chez 11 donneurs avec des cinétiques différentes (voir plus haut).

Le tableau 6 présente les possibilités de calcul en fonction de cette classification :

Tableau 6 : possibilité de calcul du délai d'apparition des IgM et/ou durée de portage des IgM

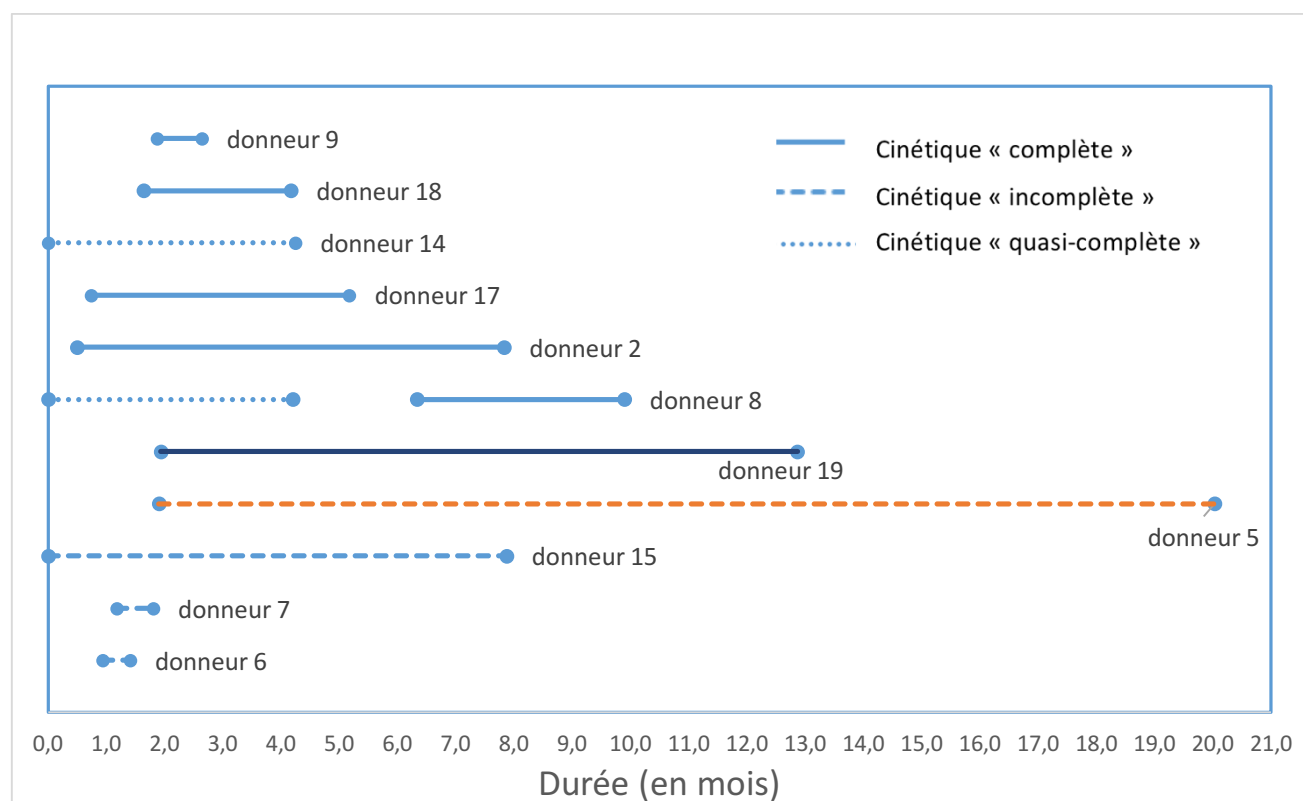
Cinétique IgM	Délai d'apparition par rapport au don index	Durée de portage	
		Minimale	Maximale
Complète	Oui	Oui	Oui
Incomplète	Oui	Oui	Non
Quasi-complète	Non	Oui	Oui

Le détail pour chaque donneur est présenté dans le tableau 7 et le graphique 4 ci-dessous.

Tableau 7 : récapitulatif des délais d'apparition et des durées de portages des IgM

Cinétique IgM	Donneurs	Délai d'apparition (En jours)	Durée de portage (En jours)	
			Minimale	Maximale
Complète	2	15	220	234
	9	56	23	86
	17	22	133	168
	18	49	76	90
	19	58	328	428
	2 ^e pic du donneur 8		107	160
	Moyenne	40	148	194
	Médiane	49	120	164
Incomplète	5	57	> 544	
	6	28	> 14	
	7	35	> 19	
	Moyenne	40		
	Médiane	35		
Quasi-complète	14		0-127	< 127
	1 ^e pic du donneur 8		126	148
Moyenne		40,3		
Médiane		40		

Graphique 4 : durée minimale de portage des IgM



3.1.2.1. Délai d'apparition des IgM

Le délai d'apparition des IgM a pu être étudié pour certains donneurs. Comme énoncé plus haut, ce sont les donneurs ayant une cinétique IgM « complète » ou « incomplète » puisque ces donneurs sont IgM – au moment du don et vont devenir IgM + au cours du suivi.

Le délai d'apparition des IgM varie de 15 à 58 jours, avec une moyenne de 40,3 jours et une médiane de 40 jours (voir tableau 7).

3.1.2.2. Durée de portage des IgM

La durée de portage des IgM est étudiée uniquement pour les donneurs dont la cinétique IgM est « complète ». La durée de portage minimale varie de 23 à 328 jours, avec une moyenne de 148 jours et une médiane de 120 jours. La durée de portage maximale varie de 86 à 428 jours, avec une moyenne de 194 jours et une médiane de 164 jours (voir tableau 7 et graphique 4).

A noter que le premier pic du donneur 8 nous permet d'évaluer une durée de portage minimale et maximale de 126 jours et 148 jours respectivement. Ces chiffres n'ont pas été utilisés pour le calcul de la moyenne car ils peuvent par définition être légèrement sous-estimé. En effet, le don index est positif en IgM.

Enfin, dans 4 cas, la période d'étude prospective trop courte n'a pas permis d'observer la disparition des IgM (« cinétique incomplète » : donneur 5, 6, 7 et 15). Mais nous obtenons une idée sur la durée minimale de portage. Par exemple, le donneur 5 possède encore des IgM + plus de 544 jours après le premier prélèvement IgM +.

Ces données seront complétées lors d'un suivi à plus long terme dès que les échantillons conservés en Biothèque transfusionnelle pourront être utilisées à des fins de recherche.

En conclusion :

- Le délai d'apparition des IgM après le don ARN VHE + varie de 15 à 58 jours (moyenne : 40 jours ; médiane : 40 jours).**
- La durée minimale de portage des IgM varie de 23 à 328 jours (moyenne : 148 jours ; médiane : 120 jours).**
- La durée de portage maximale varie de 86 à 428 jours (moyenne : 194 jours ; médiane : 164 jours).**

3.2. Cinétique des anticorps IgG anti-VHE

3.2.1. Délai d'apparition et durée de persistance des anticorps IgG anti-VHE :

3.2.1.1. *Délai d'apparition*

Le délai entre le don « index » ARN VHE positif et le premier don IgG positifs a pu être estimé dans 17 cas. Au total, ce délai varie de 15 à 378 jours (moyenne : 108 jours ; médiane : 57 jours). Cependant, en analysant l'intervalle inter-don entre le don index et le don suivant nous nous apercevons que le délai d'apparition des IgG est très souvent égal à cet intervalle. Le délai d'apparition des IgG n'est donc pas un vrai délai mais est plutôt conditionné par le suivi du donneur.

Nous proposons donc de calculer une moyenne du délai d'apparition en ne prenant pas en compte les donneurs qui ne sont pas revenus dans les 60 jours après le don index, car l'apparition des IgG ne peut pas être précisément observée (voir tableau 8, couleurs bleu et grise).

Le délai d'apparition varie alors de 15 à 68 jours (moyenne : 38,7 jours, médiane : 35 jours).

Tableau 8 : délai d'apparition et durée de persistance des anticorps IgG anti-VHE :

Donneurs	Intervalle inter-don (don index - don suivant) (En jours)	Date du « don index » ARN VHE +	Délai d'apparition des IgG anti-VHE (En jours)	Durée minimale de persistance des IgG anti-VHE (en mois)
7	14	04/12/2014	35	0,6
2	15	18/03/2013	15	23,9
17	22	29/11/2012	22	6,5
6	28	03/11/2014	28	0,5
1	32	28/05/2014	32	8,7
8	35	12/11/2012	35	42,9
18	49	25/01/2013	49	22,4
9	56	29/01/2013	56	14
5	57	30/10/2012	57	18,1
19	58	30/04/2013	58	21,3
12	96	15/10/2012	96	15,4
11	113	04/04/2013	113	23,6
14	127	23/07/2014	127	2,7
16	156	29/10/2012	156	2,5
20	259	07/10/2013	259	5,9
3	319	17/09/2012	319	14,9
13	378	30/08/2013	378	4,9

3.2.1.2. Durée de persistance

Nous n'avons observé aucune séroreversion, ainsi la durée de persistance des IgG anti-VHE sera exprimée en durée minimale (supérieure à) en fonction de la date du dernier don disponible. Au total, la persistance d'IgG positifs a pu être observées pendant une période moyenne de 13,5 mois (médiane : 14 mois) en considérant uniquement les échantillons testés IgG positifs. Le détail pour chaque donneur est présenté dans le tableau 8 ci-dessus. Cependant, cette durée de persistance moyenne est sous-estimée par des durées de persistance très courtes (donneurs 6 et 7 : 15 jours) liées à l'arrêt du suivi de donneurs.

En conclusion, la durée moyenne de persistance des IgG est supérieure à 13,5 mois. Aucune réversion n'a été observé. Par conséquent, cette durée de persistance est conditionnée par la période de suivi des donneurs.

3.2.2. Cinétique des anticorps IgG anti-VHE

La représentation graphique des données brutes des titrages des IgG anti-VHE nous a permis de définir schématiquement 4 profils distincts de cinétique des IgG anti-VHE :

- Pic : augmentation du titre des IgG jusqu'à un maximum puis chute du titre.
- Plateau : augmentation du titre des IgG jusqu'à un maximum puis stabilité du titre.
- Absence de séroconversion : IgG négatif avant et après le don ARN positif.
- Indéterminé, cinétique à finaliser. Par absence d'échantillons prospectifs impossibilité de conclure si le profil va correspondre à un pic ou un plateau.

La répartition des profils au sein de la cohorte des 20 donneurs de plasma est résumée dans le tableau 9.

Tableau 9 : répartition des profils de cinétique IgG :

Profils	Pourcentage de profils caractérisés	Donneurs
Pic (n = 8 soit 40%)	57 % (8/14)	2, 5, 8, 11, 15, 18, 19, 20
Plateau (n = 5 soit 25%)	36% (5/14)	1, 3, 9, 12, 13
A finaliser (n = 6 soit 30%)	/	6, 7, 10, 14, 16, 17
Absence de séroconversion (n = 1 soit 5%)	7% (1/14)	4

Pour les 3 profils biologiques identifiés (pic, plateau, absence de séroconversion), l'association de ce profil a été étudiée vis-à-vis des paramètres suivant : âge lors du don « index », durée de présence des IgM, délai d'apparition des IgG, charge virale évaluée lors du don virémie et génotype VHE. Les données sont présentées dans le tableau 10.

Tableau 10 : association des profils de cinétique avec des paramètres épidémiologiques, sérologiques et virologiques.

		Pic	Plateau	Absence séroconversion
Age (en année) : Moyenne [min-max] Médiane		43,75 [28-59] 41,5	41,2 [31-58] 40	59
IgM	Délai moyen d'apparition [min-max] (en jours)	44,75 [15-58]	<i>1 seul donneur</i> 56	/
	Durées de portage : - Moyenne minimale [min-max] (en jours)	208 [76-328]	23	
	- Moyenne maximale [min-max] (en jours)	251 [90-428]	86	
IgG	Délai moyen d'apparition [min-max] (en jours)	42,8 [15-58]	44 [32-56]	/
	Durée moyenne minimale de persistance [min-max] (en mois)	25 [18-43]	11,35 [8,7-14]	
	Charge virale (UI/mL) : moyenne [min-max] Médiane	671 016 [2293-5 155 800] 13 923	2 303 [1333-3 994] 1 942	1 404 000
	Génotype :			
	3c	2	1	0
	3f	4	4	1
	3	1	0	0
	Indéterminé	1	0	0

La moyenne d'âge des donneurs ayant un profil « pic » est d'environ 44 ans, médiane : 41,5 ans.

La moyenne d'âge des donneurs ayant un profil « plateau » est d'environ 41 ans, médiane : 40 ans.

Dans le groupe « pic », la moyenne et la médiane de la charge virale sont respectivement 671 016 UI/mL et 13 923 UI/mL.

Dans le groupe « plateau », la moyenne et la médiane de la charge virale sont respectivement 2 303 UI/mL et 1 942 UI/mL.

Dans le groupe « pic », le délai moyen d'apparition des IgM est de 45 jours et les moyennes de la durée minimale et maximale de positivité des IgM sont respectivement 208 jours et 251 jours. Dans le groupe « plateau », la cinétique des IgM n'a pu être déterminée que chez un seul donneur. Le délai d'apparition des IgM est de 56 jours et la durée minimale et la durée maximale de positivité des IgM sont respectivement de 23 jours et 86 jours.

Dans le groupe « pic », la moyenne du délai d'apparition des IgG et la durée moyenne minimale de persistance des IgG sont respectivement de 42,8 jours et 25 mois.

Dans le groupe « plateau », la moyenne du délai d'apparition des IgG et la durée moyenne minimale de persistance des IgG sont respectivement de 44 jours et 11 mois.

Tous les donneurs avec un profil « plateau » avaient une sérologie négative lors du don positif. Deux donneurs ayant un profil « pic » avaient une sérologie non négative lors du « don index » : un donneur était IgM+/IgG- et un autre IgM+/IgG+. Le détail pour chaque donneur est illustré ci-dessous dans le tableau 11.

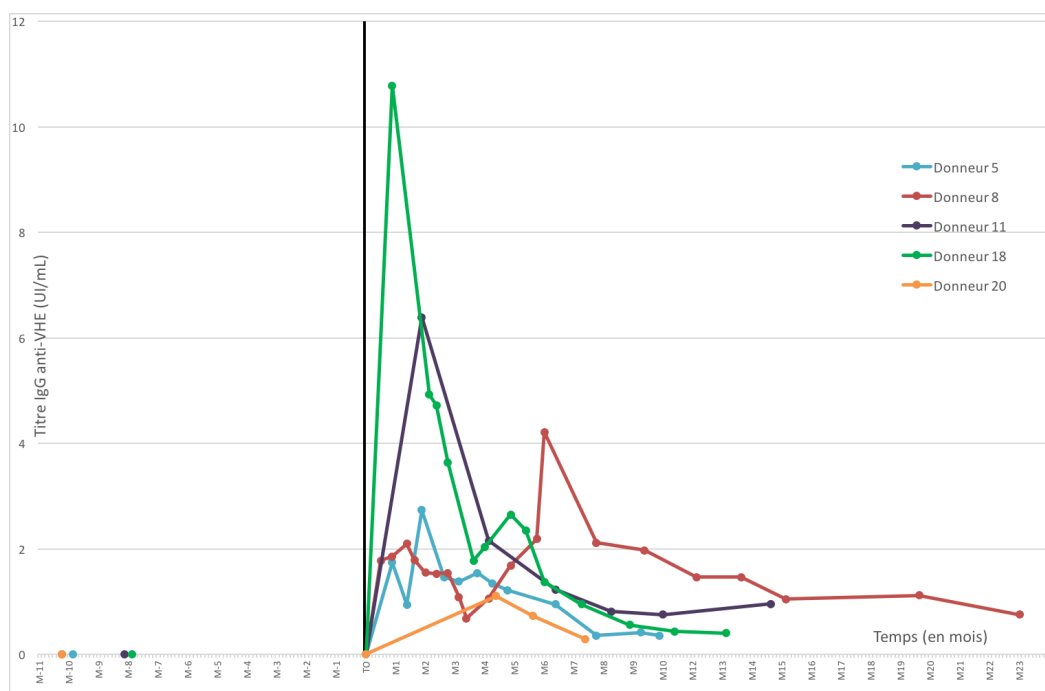
Tableau 11 : sérologie anti-VHE au moment du don « index »

Profil	Donneurs	Age (années)	Charge virale lors du don positif (UI/mL)	Profil sérologique lors du don positif		Génotype
				IgM	IgG	
Pic	2	63	111696	-	-	3f
	5	32	2293	-	-	3
	8	44	8502	+	-	Indéterminé
	11	47	61932	-	-	3c
	15	62	19344	+	+	3f
	18	41	5155800	-	-	3c
	19	38	4852	-	-	3f
	20	57	3705	-	-	3f
Plateau	1	61	52728	-	-	3c
	3	36	1903	-	-	3f
	9	41	1981	-	-	3f
	12	46	1333	-	-	3f
	13	44	3994	-	-	3f
Absence de séroconversion	4	59	1404000	-	-	3f

3.2.2.1. Etude des donneurs de sang avec une cinétique de type « pic »

Le suivi des titrages des IgG anti-VHE des 8 donneurs présentant un profil de cinétique en pic est schématisé dans le graphique 5 (en enlevant les donneurs n°2 et 19 avec des titres trop forts pour être représentés sur ce graphique). Les cinétiques ont été superposées en mettant à la même date (To) tous les dons « index » positifs en ARN-VHE.

Graphique 5 : Cinétique IgG anti-VHE de type « pic »



Les donneurs 2, 15 et 19 ne sont pas représentés dans un souci d'échelle (voir annexe 2).

Dans le sous-groupe constitué des donneurs ayant une cinétique de type « pic », nous étudierons l'intensité du pic (titre maximal), sa durée et le taux d'IgG résiduel mesuré à la fin de la période d'étude (voir tableau 12).

Tableau 12 : intensité et durée du pic IgG et taux résiduel après le pic

Profil	Donneurs	Intensité du pic (UI/mL)	Durée du pic		Taux résiduel (UI/mL)
			Jours	Mois	
Pic	2	828,44	234	7	13,17
	5	2,73	418	13	0,36
	8	2,1	175	5	0,68
		4,21	644	21	0,75
	11	6,39	381	12	0,96
	15	64,38	126	4	9,59
	18	10,78	308	10	0,40
	19	57,74	638	21	31,38
	20	1,11	178	5	0,29
Moyennes		108,65	345	11	6,40
Médianes		6,39	308	10	0,75
<i>Moyennes</i>		<i>18,68</i>			<i>5,55</i>
<i>Médianes</i>		<i>5,3</i>			<i>0,72</i>
<i>(sans le donneur n°2)</i>					

Concernant l'intensité du titre des IgG anti-VHE mesuré, nous observons des titres variants de 1.11 UI/mL à 828.4 UI/mL (moyenne : 108,7 UI/mL et médiane : 6,39 UI/mL). Le donneur n°2 a un très fort titre en IgG qui constitue une singularité dans l'étude. Le calcul de la moyenne et de la médiane des titres (maximum et résiduel) a aussi été réalisé en excluant les valeurs IgG du donneur n°2.

Dans ces conditions, les titres maximums observés pour les 7 donneurs restant varient entre 1.11 et 64.4 UI/mL (moyenne : 18,7UI/mL, médiane : 5,3 UI/mL).

La durée du pic varie de 4 à 21 mois (moyenne : 11 mois, médiane : 10 mois).

Les taux d'IgG observés en fin d'étude varient de 0,29 à 31,38 UI/mL (moyenne : 6,40 UI/mL, médiane : 0,75 UI/mL).

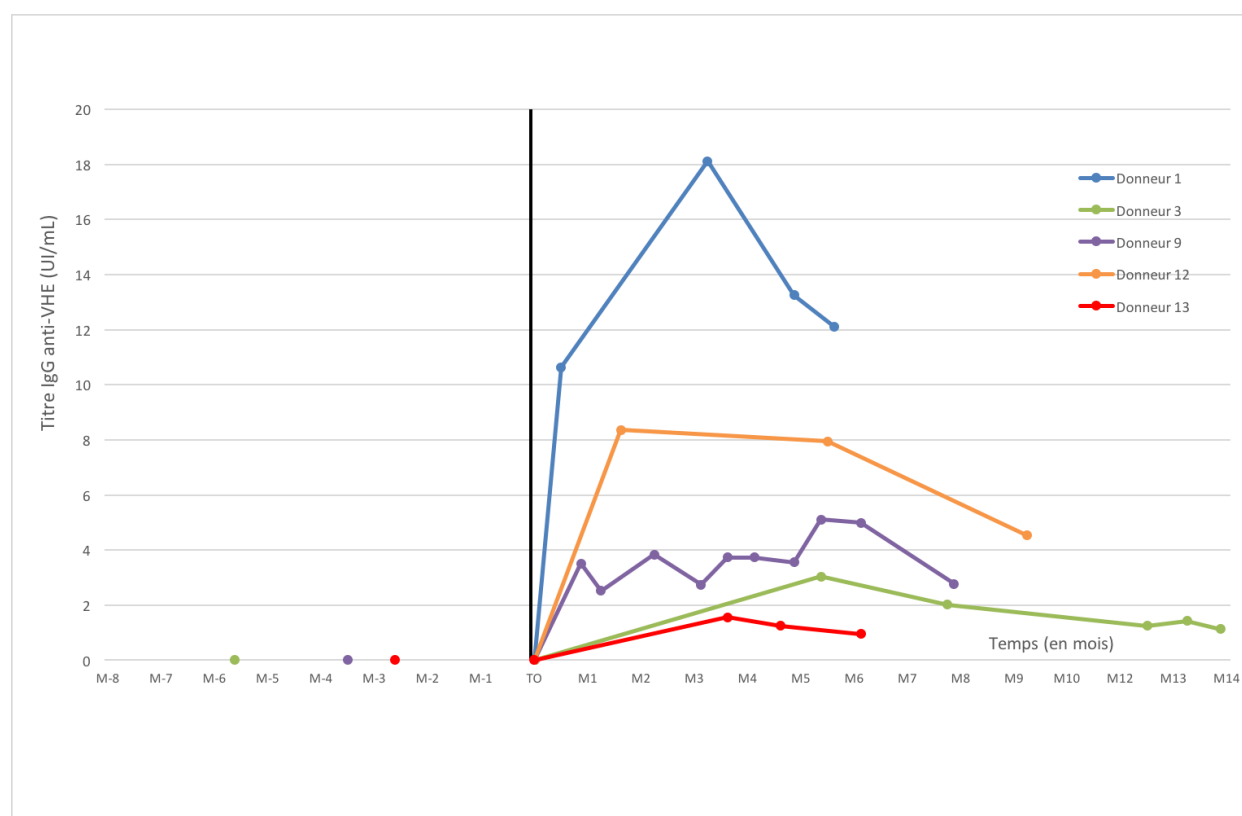
Sur cette série limitée, il n'est pas possible de mettre en évidence l'existence d'une corrélation entre l'intensité du titre des IgG et la durée du pic de ces anticorps.

Par contre, il semble qu'il y ait un lien entre l'intensité du pic et les taux résiduels observés en fin d'étude. Plus le pic d'anticorps est intense, plus le taux résiduel semble important.

3.2.2.2. Etude des donneurs de sang avec une cinétique de type « plateau »

Cinq donneurs ont présenté un profil sérologique en « plateau » dont voici la représentation graphique.

Graphique 6 : Cinétique IgG anti-VHE de type « plateau »



Dans le sous-groupe constitué des donneurs ayant une cinétique de type « plateau » nous étudions l'intensité des titres IgG lors du plateau et le taux résiduel observés en fin d'étude (voir tableau 13).

Tableau 13 : intensité du plateau et taux résiduel au le plateau

Profil	Donneurs	Intensité du plateau (UI/mL)	Taux résiduel final (UI/mL)
Plateau	1	18,12	12,12
	3	3,04	1,13
	9	5,11	2,77
	12	8,36	4,54
	13	1,56	0,96
Moyenne		7,24	4,30
Médiane		5,11	2,77

3.2.2.3. Etude des donneurs de sang avec une cinétique « A finaliser »

Nous avons également 6 profils pour lesquels on ne peut pas conclure quant à leur cinétique sérologique. En effet, nous ne disposons pas suffisamment d'échantillons informatifs.

Concernant ces 6 donneurs, nous pouvons définir des titres maximaux pour 3 d'entre eux. Nous observons alors des titres IgG anti-VHE maximum variant de 13,84 UI/mL à 18,29 UI/mL (moyenne : 15,78 UI/mL et médiane : 15,21 UI/mL).

Parmi ces 6 donneurs :

- 4 ont continué à donner leur sang, nous avons demandé accès à ces prélèvements afin de finaliser leur cinétique.
- 2 sont perdus de vue et ne donnent plus leur sang (donneur n°16 et donneur n°17)

3.2.3. Etude d'un lien entre taux maximum observé et taux résiduel en fin d'étude

Nous avons calculé le ratio : taux résiduel mesuré en fin d'étude/taux maximum observé pour les 13 donneurs dont la cinétique des titres d'IgG anti-VHE présentait un pic ou un plateau (voir tableau 14).

Tableau 14 : ratio entre le titre résiduel et le titre maximal

Profil	Donneurs	Titre maximal	Taux résiduel	Ratio Résiduel/Max	Délais entre titre maxi et taux résiduel (en mois)
		(UI/mL)	(UI/mL)		
Plateau	1	18,12	12,12	67%	6,0
	3	3,04	1,13	37%	14,0
	9	5,11	2,77	54%	5,0
	12	8,36	4,54	54%	15,0
	13	1,56	0,96	62%	4,0
	Moyenne	7,24	4,3		8,8
Pic	2	828,44	13,17	2%	23,0
	5	2,73	0,36	13%	15,0
	8	2,1	0,68	32%	4,0
		4,21	0,75	18%	31,0
	11	6,39	0,96	15%	23,0
	15	64,38	9,59	15%	7,0
	18	10,78	0,4	4%	22,0
	19	57,74	31,38	54%	10,0
	20	1,11	0,29	26%	5,0
	Moyenne	108,65	6,4		15,6

On observe que le ratio moyen pour les cinétiques « plateaux » est de $4.3/7.24 = 59\%$ alors que pour les cinétiques « pics » le ratio moyen est égal à $6.4/108.65 = 6\%$.

Il serait intéressant de calculer ces ratios sur une cohorte plus importante en les pondérant avec la durée de suivi.

En conclusion :

- Le délai d'apparition des IgG après le don ARN VHE + est en moyenne de 39 jours (médiane : 35 jours).
- La durée de présence des IgG est supérieure à 13,5 mois (conditionné par le suivi des donneurs)

3.3. Evaluation du pouvoir protecteur des IgG anti-VHE

Les titres IgG anti-VHE observés en fin de suivi ont été étudiés et comparés aux différents seuils de protection décrits dans la littérature. (Voir partie 6).

Ce travail porte sur 13 donneurs et étudie la possibilité de différence en fonction de la cinétique des IgG observée : pic ou plateau. La durée de la période où les titres d'IgG sont supérieurs aux différents seuils de protection sont consignés dans le tableau ci-dessous (tableau 15). Dans les cas où des taux supérieurs aux différents seuils proposés sont observés lors du dernier don testé

dans l'étude, la durée devra être considérée comme minimale et sera précédée du symbole « ≥ ».

Tableau 15 : Durée de persistance des IgG anti-VHE en fonction de différents seuils de protection :

Profil	Donneurs	Durée minimale (en mois) de persistance des IgG anti-VHE en fonction du seuil de protection			
		1 UI/mL	2,5 UI/mL	7 UI/mL	10 UI/mL
Pic	2	≥ 717 jours soit ≥ 23 mois			
	5	230 jours 7 mois	< 71 jours < 2 mois	0	0
	8	155 jours 5 mois	0	0	0
		868 jours 28 mois	< 119 jours < 3 mois	0	0
	11	273 jours 8 mois	< 245 jours < 8 mois	0	0
	15	≥ 236 jours ≥ 7 mois			217 jours 7 mois
	18	385 jours 12 mois	238 jours 7 mois	< 125 jours < 4 mois	
	19	≥ 638 jours ≥ 21 mois			
	20	< 333 jours < 10 mois	0	0	0
Plateau	1	≥ 353 jours soit ≥ 11 mois			
	3	≥ 448 jours ≥ 14 mois	< 459 jours < 15 mois	0	0
	9	≥ 419 jours soit ≥ 13 mois		0	0
	12	≥ 461 jours soit ≥ 15 mois		229 jours 7 mois	0
	13	62 jours 2 mois	0	0	0

Si l'on considère un seuil de protection à 1 UI/mL tous les donneurs ayant un profil sérologique en « plateau » seraient potentiellement protégés vis-à-vis d'une réinfection virale. Cependant, si le seuil est de 2,5 UI/mL le taux de protection chute à 33% puis à 17% si l'on considère un seuil au-delà de 7 UI/mL.

4/8 des donneurs ayant une cinétique IgG pic » et 1/5 des donneurs ayant une cinétique « plateau » ont un taux résiduel > 10 UI/mL en fin de suivi.

3.4. Infection VHE, profils biologiques particuliers

Parmi les 20 donneurs de plasma infectés par le VHE et ayant fait l'objet d'une étude prospective et rétrospective des échantillons collectés lors de dons de sang, nous avons observés 3 profils particuliers incluant un cas d'absence de séroconversion IgG et IgM anti-VHE et 2 cas de possible réinfection par le VHE. Ces cas sont présentés ci-après.

3.4.1. Absence de séroconversion

Le donneur n°4 présente un profil particulier. Il est séronégatif sur tous les prélèvements post don « index » ARN VHE positif, même 35 mois après.

Le délai entre 2 échantillons testés varie entre 2 mois et 21 mois. Lors des 21 premiers mois de l'infection, un seul échantillon a été testé du fait d'un ajournement au don suite à la mise en évidence du don ARN VHE +. Lors des interrogatoires médicaux, ce donneur n'a rapporté aucune circonstance en lien avec un facteur d'immunodépression.

Afin de tester l'hypothèse d'un portage viral immuno-silencieux du VHE chez cet individu, certains échantillons ont été testés par RT-PCR.

L'ensemble des tests pratiqués sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 16 : Résultats des tests pratiqués chez le donneur 4 présentant une absence de séroconversion.

Dates	IgM	IgG	Titre	ARN (UI/mL) CNR Toulouse	RT-PCR	Délai entre échantillons (En mois)
11/10/2010	NEG	NEG	0,00		Non réalisé	11
16/09/2011	NEG	NEG	0,00		NEG	12
05/10/2012	NEG	NEG	0,00	1 404 000	Don ARN POS	21
11/07/2014	NEG	NEG	0,03		NEG	6
16/01/2015	NEG	NEG	0,00		Non réalisé	2
27/03/2015	NEG	NEG	0,02		NEG	5
18/09/2015	NEG	NEG	0,01		Non réalisé	

A notre connaissance, il s'agit du premier cas documenté d'absence de séroconversion chez un donneur de sang.

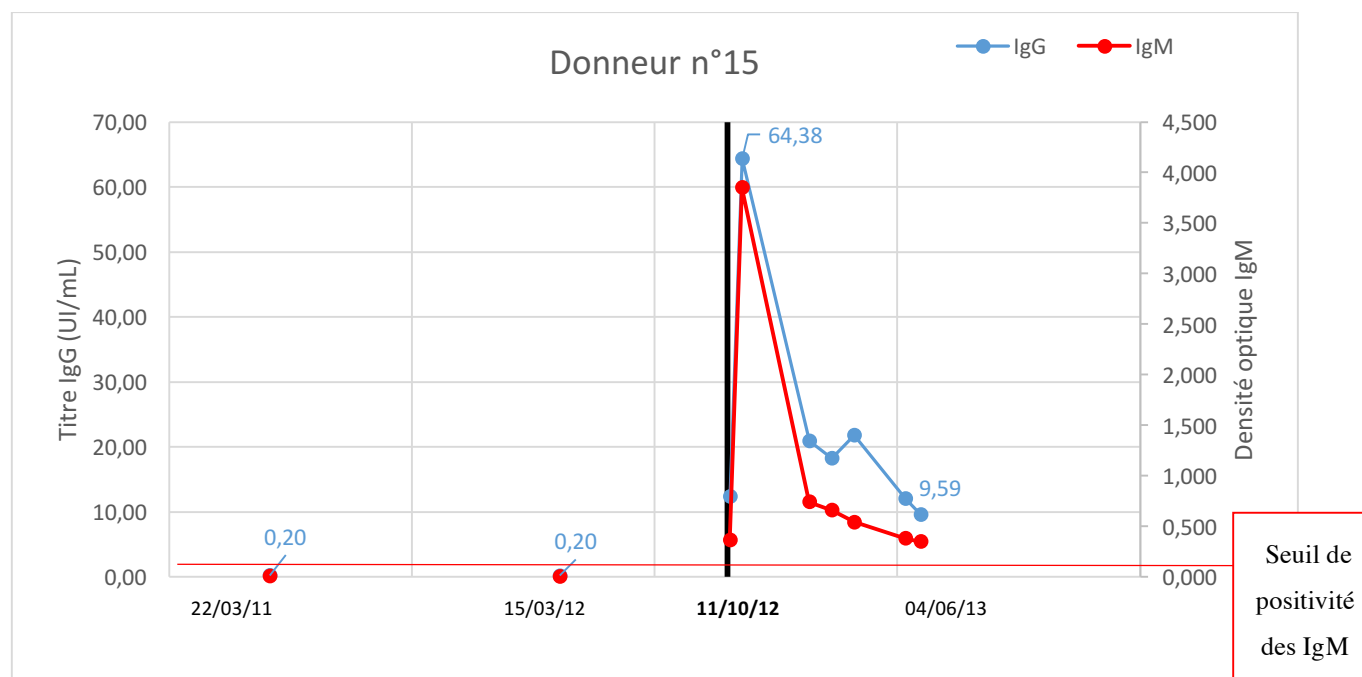
3.4.2. Profils évocateurs de réinfection par le VHE

Nous avons observé parmi les donneurs présentant une cinétique IgG de type « pic », 2 profils biologiques évocateurs d'une réinfection virale. Ce sont deux hommes, de 49 ans (donneur n°8) et 57 ans (donneur n°15).

3.4.2.1. Premier profil : possible infection préalable au cas « index » ARN VHE positif

Il s'agit du donneur n°15 (homme 57 ans). La représentation graphique des titres d'IgG anti-VHE ci-dessous montre la présence d'IgG anti-VHE avec des titres faibles avant le don « index » virémique.

Graphique 7 : Représentation de la cinétique anti-VHE du donneur 15



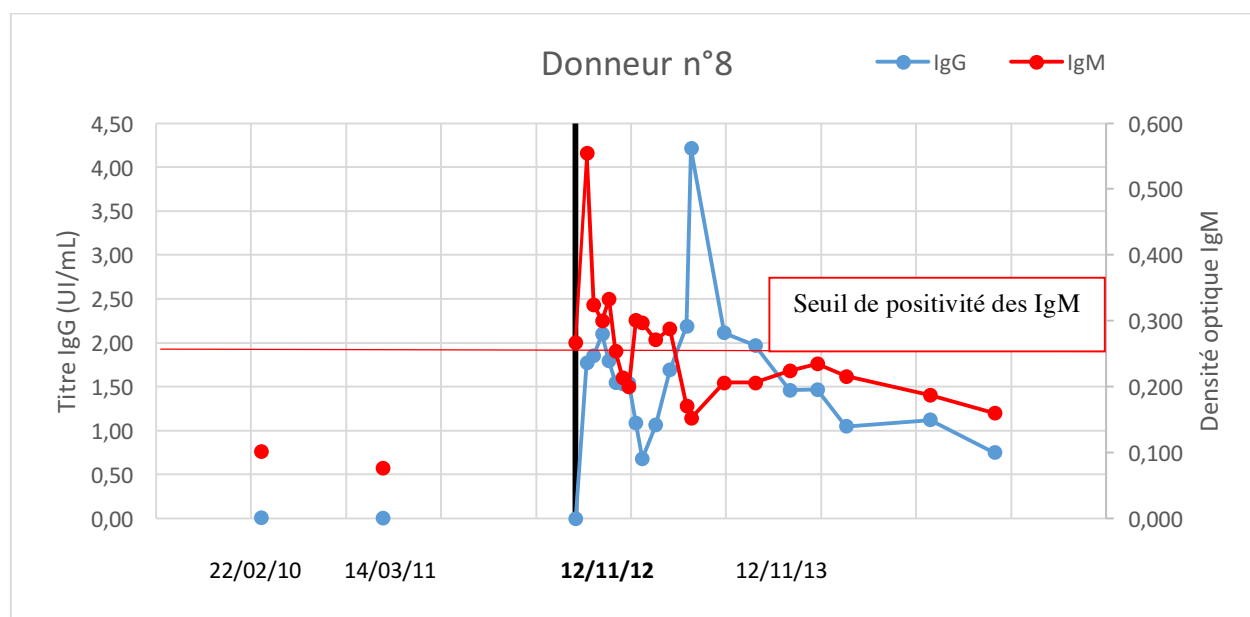
On s'aperçoit qu'avant le don « index » virémique (losange rouge) du 11/10/12 ce donneur était séropositif pour les IgG anti-VHE avec un titre faible, autour de 0,20 UI/mL, et ce environ 7 mois (15/03/12) et 17 mois (22/03/11) avant le don « index » ARN VHE +.

En absence de possibilité de réaliser un test de séroneutralisation concluant sur des titres d'IgG aussi bas, il est impossible de conclure formellement à une réinfection par le VHE.

3.4.2.2. Second profil : possible réinfection post cas « index » ARN VHE positif

Le profil des marqueurs biologiques VHE (ci-dessous) du donneur N°8 (homme de 40 ans) suggère une possible réinfection par le VHE ou une réactivation immunitaire dans le semestre suivant le don index ARN-VHE positif.

Graphique 8 : Représentation de la cinétique anti-VHE du donneur 8



En effet, chez ce donneur dont les IgG anti-VHE étaient négatives pendant une période d'environ 2 ans avant le don virémique du 12/11/2012 (axe noir), on observe :

- La présence d'IgM et d'un premier pic IgG entre le mois de novembre 2012 et le mois d'avril 2013, les titres IgG observés lors de ce premier pic sont faibles et ne dépassent pas 2.10 UI/mL (échantillon du 04/02/2013). Le titre IgG minimum observé lors de ce premier pic était de 0,68 UI/mL. Les anticorps IgM anti-VHE sont testés positifs ou douteux de la mi-décembre 2012 à la mi-mars 2013 puis négatifs sur 2 échantillons séquentiels prélevés au cours du mois d'Avril 2013.
- Par la suite, pendant environ 3.5 mois entre le 21/05/2013 et le 05/09/2013 (soit environ 6 mois après le don « index »), on détecte à nouveau la présence d'IgM anti-VHE (positifs ou douteux) puis leur négativation à partir du prélèvement réalisé le 28/10/2013 ; Dans le même temps, un second pic d'IgG anti-VHE est mis en évidence avec des titres plus élevés que ceux observés lors le période précédente (pic à 4.21 UI/mL le 12/11/2013 vs 2.10 UI/mL le 04/02/2013).

Afin de pouvoir mettre en évidence une possible surinfection par le VHE (en avril-mai 2013), nous avons testés en RT-PCR les échantillons collectés dans la période pendant laquelle une possible surinfection pouvait être identifiée par la présence de l'ARN viral. Tous les résultats de recherche génomique ont été négatifs et ne nous donnent pas d'éléments de certitude pour démontrer formellement une réinfection de ce donneur par le VHE et écarter la possibilité d'une réactivation immunitaire sans nouvelle exposition à l'infection par le VHE.

L'ensemble des tests pratiqués sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 17 : Résultats des tests pratiqués chez le donneur 8

Dates	IgM	IgG	Titre	ARN (UI/mL) CNR Toulouse	RT-PCR
22/02/2010	NEG	NEG	0,00		
14/03/2011	NEG	NEG	0,00		
12/11/2012	POS	NEG	0,00	8 502	Don ARN POS
17/12/2012	POS	POS	1,77		
07/01/2013	POS	POS	1,85		
04/02/2013	POS	POS	2,10		
25/02/2013	POS	POS	1,79		
18/03/2013	DTX	POS	1,55		NEG
09/04/2013	NEG	POS	1,53		NEG
29/04/2013	NEG	POS	1,54		NEG
21/05/2013	POS	POS	1,08		NEG
10/06/2013	POS	POS	0,68		NEG
22/07/2013	DTX	POS	1,06		NEG
05/09/2013	DTX	POS	1,69		NEG
28/10/2013	NEG	POS	2,19		
12/11/2013	NEG	POS	4,21		
24/02/2014	NEG	POS	2,11		
02/06/2014	NEG	POS	1,97		
19/09/2014	NEG	POS	1,46		
15/12/2014	NEG	POS	1,46		
16/03/2015	NEG	POS	1,05		
07/12/2015	NEG	POS	1,12		
27/06/2016	NEG	POS	0,75		

4. Discussion

L'étude de suivi des marqueurs sérologiques de l'infection VHE dans la population des donneurs de sang français est, à notre connaissance, parmi celles portant sur la plus longue durée d'étude (76 mois) d'une population d'individus asymptomatiques tout au long du suivi. En effet, tous les échantillons de cette étude ont été prélevés lors d'un don de sang pour lequel le donneur n'a pas rapporté de signes cliniques spécifiques évocateurs d'une infection virale lors de l'entretien médical pré-don obligatoire et systématique.

Cette étude montre une grande hétérogénéité dans la cinétique de production des anticorps IgG anti-VHE dans la population étudiée constituée de 20 donneurs de sang infectés par une souche de VHE de génotype 3. Plusieurs profils ont ainsi été identifiés. Un premier profil avec un pic d'IgG avec des titres pouvant être élevés (ex : 828, 64 & 58 UI/mL pour les donneurs N°2, N°15 & N°19 respectivement), un second profil en plateaux avec des titres plus faibles que ceux mesurés pour les donneurs ayant un profil en pic (les titres moyens profil en pic = 109 UI/mL vs 7 UI/mL en plateau) et un dernier profil d'absence de séroconversion chez le donneur N°4.

Compte tenu des faibles effectifs étudiés, nous n'avons pas pu mettre en évidence de lien entre les profils sérologiques observés (pic et plateaux) et les paramètres suivants : sous type VHE-3, charge virale lors du don index, âge des donneurs. Toutefois, ces données devront être réévaluées sur un plus grand nombre d'individus.

La réponse immunitaire vis-à-vis de l'infection par l'hépatite E dans la population des donneurs de sang ne présentant pas, à priori, de pathologies immunosuppressives ou de traitements médicaux immunosuppresseurs varie donc d'une réponse immunitaire indétectable (donneur N°4) à une production très importante d'anticorps (donneur N°2). Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces importantes différences de réponses immunitaires :

- Une susceptibilité individuelle à l'infection VHE dont les facteurs prédisposant et/ou protecteurs restent à déterminer pouvant aussi contribuer à expliquer les taux d'infection VHE différents en fonction du sexe ;
- L'importance de l'inoculum viral initial ayant conduit à la contamination ;
- Des modes de contamination différents ;
- La combinaison d'une ou plusieurs de ces hypothèses.

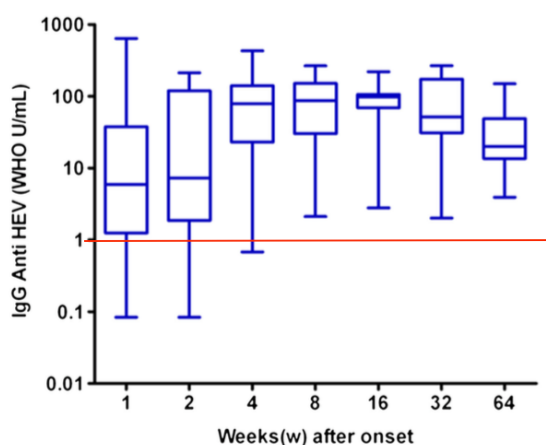
Aucun des individus ayant développés des IgG anti-VHE n'a totalement perdu ses anticorps au cours de la période de suivi. Bien qu'aucune séroreversion n'ait été mise en évidence, dans tous les cas, les titres chutent plus ou moins rapidement avec le temps. Le risque est donc non négligeable qu'en absence de nouveaux contacts, les taux baissent jusqu'à atteindre des titres

d'IgG anti-VHE ne permettant plus une protection efficace. Cette hypothèse est confortée par les travaux de Su et al [199] qui montrent que les titres IgG anti-VHE diminuaient régulièrement chez les patients ayant été infectés naturellement par le VHE, indépendamment du niveau initial, de telle sorte que 50% des patients avaient une concentration d'anticorps indétectable après 14,5 ans. Par contre, les mêmes auteurs estiment que 82 à 99% des patients vaccinés resteraient séropositifs pour les IgG anti-HEV pendant 30 ans après la vaccination. De plus ; Servant-Delmas et al. [166], dans un suivi de receveurs de produits sanguins observe 3 patients immunocompétents avec des titres d'IgG diminuant de manière progressive (sur 10 ans) et 9 séro-négativations sur une longue période d'observation (moyenne de 7,4 années). Enfin, Kamar et al. [146] précise dans une revue de la littérature que dans certains cas, les IgG anti-VHE disparaissent rapidement sans en préciser de délai.

Le délai à partir duquel la quantité d'IgG anti-VHE risque de ne plus être protectrice peut être estimé en étudiant, lors de suivi des donneurs de sang, le moment où un titre mesuré est inférieur ou égal aux différents titres d'anticorps proposés dans la littérature comme étant protecteurs. La plupart des valeurs proposées sont issues d'études réalisées au décours de protocoles vaccinaux.

Dans de nombreux cas, à l'issue de la période d'étude, les taux d'anticorps sont faibles et se situent dans un délai maximal de 28 mois en dessous des différents seuils de protection décrits dans la littérature (1 ; 2,5 ; 7 et 10 UI/mL : voir partie 6).

Concernant le groupe de donneur présentant un profil de cinétique IgG anti-VHE de type « plateau », la proportion d'individus avec un taux protecteur à l'issue du suivi est de 100% pour un seuil à 1 UI/mL, 33% pour un seuil à 2,5 UI/mL et 17% pour un seuil à 5 ou 10 UI/mL. L'étude de Zhang et al. [201] portant sur 91 patients symptomatiques rapporte que 100% des individus ont un titre IgG (mesuré par la technique Wantai) > 1 UI/mL, entre 8 et 64 semaines après le début des signes cliniques.



Hepatitis E virus: neutralizing sites, diagnosis, and protective immunity, Zhang et al. 2012 [201].

Concernant les capacités de protection des IgG anti-VHE, la quantité d'anticorps est importante mais n'est certainement pas le seul paramètre en prendre en considération. En effet, la capacité de ces anticorps à séroneutraliser le virus infectieux est un élément à considérer dans de futures études en tenant compte que le contact de l'organisme infecté peut susciter une réponse immune vis-à-vis de l'une des deux ou les deux formes de présentation du virus (nu ou enveloppé d'une couche lipidique) qui peuvent potentiellement présenter des caractéristiques immunogènes différentes. Une étude récente (2016) de Cai et al. [296] visant à estimer chez le primate la production d'anticorps titrés par la technique Wantai et titré par technique de séroneutralisation, montre des taux similaires de titre d'anticorps que l'on utilise l'une ou l'autre méthode et ce pour des infections naturelles ou des procédures vaccinales (voir partie 8).

Parmi les 20 donneurs ayant fait l'objet d'un suivi des marqueurs sérologiques au décours d'une infection asymptomatique par le Virus de l'hépatite E, nous avons observé un cas évocateur d'une absence de séroconversion IgG chez le donneur N°4 infecté par une souche VHE-3f (CV = 1 404 000 UI/mL). Le délai entre le don « index » ARN VHE positif et le premier échantillon postérieur disponible est de 21 mois rendant impossible la mise en évidence d'anticorps de type IgM. Le suivi rapproché (intervalle de 2 à 6 mois) qui a été réalisé entre le 21ème et le 35ème mois post don virémique n'a pas mis en évidence d'anticorps de type IgG anti-VHE. Bien que l'on ne puisse pas formellement écarter la possibilité d'une présence transitoire d'IgG pendant la période de 21 mois suivant le don virémique, cette hypothèse n'est pas étayée par les données de notre étude, et pas non plus, à notre connaissance, par les données de la littérature. Notre étude montre qu'un individu infecté par une souche VHE-3f ayant présenté une charge virale importante (1 404 000 UI/mL) peut ne pas présenter d'anticorps IgG détectables en réponse à cette infection au maximum 21 mois après la détection de la virémie.

Dans la littérature, des cas similaires ont été rapportés mais l'absence de détection des anticorps IgM et/ou IgG est sujet à caution compte tenu du manque de sensibilité des techniques de sérologie utilisées.

En 1995, Clayson et al. [298] présentait des cas d'hépatites E ARN VHE positives mais séronégatives (IgM et IgG). Néanmoins, la technique de sérologie utilisée était une technique avec une sensibilité de 74% pour les IgM et 82% pour les IgG ; de plus les auteurs ne disposaient pas de beaucoup de prélèvements post infection afin de s'assurer réellement de la séronégativité.

En 2003, Mansuy et al. [299], rapporte un cas d'une patiente de 41 ans consultant pour fièvre et ictère évoluant depuis 2 jours. Le diagnostic d'hépatite E à VHE-3 est posé et le suivi sérologique pendant 4 mois montre une absence de détection des IgG anti-VHE. Les auteurs écrivent que c'est le premier cas d'hépatite E aigue symptomatique séronégative. Néanmoins, la technique de sérologie utilisée est la technique Abbott. Il n'est donc pas exclu qu'une

technique plus sensible, parmi celles disponibles depuis 2010, aurait peut-être détecté la présence d'anticorps anti VHE.

De plus, un cas de transmission du VHE par transplantation hépatique a été décrit dans la partie 3 (Schlosser et al.). C'était un patient qui a développé une hépatite E chronique après transplantation hépatique à partir d'un donneur qui avait une hépatite E occulte (séronégatif, virémie négative, présence du virus dans le tissu hépatique). Dans ce cas la technique sérologique utilisée était la technique RecomWell ELISA.

Parmi les hypothèses permettant de rendre compte d'une absence de séroconversion, la présence d'un déficit immunitaire chez ce donneur peut être évoquée. Toutefois, une étude récente portant sur les co-infections VIH et VHE de 2014 (Rivero-Juarez et al [300]) montre que même chez les sujets les plus immunodéprimés ($CD4 < 50$ cellules/mL), la sérologie était toujours positive (technique Wantai) quand l'ARN VHE était détecté. Le donneur n'a rapporté au cours des entretiens cliniques pré-don, aucun élément en faveur d'une cause d'immunodépression.

Par ailleurs, nous avons pu observer 2 profils différents évocateurs de réinfection.

- Dans un cas (donneur n°8), les échantillons disponibles avant le don virémique (environ 1 et 2 ans) étaient négatifs en sérologie IgM et IgG anti-VHE. A l'issu du don « index » ARN-VHE positif, on observe la cinétique classique des marqueurs sérologiques du VHE avec l'apparition des IgM suivi d'un pic d'IgG avec des titres relativement faibles n'excédant pas 2.1 UI/mL. Les anticorps de type IgM disparaissent au bout de 4 mois et sont testés négatifs pendant environ 1 mois, puis de manière inattendue se positivent à nouveau pendant 4 mois, période au cours de laquelle on assiste à un second pic d'IgG plus intense puisque le titre s'élève à 4.21 UI/mL. Bien que nous n'ayons pas pu détecter un échantillon virémique au décours de la période correspondant au second pic IgG associé à la re-détection d'IgM, l'hypothèse d'une réinfection se traduisant par une virémie très courte dans un contexte de réaction immune récente mais peu intense pour être protectrice et permettant d'expliquer le profil observé ne peut pas être exclue. Une autre hypothèse étant la possibilité d'une réactivation de l'infection à VHE suite à un facteur inconnu.
- Le second cas (donneur n°15) est différent puisque les 2 échantillons recueillis avant le don « index » ARN-VHE positif (prélèvements réalisés 7 et 19 mois avant le don virémique) ont permis de mettre en évidence la présence d'IgG anti-VHE à des titres faibles (environ 0.20 UI/mL) et non protecteurs. A l'issu du don « index » une cinétique classique des marqueurs sérologiques du VHE a été observée : présence d'IgM pendant

au minimum 8.5 mois (suivi pas assez prolongé pour observer une négativation des IgM) et présence d'un pic d'IgG avec des titres parmi les plus élevés (64 UI/mL) observés dans notre étude.

La possibilité de réinfection par le VHE a déjà été évoquée dans la littérature chez des individus immunocompétents.

En 2015, Baylis et al. [301] observe une réinfection par le VHE chez deux donneurs de sang. L'étude se base sur la détermination de l'avidité des IgG anti-VHE. En effet, pour les auteurs une primo infection aiguë à VHE est associée à des IgG anti-VHE de faible avidité alors que des anticorps de forte avidité sont observés après la phase aiguë et en cas de réinfections. Le profil des marqueurs biologiques est le même pour les deux patients : ARN VHE positif, IgM négatifs, IgG positif faible (titres à 0,48 et 0,21 UI/mL) de forte avidité (99,16 et 70,75%). Les auteurs concluent alors à une réinfection pour ces deux patients.

En 2016, dans une étude portant sur une cohorte de 98 patients immunocompétents polytransfusés, Servant-Delmas et al. [166] retrouve une réinfection chez un patient. Pendant le suivi ce patient avait des titres d'IgG anti-VHE autour de 10 UI/mL et a subi une augmentation des IgG à 400 UI/mL, l'ARN VHE et les IgM anti-VHE sont alors positifs. Les auteurs concluent à une réinfection.

En 2017, Rivero-Juarez et al. [302] rapporte deux autres cas de réinfection par le VHE chez des patients co-infectés par le VHC et le VIH mais avec des taux de CD4 normaux. Pour les auteurs, ces patients sont considérés comme immunocompétents. Les deux cas étaient séropositifs pour le VHE (titres d'IgG autour de 4 UI/mL). Lors de la réinfection caractérisée par la présence d'ARN viral, les deux patients avaient une charge virale VHC et VIH négatives, les titres d'IgG anti-VHE ont alors triplé pour les deux patients mais les IgM sont restées négatives.

Il existe quelques articles traitant des réinfections par le VHE chez des patients présentant un contexte d'immunodépression et parfaitement documentée par la mise en évidence de l'ARN viral. En 2014, Abravanel et al. [157] observe lors du suivi d'une cohorte de 263 transplantés d'organe sur une période d'une année après la greffe, 3 cas de réinfection objectivés par une virémie détectable chez des patients ayant des titres d'anticorps variant de 0.3 à 6.2 UI/mL. Les auteurs concluent qu'un taux inférieur à 7 UI/mL n'est pas protecteur vis-à-vis d'une réinfection chez un patient transplanté. Ce même seuil protection (7 UI/mL) a été évoqué par Schemmerer et al. [303] lors de l'étude de 4 cas de réinfection chez des patients adultes immunocompétents. Dans cette étude, les arguments de réinfection sont à la fois un titre IgG anti-VHE multiplié par 4 chez un patient connu pour avoir un titre IgG > 0,5 UI/mL dans l'année précédente, et une affinité des IgG > 50%.

Parmi les 16 donneurs prélevés à une phase précoce de l'infection et présentant une sérologie IgM et IgG anti-VHE négative, le délai d'apparition d'un test IgM positif varie de 15 à 58 jours (moyenne = 40 jours et médiane = 40 jours). Ce délai moyen est comparable avec ceux rapportés dans la littérature. Fischer et al. [234] rapporte en 2015 un délai moyen d'apparition des IgM de 34 jours lors d'une étude portant sur le suivi de 6 donneurs de sang séronégatifs ARN VHE positif lors don. Plus récemment, le suivi sérologique de 10 donneurs de sang allemands porteurs d'ARN VHE en utilisant entre autres la trousse Wantai (Vollmer et al. [272]) a permis d'estimer le délai moyen d'apparition des IgM à 30 jours (entre 8 et 42 jours). L'intervalle de temps moyen entre le don ARN VHE positif et le deuxième prélèvement disponible était de 20 jours pour notre cohorte et de 29 jours pour la cohorte de Vollmer et al. Le suivi biologique de patients infectés par le VHE permet de disposer d'échantillons prélevés de manière plus rapprochée. C'est ainsi qu'avec des prélèvements espacés de 5,6 jours en moyenne, O'Riordan et al [271] observe un délai moyen d'apparition des IgM anti VHE (technique Wantai) de 25 jours après le prélèvement de la première charge virale positive.

La détermination de la durée de portage des IgM anti-VHE est délicate à estimer car :

- Dans certains cas l'échantillon suivant le don ARN positif est, soit trop proche de celui-ci, soit trop éloigné. Ceci se traduisant par un suivi dans le temps ne comportant aucun échantillon IgM anti-VHE positif. C'est le cas dans notre étude avec les donneurs n° 1, 3, 10, 11, 12, 13, 16 et 20 dont le délai entre le don « index » virémique et le premier échantillon de suivi varie de 1 mois pour le donneur 1 (trop court) à 6-13 mois (donneurs 3, 13, 16 & 20) ;
- Le suivi n'est pas assez prolongé pour permettre d'observer sur au moins le dernier prélèvement la négativation du marqueur IgM anti-VHE (donneurs 5, 6, 7 et 15). Ceci correspondant à des périodes minimales de détection d'IgM post don « index » virémique variant de 15 jours à 8 mois (donneur 6, 7 & 15) mais pouvant se prolonger jusqu'à 18 mois dans le cas du donneur 5 ;
- Par des délais excessifs entre les dons IgM positifs et les dons IgM négatifs précédant et suivant la période IgM +. Comme c'est le cas pour le donneur 14 dont le seul don IgM positif est encadré de 2 dons négatifs espacés de 120 et > 200 jours rendant l'information inexploitable.

Compte tenu des délais inter-échantillons aux phases de séroconversion et de séroreversion des IgM, parmi les 5 donneurs dont le suivi permet d'étudier la cinétique de ces anticorps, le délai

de portage peut être appréciés de manière assez précise chez les donneurs 2 et 17. La durée de présence des IgM est respectivement de 220 jours minimum +/- 15 jours en moyenne et 133 jours minimum +/- 28 jours en moyenne pour les donneurs 2 et 17. Des durées de persistance IgM plus courte peuvent être estimées par les suivis des donneurs 9 et 18 pour lesquels on observe des durées de 23 jours minimum +/- 60 jours en moyenne et de 76 jours minimum +/- 31 jours en moyenne respectivement. Enfin une durée prolongée minimale de 328 jours +/- 78 jours en moyenne a été mise en évidence chez le donneur 19 qui par ailleurs a présenté un titre IgG maximal de 58 UI/mL.

	Durée t1 - t0	Durée de portage des IgM +	Durée t3 - t2
Donneur 2	15 jours	220 jours	14 jours
Donneur 17	22 jours	133 jours	35 jours
Donneur 18	49 jours	76 jours	14 jours
Donneur 9	56 jours	23 jours	63 jours
Donneur 19	58 jours	328 jours	99 jours

t0 : dernier prélèvement IgM- / t1 : premier prélèvement IgM+ / t2 : dernier prélèvement IgM+ / t3 : premier prélèvement IgM-.

Bien que le nombre de donneur pour lequel la durée de portage des IgM anti-VHE est exploitable soit faible, il semble que la durée de portage des IgM soit potentiellement associée à un titre IgG élevé comme le suggère le tableau ci-dessous :

Donneur	9	18	17	2	19
Durée de portage minimale des IgM (jours)	23	76	133	220	328
Titre IgG maximal (UI/mL)	5,11	11	13,8	828	58

Au total la durée de portage des IgM au décours de l'infection chez les donneurs asymptomatiques varie entre un minimum de 23 jours et un maximum de 328 jours témoignant d'une forte hétérogénéité de la réponse immunitaire comme les profils observés avec la sérologie IgG le suggéraient précédemment. L'étude de Vollmer et al. [272] sur 10 donneurs de sang avait estimé la durée moyenne de positivité des IgM à 63 jours.

Notre étude comporte plusieurs biais.

Tout d'abord, la population étudiée est composée de donneurs de sang ARN VHE positif à 100% masculine. Une revue de la littérature nous permet de comparer cette caractéristique aux autres cohortes de donneurs de sang ARN VHE positif et de s'apercevoir que la proportion d'hommes n'est pas particulièrement différente des autres études. En effet, la plupart des auteurs trouvent une proportion d'homme supérieur à 80% comme par exemple en Europe avec des équipes néerlandaises [255], anglaises [304], autrichiennes [234], irlandaises [271], et danoises [264] ou en Asie avec des équipes japonaises [274] et chinoises [275]. Dans une étude similaire, Vollmer et al [272] ont une cohorte composée de 10 donneurs de sang, tous de sexe

masculin. Selon Tedder et al. [304], la proportion supérieure d'hommes infectés par le VHE s'expliquerait par la susceptibilité à une infection plutôt que par une susceptibilité au développement d'une hépatite clinique. Par exemple, les auteurs, s'appuyant sur un rapport ayant comme sujet la nutrition en Angleterre, expliquent que les hommes consomment environ 15% de plus de produits alimentaires dérivés de porcs que les femmes. Les auteurs concluent que c'est seulement un élément à considérer car il ne permet pas à lui seul d'expliquer une telle différence entre hommes et femmes.

Par ailleurs, notre étude a été limitée par l'absence de disponibilité d'échantillons informatifs permettant de limiter le délai entre deux dons. Nous avons vu que l'amplitude moyenne entre deux dons (à partir du don ARN VHE positif) était de 70 jours mais avec des variations considérables puisque l'amplitude minimale est de 14 jours (durée minimale légale entre deux dons de plasmas) alors que l'amplitude maximale est de 644 jours. Face à cette hétérogénéité, les points d'observation pour faire une cinétique sérologique peuvent être trop éloignés pour permettre d'observer certaines variations comme une augmentation du titre réellement plus importante qu'observée.

5. Conclusion

Notre étude montre que même sur un nombre de sujet restreint, la réponse immune vis-à-vis de l'infection par le VHE-3 est très hétérogène dans une population de donneurs de sang asymptomatiques et non immunodéprimés. En effet, nous avons observé, à côté de cinétiques classiques de marqueurs infectieux, un cas d'absence de réponse immune IgG anti-VHE sur une période d'étude de 35 mois mais aussi deux cas évocateurs de réinfection par le VHE. Un cas avec une sérologie IgG anti-VHE positive avant le don ARN VHE + et un second cas à la suite d'un don ARN VHE positif caractérisé par deux périodes de présence d'IgM distinctes associées à deux pics IgG, le second pic ayant un titre IgG double du premier pic. Pour ce dernier cas, nos données ne permettent néanmoins pas de faire la différence entre une réinfection ou une réactivation virale.

Cette étude a également permis de préciser le délai d'apparition après le don positif pour l'ARN VHE et la durée de portage des IgM anti-VHE. Le délai d'apparition des IgM après le don ARN VHE + varie de 15 à 58 jours (moyenne : 40 jours ; médiane : 40 jours). La durée minimale de portage des IgM varie de 23 à 328 jours (moyenne : 148 jours ; médiane : 120 jours) et la durée de portage maximale varie de 86 à 428 jours (moyenne : 194 jours ; médiane : 164 jours).

Cette étude a permis aussi d'estimer le délai d'apparition après le don virémique et la durée de persistance des IgG anti-VHE. Le délai d'apparition des IgG après le don ARN VHE + est en moyenne de 39 jours (médiane : 35 jours) et la durée de présence des IgG est supérieure à 13,5 mois (conditionné par le suivi des donneurs)

Toutefois, des travaux complémentaires sont nécessaires en vue de :

- Documenter ce suivi sur un plus grand nombre de donneurs afin :
 - De mieux préciser l'importance ou non des cinétiques en pic ou en plateaux ;
 - D'estimer la proportion d'individus immunosilencieux post-infection ;
 - D'évaluer le lien possible évoqué dans notre étude entre la durée de portage des IgM et le titre des IgG ;
 - D'évaluer le lien possible entre le titre IgG au pic et le titre IgG résiduel pour élaborer une modélisation mathématique.
- Documenter ce suivi sur une période plus longue afin :
 - D'étudier les cas éventuels de seroreversion et le délai de survenue
 - D'étudier la durée de la période post infection présentant des titres d'anticorps estimés comme protecteurs
 - Et *in fine* mieux préciser le rôle des anticorps IgG anti-VHE au décours de l'infection en ayant recours à des titrations en anticorps séroneutralisants.

Le suivi à long terme des donneurs de sang infecté par le VHE permettra d'obtenir des données importantes dans la compréhension de l'histoire naturelle de l'infection du VHE-3 chez l'homme. Toutefois, comme pour la plupart des individus infectés par le VHE, du fait qu'il s'agit d'une zoonose à transmission par voie orale, des éléments importants et informatifs demeureront difficile à cerner comme les paramètres relatifs à la contamination de ces donneurs : la source de la contamination, la charge virale de l'inoculum, la date de la contamination...

Bibliographie

- [1] M. S. Balayan *et al.*, « Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route », *Intervirology*, vol. 20, n° 1, p. 23-31, 1983.
- [2] C. C. Huang *et al.*, « Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV) », *Virology*, vol. 191, n° 2, p. 550-558, déc. 1992.
- [3] A. W. Tam *et al.*, « Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome », *Virology*, vol. 185, n° 1, p. 120-131, nov. 1991.
- [4] A. S. Luring et R. Andino, « Quasispecies Theory and the Behavior of RNA Viruses », *PLOS Pathog.*, vol. 6, n° 7, p. e1001005, juil 2010.
- [5] X. Yin, X. Li, et Z. Feng, « Role of Envelopment in the HEV Life Cycle », *Viruses*, vol. 8, n° 8, p. 229, août 2016.
- [6] E. Barnaud, S. Rogée, P. Garry, N. Rose, et N. Pavio, « Thermal Inactivation of Infectious Hepatitis E Virus in Experimentally Contaminated Food », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 78, n° 15, p. 5153-5159, août 2012.
- [7] P. Colson *et al.*, « Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans », *J. Infect. Dis.*, vol. 202, n° 6, p. 825-834, sept. 2010.
- [8] J. Petrik *et al.*, « Hepatitis E », *Vox Sang.*, vol. 110, n° 1, p. 93-103, janv. 2016.
- [9] M. R. Farcet *et al.*, « Hepatitis E virus and the safety of plasma products: investigations into the reduction capacity of manufacturing processes », *Transfusion (Paris)*, vol. 56, n° 2, p. 383-391, févr. 2016.
- [10] EMA, « Reflection paper on viral safety of plasma-derived medicinal products with respect to Hepatitis E virus ». .
- [11] M. S. Khuroo, M. S. Khuroo, et N. S. Khuroo, « Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure », *World J. Gastroenterol.*, vol. 22, n° 31, p. 7030-7045, août 2016.
- [12] E. V. Koonin, « The phylogeny of RNA-dependent RNA polymerases of positive-strand RNA viruses », *J. Gen. Virol.*, vol. 72 (Pt 9), p. 2197-2206, sept. 1991.
- [13] E. V. Koonin, A. E. Gorbalenya, M. A. Purdy, M. N. Rozanov, G. R. Reyes, et D. W. Bradley, « Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 89, n° 17, p. 8259-8263, sept. 1992.
- [14] J. Magden *et al.*, « Virus-specific mRNA capping enzyme encoded by hepatitis E virus », *J. Virol.*, vol. 75, n° 14, p. 6249-6255, juill. 2001.

- [15] S. U. Emerson *et al.*, « Recombinant hepatitis E virus genomes infectious for primates: importance of capping and discovery of a cis-reactive element », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, n° 26, p. 15270-15275, déc. 2001.
- [16] Y. W. Huang, G. Haqshenas, C. Kasorndorkbua, P. G. Halbur, S. U. Emerson, et X. J. Meng, « Capped RNA Transcripts of Full-Length cDNA Clones of Swine Hepatitis E Virus Are Replication Competent When Transfected into Huh7 Cells and Infectious When Intrahepatically Inoculated into Pigs », *J. Virol.*, vol. 79, n° 3, p. 1552-1558, févr. 2005.
- [17] A. E. Gorbalenya, E. V. Koonin, et M. M. Lai, « Putative papain-related thiol proteases of positive-strand RNA viruses. Identification of rubi- and aphthovirus proteases and delineation of a novel conserved domain associated with proteases of rubi-, alpha- and coronaviruses », *FEBS Lett.*, vol. 288, n° 1-2, p. 201-205, août 1991.
- [18] J. Perttilä, P. Spuul, et T. Ahola, « Early secretory pathway localization and lack of processing for hepatitis E virus replication protein pORF1 », *J. Gen. Virol.*, vol. 94, n° Pt 4, p. 807-816, avr. 2013.
- [19] D. Paliwal, S. K. Panda, N. Kapur, S. P. K. Varma, et H. Durgapal, « Hepatitis E virus (HEV) protease: a chymotrypsin-like enzyme that processes both non-structural (pORF1) and capsid (pORF2) protein », *J. Gen. Virol.*, vol. 95, n° Pt 8, p. 1689-1700, août 2014.
- [20] M. A. Purdy, « Evolution of the hepatitis E virus polyproline region: order from disorder », *J. Virol.*, vol. 86, n° 18, p. 10186-10193, sept. 2012.
- [21] M. A. Purdy, J. Lara, et Y. E. Khudyakov, « The hepatitis E virus polyproline region is involved in viral adaptation », *PloS One*, vol. 7, n° 4, p. e35974, 2012.
- [22] Z. Chen *et al.*, « Immunodominant epitopes in nsp2 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus are dispensable for replication, but play an important role in modulation of the host immune response », *J. Gen. Virol.*, vol. 91, n° Pt 4, p. 1047-1057, avr. 2010.
- [23] D. B. Smith, J. Vanek, S. Ramalingam, I. Johannessen, K. Templeton, et P. Simmonds, « Evolution of the hepatitis E virus hypervariable region », *J. Gen. Virol.*, vol. 93, n° Pt 11, p. 2408-2418, nov. 2012.
- [24] S. Lhomme *et al.*, « Influence of polyproline region and macro domain genetic heterogeneity on HEV persistence in immunocompromised patients », *J. Infect. Dis.*, vol. 209, n° 2, p. 300-303, janv. 2014.
- [25] G. Kadaré et A. L. Haenni, « Virus-encoded RNA helicases », *J. Virol.*, vol. 71, n° 4, p. 2583-2590, avr. 1997.
- [26] Y. A. Karpe et K. S. Lole, « RNA 5'-triphosphatase activity of the hepatitis E virus

helicase domain », *J. Virol.*, vol. 84, n° 18, p. 9637-9641, sept. 2010.

[27] K. E. Fry *et al.*, « Hepatitis E virus (HEV): strain variation in the nonstructural gene region encoding consensus motifs for an RNA-dependent RNA polymerase and an ATP/GTP binding site », *Virus Genes*, vol. 6, n° 2, p. 173-185, avr. 1992.

[28] S. Agrawal, D. Gupta, et S. K. Panda, « The 3' end of hepatitis E virus (HEV) genome binds specifically to the viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) », *Virology*, vol. 282, n° 1, p. 87-101, mars 2001.

[29] S. Rehman, N. Kapur, H. Durgapal, et S. K. Panda, « Subcellular localization of hepatitis E virus (HEV) replicase », *Virology*, vol. 370, n° 1, p. 77-92, janv. 2008.

[30] M. Surjit, S. Jameel, et S. K. Lal, « The ORF2 protein of hepatitis E virus binds the 5' region of viral RNA », *J. Virol.*, vol. 78, n° 1, p. 320-328, janv. 2004.

[31] D. J. Schofield, J. Glamann, S. U. Emerson, et R. H. Purcell, « Identification by Phage Display and Characterization of Two Neutralizing Chimpanzee Monoclonal Antibodies to the Hepatitis E Virus Capsid Protein », *J. Virol.*, vol. 74, n° 12, p. 5548-5555, juin 2000.

[32] J. Meng *et al.*, « Identification and characterization of the neutralization epitope(s) of the hepatitis E virus », *Virology*, vol. 288, n° 2, p. 203-211, sept. 2001.

[33] Y.-H. Zhou, R. H. Purcell, et S. U. Emerson, « An ELISA for putative neutralizing antibodies to hepatitis E virus detects antibodies to genotypes 1, 2, 3, and 4 », *Vaccine*, vol. 22, n° 20, p. 2578-2585, juin 2004.

[34] Y. Zhou et S. U. Emerson, « P.302 Heat shock cognate protein 70 may mediate the entry of hepatitis E virus into host cells », *J. Clin. Virol.*, vol. 36, p. S155, janv. 2006.

[35] Z.-Z. Zheng *et al.*, « Role of heat-shock protein 90 in hepatitis E virus capsid trafficking », *J. Gen. Virol.*, vol. 91, n° Pt 7, p. 1728-1736, juill. 2010.

[36] H. Yu *et al.*, « Homology model and potential virus-capsid binding site of a putative HEV receptor Grp78 », *J. Mol. Model.*, vol. 17, n° 5, p. 987-995, mai 2011.

[37] J. Graff, U. Torian, H. Nguyen, et S. U. Emerson, « A bicistronic subgenomic mRNA encodes both the ORF2 and ORF3 proteins of hepatitis E virus », *J. Virol.*, vol. 80, n° 12, p. 5919-5926, juin 2006.

[38] I. Ahmad, R. P. Holla, et S. Jameel, « Molecular Virology of Hepatitis E Virus », *Virus Res.*, vol. 161, n° 1, p. 47-58, oct. 2011.

[39] H. Kannan, S. Fan, D. Patel, I. Bossis, et Y.-J. Zhang, « The Hepatitis E Virus Open Reading Frame 3 Product Interacts with Microtubules and Interferes with Their Dynamics », *J. Virol.*, vol. 83, n° 13, p. 6375-6382, juill. 2009.

[40] R. Ratra, A. Kar-Roy, et S. K. Lal, « The ORF3 protein of hepatitis E virus interacts

- with hemopexin by means of its 26 amino acid N-terminal hydrophobic domain II », *Biochemistry (Mosc.)*, vol. 47, n° 7, p. 1957-1969, févr. 2008.
- [41] A. Shimamura, B. A. Ballif, S. A. Richards, et J. Blenis, « Rsk1 mediates a MEK-MAP kinase cell survival signal », *Curr. Biol. CB*, vol. 10, n° 3, p. 127-135, févr. 2000.
- [42] S. M. Moin, V. Chandra, R. Arya, et S. Jameel, « The hepatitis E virus ORF3 protein stabilizes HIF-1alpha and enhances HIF-1-mediated transcriptional activity through p300/CBP », *Cell. Microbiol.*, vol. 11, n° 9, p. 1409-1421, sept. 2009.
- [43] R. P. Holla, I. Ahmad, Z. Ahmad, et S. Jameel, « Molecular virology of hepatitis E virus », *Semin. Liver Dis.*, vol. 33, n° 1, p. 3-14, févr. 2013.
- [44] S. Tyagi, H. Korkaya, M. Zafrullah, S. Jameel, et S. K. Lal, « The phosphorylated form of the ORF3 protein of hepatitis E virus interacts with its non-glycosylated form of the major capsid protein, ORF2 », *J. Biol. Chem.*, vol. 277, n° 25, p. 22759-22767, juin 2002.
- [45] H. Korkaya *et al.*, « The ORF3 protein of hepatitis E virus binds to Src homology 3 domains and activates MAPK », *J. Biol. Chem.*, vol. 276, n° 45, p. 42389-42400, nov. 2001.
- [46] S. M. Moin, M. Panteva, et S. Jameel, « The hepatitis E virus Orf3 protein protects cells from mitochondrial depolarization and death », *J. Biol. Chem.*, vol. 282, n° 29, p. 21124-21133, juill. 2007.
- [47] V. Chandra, M. Kalia, K. Hajela, et S. Jameel, « The ORF3 protein of hepatitis E virus delays degradation of activated growth factor receptors by interacting with CIN85 and blocking formation of the Cbl-CIN85 complex », *J. Virol.*, vol. 84, n° 8, p. 3857-3867, avr. 2010.
- [48] Y. Zhou, Y. Geng, J. Yang, C. Zhao, T. J. Harrison, et Y. Wang, « Hepatitis E virus open reading frame 3 protein interacts with porcine liver-specific plasminogen and α 2-antiplasmin », *J. Med. Virol.*, vol. 86, n° 3, p. 487-495, mars 2014.
- [49] D. B. Smith *et al.*, « Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae », *J. Gen. Virol.*, vol. 95, n° Pt 10, p. 2223-2232, oct. 2014.
- [50] D. B. Smith *et al.*, « Proposed reference sequences for hepatitis E virus subtypes », *J. Gen. Virol.*, vol. 97, n° 3, p. 537-542, mars 2016.
- [51] F. Abravanel *et al.*, « Rabbit Hepatitis E Virus Infections in Humans, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 23, n° 7, p. 1191-1193, juill. 2017.
- [52] G.-H. Lee *et al.*, « Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Liver Transplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk », *Gastroenterology*, vol. 150, n° 2, p. 355-357.e3, févr. 2016.
- [53] P. C. Y. Woo *et al.*, « New Hepatitis E Virus Genotype in Bactrian Camels, Xinjiang, China, 2013 », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 22, n° 12, p. 2219-2221, déc. 2016.

- [54] S. Lhomme, O. Marion, F. Abravanel, S. Chapuy-Regaud, N. Kamar, et J. Izopet, « Hepatitis E Pathogenesis », *Viruses*, vol. 8, n° 8, août 2016.
- [55] R. Aggarwal, « Hepatitis E: Epidemiology and Natural History », *J. Clin. Exp. Hepatol.*, vol. 3, n° 2, p. 125-133, juin 2013.
- [56] N. Kamar *et al.*, « Hepatitis E », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 379, n° 9835, p. 2477-2488, juin 2012.
- [57] Y. Wang, « Transmission of Hepatitis E Virus », *Hepat. E Virus*, p. 89.
- [58] C. Kasorndorkbua *et al.*, « Infectious Swine Hepatitis E Virus Is Present in Pig Manure Storage Facilities on United States Farms, but Evidence of Water Contamination Is Lacking », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 71, n° 12, p. 7831-7837, déc. 2005.
- [59] M. Iaconelli *et al.*, « Hepatitis A and E Viruses in Wastewaters, in River Waters, and in Bivalve Molluscs in Italy », *Food Environ. Virol.*, vol. 7, n° 4, p. 316-324, déc. 2015.
- [60] S. A. Rutjes *et al.*, « Sources of Hepatitis E Virus Genotype 3 in the Netherlands », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 15, n° 3, p. 381-387, mars 2009.
- [61] P. Clemente-Casares *et al.*, « Hepatitis E Virus Epidemiology in Industrialized Countries », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 9, n° 4, p. 449-454, avr. 2003.
- [62] A. Steyer, T. Naglič, T. Močilnik, M. Poljšak-Prijatelj, et M. Poljak, « Hepatitis E virus in domestic pigs and surface waters in Slovenia: prevalence and molecular characterization of a novel genotype 3 lineage », *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.*, vol. 11, n° 7, p. 1732-1737, oct. 2011.
- [63] M. G. Martínez Wassaf *et al.*, « First detection of hepatitis E virus in Central Argentina: environmental and serological survey », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 61, n° 3, p. 334-339, nov. 2014.
- [64] P. A. Baez, M. C. Lopez, A. Duque-Jaramillo, D. Pelaez, F. Molina, et M.-C. Navas, « First evidence of the Hepatitis E virus in environmental waters in Colombia », *PLOS ONE*, vol. 12, n° 5, p. e0177525, mai 2017.
- [65] D. Parashar, P. Khalkar, et V. A. Arankalle, « Survival of hepatitis A and E viruses in soil samples », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 11, p. E1-4, nov. 2011.
- [66] J. Brassard, M.-J. Gagné, M. Généreux, et C. Côté, « Detection of Human Food-Borne and Zoonotic Viruses on Irrigated, Field-Grown Strawberries », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 78, n° 10, p. 3763-3766, mai 2012.
- [67] P. Kokkinos *et al.*, « Harmonised investigation of the occurrence of human enteric viruses in the leafy green vegetable supply chain in three European countries », *Food Environ.*

Virol., vol. 4, n° 4, p. 179-191, déc. 2012.

[68] « Presence of hepatitis E RNA in mussels used as bio-monitors of viral marine pollution (PDF Download Available) », *ResearchGate*.

[69] « Analysis of Complete Genome Sequences of Swine Hepatitis E Virus and Possible Risk Factors for Transmission of HEV to Humans in Korea », *ResearchGate*.

[70] T.-C. Li, T. Miyamura, et N. Takeda, « Detection of Hepatitis E Virus Rna from the Bivalve Yamato-Shijimi (corbicula Japonica) in Japan », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 76, n° 1, p. 170-172, janv. 2007.

[71] M. Riveiro-Barciela, B. Mínguez, R. Gironés, F. Rodriguez-Frías, J. Quer, et M. Buti, « Phylogenetic demonstration of hepatitis E infection transmitted by pork meat ingestion », *J. Clin. Gastroenterol.*, vol. 49, n° 2, p. 165-168, févr. 2015.

[72] N. Pavio, X.-J. Meng, et C. Renou, « Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks », *Vet. Res.*, vol. 41, n° 6, p. 46, déc. 2010.

[73] R. Johne, P. Dremsek, J. Reetz, G. Heckel, M. Hess, et R. G. Ulrich, « Hepeviridae: An expanding family of vertebrate viruses », *Infect. Genet. Evol.*, vol. 27, p. 212-229, oct. 2014.

[74] N. Pavio, X.-J. Meng, et V. Doceul, « Zoonotic origin of hepatitis E », *Curr. Opin. Virol.*, vol. 10, p. 34-41, févr. 2015.

[75] K. A. McCaustland *et al.*, « Hepatitis E virus infection in chimpanzees: a retrospective analysis », *Arch. Virol.*, vol. 145, n° 9, p. 1909-1918, 2000.

[76] H. Yamamoto *et al.*, « Hepatitis E Virus Outbreak in Monkey Facility, Japan », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 12, p. 2032-2034, déc. 2012.

[77] P. W. et Al, « New Hepatitis E Virus Genotype in Camels, the Middle East - Volume 20, Number 6—June 2014 - Emerging Infectious Disease journal - CDC ».

[78] S. Tei, N. Kitajima, K. Takahashi, et S. Mishiro, « Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 362, n° 9381, p. 371-373, août 2003.

[79] G. Reuter, D. Fodor, P. Forgách, A. Káta, et G. Szűcs, « Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary », *J. Clin. Virol.*, vol. 44, n° 4, p. 277-281, avr. 2009.

[80] J. Lin, H. Norder, H. Uhlhorn, S. Belák, et F. Widén, « Novel hepatitis E like virus found in Swedish moose », *J. Gen. Virol.*, vol. 95, n° Pt 3, p. 557-570, mars 2014.

[81] C. Zhao *et al.*, « A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China », *J. Med. Virol.*, vol. 81, n° 8, p. 1371-1379, août 2009.

[82] « Virus Taxonomy: 2015 Release ». .

- [83] J. F. Drexler *et al.*, « Bats Worldwide Carry Hepatitis E Virus-Related Viruses That Form a Putative Novel Genus within the Family Hepeviridae », *J. Virol.*, vol. 86, n° 17, p. 9134-9147, sept. 2012.
- [84] null Mulyanto *et al.*, « Frequent detection and characterization of hepatitis E virus variants in wild rats (*Rattus rattus*) in Indonesia », *Arch. Virol.*, vol. 158, n° 1, p. 87-96, janv. 2013.
- [85] W. Yu *et al.*, « Characterization of hepatitis E virus infection in tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) », *BMC Infect. Dis.*, vol. 1, n° 16, p. 1-7, 2016.
- [86] M. Nidaira *et al.*, « Detection and phylogenetic analysis of hepatitis E viruses from mongooses in Okinawa, Japan », *J. Vet. Med. Sci.*, vol. 74, n° 12, p. 1665-1668, déc. 2012.
- [87] R. Bodewes, J. van der Giessen, B. L. Haagmans, A. D. M. E. Osterhaus, et S. L. Smits, « Identification of multiple novel viruses, including a parvovirus and a hepevirus, in feces of red foxes », *J. Virol.*, vol. 87, n° 13, p. 7758-7764, juill. 2013.
- [88] V. R. et Al, « Novel Hepatitis E Virus in Ferrets, the Netherlands - Volume 18, Number 8—August 2012 - Emerging Infectious Disease journal - CDC ».
- [89] J. S. Krog, S. Ø. Breum, T. H. Jensen, et L. E. Larsen, « Hepatitis E virus variant in farmed mink, Denmark », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 19, n° 12, p. 2028-2030, déc. 2013.
- [90] W. Batts, S. Yun, R. Hedrick, et J. Winton, « A novel member of the family Hepeviridae from cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii*) », *Virus Res.*, vol. 158, n° 1-2, p. 116-123, juin 2011.
- [91] E. T. Clayson *et al.*, « Detection of hepatitis E virus infections among domestic swine in the Kathmandu Valley of Nepal », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 53, n° 3, p. 228-232, sept. 1995.
- [92] X.-J. Meng *et al.*, « A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 94, n° 18, p. 9860-9865, sept. 1997.
- [93] D. Huzly *et al.*, « Transfusion-transmitted hepatitis E in Germany, 2013 », *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 19, n° 21, mai 2014.
- [94] R. W. H. der Honing, E. van Coillie, A. F. G. Antonis, et W. H. M. van der Poel, « First Isolation of Hepatitis E Virus Genotype 4 in Europe through Swine Surveillance in the Netherlands and Belgium », *PLOS ONE*, vol. 6, n° 8, p. e22673, août 2011.
- [95] F. Si *et al.*, « Adaptation of Genotype 3 Hepatitis E Virus in Eastern China and Inverse Correlation with Genotype 4 Hepatitis E Virus », *Intervirology*, vol. 55, n° 5, p. 356-364, déc. 2011.
- [96] N. Pavio et Lunazzi A, « Hépatite E : nouvelles connaissances du côté animal », Agence

nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort; UMR 1161 Virologie, INRA-ENVA-Anses, Maisons-Alfort, France, 2010.

- [97] A. Andonov *et al.*, « Serological and molecular evidence of a plausible transmission of hepatitis E virus through pooled plasma », *Vox Sang.*, vol. 107, n° 3, p. 213-219, oct. 2014.
- [98] Z. F. Sun *et al.*, « Generation and Infectivity Titration of an Infectious Stock of Avian Hepatitis E Virus (HEV) in Chickens and Cross-Species Infection of Turkeys with Avian HEV », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, n° 6, p. 2658-2662, juin 2004.
- [99] W. Zhang *et al.*, « Hepatitis E virus infection among domestic animals in eastern China », *Zoonoses Public Health*, vol. 55, n° 6, p. 291-298, août 2008.
- [100] D. M. Yugo et X.-J. Meng, « Hepatitis E Virus: Foodborne, Waterborne and Zoonotic Transmission », *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 10, n° 10, p. 4507-4533, oct. 2013.
- [101] J. B. Lack, K. Volk, et R. A. Van Den Bussche, « Hepatitis E Virus Genotype 3 in Wild Rats, United States », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 8, p. 1268-1273, août 2012.
- [102] J. Lin *et al.*, « High Prevalence of Hepatitis E Virus in Swedish Moose – A Phylogenetic Characterization and Comparison of the Virus from Different Regions », *PLOS ONE*, vol. 10, n° 4, p. e0122102, avr 2015.
- [103] B. J. Sanford *et al.*, « Serological Evidence for a Hepatitis E Virus-Related Agent in Goats in the United States », *Transbound. Emerg. Dis.*, vol. 60, n° 6, p. 538-545, déc. 2013.
- [104] M. D. Saad *et al.*, « Hepatitis E virus infection in work horses in Egypt », *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.*, vol. 7, n° 3, p. 368-373, juin 2007.
- [105] A. McElroy *et al.*, « Detection of Hepatitis E Virus Antibodies in Dogs in the United Kingdom », *PLOS ONE*, vol. 10, n° 6, p. e0128703, juin 2015.
- [106] H. Liang *et al.*, « Hepatitis E Virus Serosurvey among Pet Dogs and Cats in Several Developed Cities in China », *PLOS ONE*, vol. 9, n° 6, p. e98068, juin 2014.
- [107] D. Gavier-Widen, *Infectious Diseases of Wild Mammals and Birds in Europe*. .
- [108] B. Peralta *et al.*, « Anti-HEV antibodies in domestic animal species and rodents from Spain using a genotype 3-based ELISA », *Vet. Microbiol.*, vol. 137, n° 1, p. 66-73, mai 2009.
- [109] H. Okamoto, M. Takahashi, T. Nishizawa, R. Usui, et E. Kobayashi, « Presence of Antibodies to Hepatitis E Virus in Japanese Pet Cats », *Infection*, vol. 32, n° 1, p. 57-58, févr. 2004.
- [110] Shuchin Tei, Naoto Kitajima, Kazuaki Takahashi, et Shunji Mishiro, « Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings », *Lancet*, vol. 362, n° 9381, p. 371, août 2003.
- [111] Y. Yazaki *et al.*, « Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be

- food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food », *J. Gen. Virol.*, vol. 84, n° Pt 9, p. 2351-2357, sept. 2003.
- [112] H. Matsuda, K. Okada, K. Takahashi, et S. Mishiro, « Severe Hepatitis E Virus Infection after Ingestion of Uncooked Liver from a Wild Boar », *J. Infect. Dis.*, vol. 188, n° 6, p. 944-944, sept. 2003.
- [113] C. Renou, A.-M. R. Afonso, et N. Pavio, « Foodborne Transmission of Hepatitis E Virus from Raw Pork Liver Sausage, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 20, n° 11, p. 1945-1947, nov. 2014.
- [114] Y. Guillois *et al.*, « High Proportion of Asymptomatic Infections in an Outbreak of Hepatitis E Associated With a Spit-Roasted Piglet, France, 2013 », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 62, n° 3, p. 351-357, févr. 2016.
- [115] A. R. Garbuglia *et al.*, « Male patient with acute hepatitis E in Genoa, Italy: figatelli (pork liver sausage) as probable source of the infection », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 21, n° 1, p. e4-6, janv. 2015.
- [116] A. Berto *et al.*, « Hepatitis E Virus in Pork Liver Sausage, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 19, n° 2, p. 264-266, févr. 2013.
- [117] N. Rose et N. Pavio, « Epidémiologie du virus de l'hépatite E chez le porc : comment limiter l'exposition des consommateurs », présenté à Journées Recherche Porcine, 2014.
- [118] F. Huang *et al.*, « Excretion of infectious hepatitis E virus into milk in cows imposes high risks of zoonosis », *Hepatology. Baltim. Md*, vol. 64, n° 2, p. 350-359, août 2016.
- [119] C. Galiana, S. Fernández-Barredo, A. García, M. T. Gómez, et M. T. Pérez-Gracia, « Occupational exposure to hepatitis E virus (HEV) in swine workers », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 78, n° 6, p. 1012-1015, juin 2008.
- [120] X. J. Meng *et al.*, « Prevalence of Antibodies to Hepatitis E Virus in Veterinarians Working with Swine and in Normal Blood Donors in the United States and Other Countries », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 40, n° 1, p. 117-122, janv. 2002.
- [121] P. B. Christensen *et al.*, « Time Trend of the Prevalence of Hepatitis E Antibodies among Farmers and Blood Donors: A Potential Zoonosis in Denmark », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 47, n° 8, p. 1026-1031, oct. 2008.
- [122] A. Kuno *et al.*, « Sporadic acute hepatitis E of a 47-year-old man whose pet cat was positive for antibody to hepatitis E virus », *Hepatology. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hepatology*, vol. 26, n° 3, p. 237-242, juill. 2003.
- [123] M. S. Khuroo, S. Kamili, et S. Jameel, « Vertical transmission of hepatitis E virus », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 345, n° 8956, p. 1025-1026, avr. 1995.

- [124] A. Kumar, M. Beniwal, P. Kar, J. B. Sharma, et N. S. Murthy, « Hepatitis E in pregnancy », *Int. J. Gynecol. Obstet.*, vol. 85, n° 3, p. 240-244, juin 2004.
- [125] S. Singh, A. Mohanty, Y. K. Joshi, D. Deka, S. Mohanty, et S. K. Panda, « Mother-to-child transmission of hepatitis E virus infection », *Indian J. Pediatr.*, vol. 70, n° 1, p. 37-39, janv. 2003.
- [126] M. S. Khuroo, S. Kamili, et M. S. Khuroo, « Clinical course and duration of viremia in vertically transmitted hepatitis E virus (HEV) infection in babies born to HEV-infected mothers », *J. Viral Hepat.*, vol. 16, n° 7, p. 519-523, juill. 2009.
- [127] R. M. Kumar, S. Uduman, S. Rana, J. K. Kochiyil, A. Usmani, et L. Thomas, « Sero-prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates », *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, vol. 100, n° 1, p. 9-15, déc. 2001.
- [128] J. Xia *et al.*, « Experimental infection of pregnant rabbits with hepatitis E virus demonstrating high mortality and vertical transmission », *J. Viral Hepat.*, vol. 22, n° 10, p. 850-857, oct. 2015.
- [129] A. Rivero-Juarez, M. Frias, D. Rodriguez-Cano, F. Cuenca-López, et A. Rivero, « Isolation of Hepatitis E Virus From Breast Milk During Acute Infection », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 62, n° 11, p. 1464, juin 2016.
- [130] M. S. Khuroo, M. S. Khuroo, et N. S. Khuroo, « Transmission of Hepatitis E Virus in Developing Countries », *Viruses*, vol. 8, n° 9, sept. 2016.
- [131] B. Schlosser *et al.*, « Liver transplant from a donor with occult HEV infection induced chronic hepatitis and cirrhosis in the recipient », *J. Hepatol.*, vol. 56, n° 2, p. 500-502, févr. 2012.
- [132] A. Pourbaix *et al.*, « Evidence of hepatitis E virus transmission by renal graft », *Transpl. Infect. Dis. Off. J. Transplant. Soc.*, vol. 19, n° 1, févr. 2017.
- [133] T. Tanaka, M. Takahashi, E. Kusano, et H. Okamoto, « Development and evaluation of an efficient cell-culture system for Hepatitis E virus », *J. Gen. Virol.*, vol. 88, n° Pt 3, p. 903-911, mars 2007.
- [134] T. Tanaka *et al.*, « Development and characterization of a genotype 4 hepatitis E virus cell culture system using a HE-JF5/15F strain recovered from a fulminant hepatitis patient », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 47, n° 6, p. 1906-1910, juin 2009.
- [135] M. Takahashi *et al.*, « Hepatitis E Virus (HEV) strains in serum samples can replicate efficiently in cultured cells despite the coexistence of HEV antibodies: characterization of HEV virions in blood circulation », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 48, n° 4, p. 1112-1125, avr. 2010.
- [136] P. Shukla *et al.*, « Cross-species infections of cultured cells by hepatitis E virus and

- discovery of an infectious virus-host recombinant », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 108, n° 6, p. 2438-2443, févr. 2011.
- [137] D. Cao et X.-J. Meng, « Molecular biology and replication of hepatitis E virus », *Emerg. Microbes Infect.*, vol. 1, n° 8, p. e17, août 2012.
- [138] T. P. E. Williams *et al.*, « Evidence of Extrahepatic Sites of Replication of the Hepatitis E Virus in a Swine Model », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 39, n° 9, p. 3040-3046, sept. 2001.
- [139] P. D. Bose, B. C. Das, R. K. Hazam, A. Kumar, S. Medhi, et P. Kar, « Evidence of extrahepatic replication of hepatitis E virus in human placenta », *J. Gen. Virol.*, vol. 95, n° Pt 6, p. 1266-1271, juin 2014.
- [140] A.-M. Roque-Afonso, « Hépatite E ».
- [141] U. Navaneethan, M. A. Mohajer, et M. T. Shata, « Hepatitis E and Pregnancy- Understanding the pathogenesis », *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver*, vol. 28, n° 9, p. 1190-1199, nov. 2008.
- [142] A. B. Labrique, M. H. Kuniholm, et K. E. Nelson, « The Global impact of hepatitis E : new horizons for an emerging virus », *Emerg. Infect. 9*.
- [143] N. Shinde, T. Patil, A. Deshpande, R. Gulhane, M. Patil, et Y. Bansod, « Clinical Profile, Maternal and Fetal Outcomes of Acute Hepatitis E in Pregnancy », *Ann. Med. Health Sci. Res.*, vol. 4, n° Suppl 2, p. S133-S139, 2014.
- [144] J. M. Mansuy *et al.*, « Acute hepatitis E in south-west France over a 5-year period », *J. Clin. Virol.*, vol. 44, n° 1, p. 74-77, janv. 2009.
- [145] H. R. Dalton *et al.*, « The role of hepatitis E virus testing in drug-induced liver injury », *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 26, n° 10, p. 1429-1435, nov. 2007.
- [146] N. Kamar, H. R. Dalton, F. Abravanel, et J. Izopet, « Hepatitis E Virus Infection », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 27, n° 1, p. 116-138, janv. 2014.
- [147] N. Kamar *et al.*, « Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants », *Gastroenterology*, vol. 140, n° 5, p. 1481-1489, mai 2011.
- [148] N. Kamar, L. Rostaing, F. Legrand-Abravanel, et J. Izopet, « How should hepatitis E virus infection be defined in organ-transplant recipients? », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 13, n° 7, p. 1935-1936, juill. 2013.
- [149] N. Kamar *et al.*, « Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients », *N. Engl. J. Med.*, vol. 358, n° 8, p. 811-817, févr. 2008.
- [150] R. Gérolami, V. Moal, C. Picard, et P. Colson, « Hepatitis E virus as an emerging cause of chronic liver disease in organ transplant recipients », *J. Hepatol.*, vol. 50, n° 3, p. 622-624,

mars 2009.

[151] P. S et W. H, « Chronic hepatitis E in liver transplant recipients: a significant clinical problem? », *Minerva Gastroenterol. Dietol.*, vol. 56, n° 2, p. 121-128, juin 2010.

[152] « Persistent Carriage of Hepatitis E Virus in Patients with HIV Infection <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMc0903778> ».

[153] L. Ollier *et al.*, « Chronic hepatitis after hepatitis E virus infection in a patient with non-Hodgkin lymphoma taking rituximab », *Ann. Intern. Med.*, vol. 150, n° 6, p. 430-431, mars 2009.

[154] J. Versluis *et al.*, « Hepatitis E virus: an underestimated opportunistic pathogen in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation », *Blood*, vol. 122, n° 6, p. 1079-1086, août 2013.

[155] A. Kenfak-Foguena *et al.*, « Hepatitis E Virus Seroprevalence and Chronic Infections in Patients with HIV, Switzerland », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 6, p. 1074-1078, juin 2011.

[156] Y. Geng *et al.*, « Persistent hepatitis e virus genotype 4 infection in a child with acute lymphoblastic leukemia », *Hepat. Mon.*, vol. 14, n° 1, p. e15618, janv. 2014.

[157] F. Abravanel *et al.*, « Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients can evolve into chronic infections », *J. Infect. Dis.*, vol. 209, n° 12, p. 1900-1906, juin 2014.

[158] F. Legrand-Abravanel *et al.*, « Hepatitis E virus infection without reactivation in solid-organ transplant recipients, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 1, p. 30-37, janv. 2011.

[159] P. V. Suneetha *et al.*, « Hepatitis E virus (HEV)-specific T-cell responses are associated with control of HEV infection », *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 55, n° 3, p. 695-708, mars 2012.

[160] N. Kamar *et al.*, « Hepatitis E Virus and Neurologic Disorders », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 2, p. 173-179, févr. 2011.

[161] N. Kamar *et al.*, « Hepatitis E virus-induced neurological symptoms in a kidney-transplant patient with chronic hepatitis », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 10, n° 5, p. 1321-1324, mai 2010.

[162] K. L. Woolson *et al.*, « Extra-hepatic manifestations of autochthonous hepatitis E infection », *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 40, n° 11-12, p. 1282-1291, déc. 2014.

[163] H. R. Dalton *et al.*, « Hepatitis E virus and neurological injury », *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 12, n° 2, p. 77-85, févr. 2016.

[164] J. Inoue *et al.*, « Analysis of the full-length genome of genotype 4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E », *J. Med. Virol.*, vol. 78, n° 4, p. 476-484, avr. 2006.

[165] A. Jebblaoui, S. Haim-Boukobza, E. Marchadier, C. Mokhtari, et A.-M. Roque-Afonso,

- « Genotype 4 Hepatitis E Virus in France: An Autochthonous Infection With a More Severe Presentation », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 57, n° 4, p. e122-e126, août 2013.
- [166] A. Servant-Delmas *et al.*, « New insights into the natural history of hepatitis E virus infection through a longitudinal study of multitransfused immunocompetent patients in France », *J. Viral Hepat.*, vol. 23, n° 7, p. 569-575, juill. 2016.
- [167] P. le Coutre *et al.*, « Reactivation of hepatitis E infection in a patient with acute lymphoblastic leukaemia after allogeneic stem cell transplantation », *Gut*, vol. 58, n° 5, p. 699-702, mai 2009.
- [168] P. Chalupa et M. Holub, « Jaundice complicated by an atypical form of Guillain-Barré syndrome », *J. Clin. Virol.*, vol. 49, n° 4, p. 229-230, déc. 2010.
- [169] V. C. Maddukuri *et al.*, « Chronic Hepatitis E with Neurologic Manifestations and Rapid Progression of Liver Fibrosis in a Liver Transplant Recipient », *Dig. Dis. Sci.*, vol. 58, n° 8, p. 2413-2416, août 2013.
- [170] B. van den Berg *et al.*, « Guillain-Barré syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection », *Neurology*, vol. 82, n° 6, p. 491-497, févr. 2014.
- [171] F. L.-A. et Al, « Hepatitis E Virus Genotype 3 Diversity, France - Volume 15, Number 1—January 2009 - Emerging Infectious Disease journal - CDC ».
- [172] P. Shukla *et al.*, « Adaptation of a Genotype 3 Hepatitis E Virus to Efficient Growth in Cell Culture Depends on an Inserted Human Gene Segment Acquired by Recombination », *J. Virol.*, vol. 86, n° 10, p. 5697-5707, mai 2012.
- [173] P. Colson *et al.*, « Severe Thrombocytopenia Associated with Acute Hepatitis E Virus Infection », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 46, n° 7, p. 2450-2452, juill. 2008.
- [174] « Hepatitis E associated immune thrombocytopaenia and membranous glomerulonephritis ».
- [175] R. Thapa, D. Mallick, et A. Ghosh, « Childhood hepatitis E infection complicated by acute immune thrombocytopenia », *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, vol. 31, n° 2, p. 151, févr. 2009.
- [176] N. K. Singh et M. Gangappa, « Acute immune thrombocytopenia associated with hepatitis E in an adult », *Am. J. Hematol.*, vol. 82, n° 10, p. 942-943, oct. 2007.
- [177] E. Fourquet *et al.*, « Severe thrombocytopenia associated with acute autochthonous hepatitis E », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 48, n° 1, p. 73-74, mai 2010.
- [178] W. Y. Au, C.-W. Ngai, W.-M. Chan, R. Y. Y. Leung, et S.-C. Chan, « Hemolysis and methemoglobinemia due to hepatitis E virus infection in patient with G6PD deficiency », *Ann.*

Hematol., vol. 90, n° 10, p. 1237-1238, oct. 2011.

[179] A. K. Jain, S. Sircar, M. Jain, S. Adkar, C. Waghmare, et F. Chahwala, « Increased morbidity in acute viral hepatitis with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency », *Indian J. Gastroenterol. Off. J. Indian Soc. Gastroenterol.*, vol. 32, n° 2, p. 133-134, mars 2013.

[180] S. Abid et A. H. Khan, « Severe hemolysis and renal failure in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patients with hepatitis E », *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 97, n° 6, p. 1544-1547, juin 2002.

[181] S. A. R. Shah *et al.*, « Hepatitis E virus-associated aplastic anaemia: the first case of its kind », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 54, n° 1, p. 96-97, mai 2012.

[182] B. Rauff *et al.*, « Hepatitis Associated Aplastic Anemia: A review », *Virol. J.*, vol. 8, p. 87, févr. 2011.

[183] S. Bhagat, M. Wadhawan, R. Sud, et A. Arora, « Hepatitis viruses causing pancreatitis and hepatitis: a case series and review of literature », *Pancreas*, vol. 36, n° 4, p. 424-427, mai 2008.

[184] A. Thakur et P. P. Basu, « Acute pancreatitis: An unusual presentation of acute viral hepatitis E », *J. Assoc. Physicians India*, vol. 64, n° 1, p. 103, janv. 2016.

[185] P. Jain, S. Nijhawan, R. R. Rai, S. Nepalia, et A. Mathur, « Acute pancreatitis in acute viral hepatitis », *World J. Gastroenterol. WJG*, vol. 13, n° 43, p. 5741-5744, nov. 2007.

[186] J. Jaroszewicz, R. Flisiak, A. Kalinowska, I. Wierzbicka, et D. Prokopowicz, « Acute hepatitis E complicated by acute pancreatitis: a case report and literature review », *Pancreas*, vol. 30, n° 4, p. 382-384, mai 2005.

[187] C. Deniel, T. Coton, S. Brardjanian, M. Guisset, E. Nicand, et F. Simon, « Acute pancreatitis: a rare complication of acute hepatitis E », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 51, n° 3, p. 202-204, juill. 2011.

[188] I. Al-Shukri *et al.*, « Rash and arthralgia caused by hepatitis E », *The Lancet*, vol. 382, n° 9907, p. 1856, nov. 2013.

[189] R. Thapa, B. Biswas, et D. Mallick, « Henoch-Schönlein Purpura Triggered by Acute Hepatitis E Virus Infection », *J. Emerg. Med.*, vol. 39, n° 2, p. 218-219, août 2010.

[190] S. Pischke, P. Behrendt, M. P. Manns, et H. Wedemeyer, « HEV-associated cryoglobulinaemia and extrahepatic manifestations of hepatitis E », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 14, n° 8, p. 678-679, août 2014.

[191] N. Kamar *et al.*, « Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients », *Transplantation*, vol. 93, n° 6, p. 617-623, mars 2012.

[192] N. Kamar *et al.*, « Ribavirin for Chronic Hepatitis E Virus Infection in Transplant

Recipients », *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, n° 12, p. 1111-1120, mars 2014.

[193] A. A. van der Eijk, S. D. Pas, et R. A. de Man, « Hepatitis E virus: A potential threat for patients with liver disease and liver transplantation », *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, vol. 31, n° 2, p. 143-150, avr. 2017.

[194] R. Gerolami, P. Borentain, F. Raissouni, A. Motte, C. Solas, et P. Colson, « Treatment of severe acute hepatitis E by ribavirin », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 52, n° 1, p. 60-62, sept. 2011.

[195] J. M. Péron *et al.*, « Treatment of autochthonous acute hepatitis E with short-term ribavirin: a multicenter retrospective study », *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver*, vol. 36, n° 3, p. 328-333, mars 2016.

[196] F.-C. Zhu *et al.*, « Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 376, n° 9744, p. 895-902, sept. 2010.

[197] S. W. Li *et al.*, « A bacterially expressed particulate hepatitis E vaccine: antigenicity, immunogenicity and protectivity on primates », *Vaccine*, vol. 23, n° 22, p. 2893-2901, avr. 2005.

[198] S. Huang *et al.*, « Profile of Acute Infectious Markers in Sporadic Hepatitis E », *PLoS ONE*, vol. 5, n° 10, oct. 2010.

[199] Y.-Y. Su *et al.*, « Persistence of antibodies acquired by natural hepatitis E virus infection and effects of vaccination », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 23, n° 5, p. 336.e1-336.e4, mai 2017.

[200] J. Zhang *et al.*, « Protection against hepatitis E virus infection by naturally acquired and vaccine-induced immunity », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 20, n° 6, p. O397-405, juin 2014.

[201] J. Zhang, S.-W. Li, T. Wu, Q. Zhao, M.-H. Ng, et N.-S. Xia, « Hepatitis E virus: neutralizing sites, diagnosis, and protective immunity », *Rev. Med. Virol.*, vol. 22, n° 5, p. 339-349, sept. 2012.

[202] R. Bendall, V. Ellis, S. Ijaz, R. Ali, et H. Dalton, « A comparison of two commercially available anti-HEV IgG kits and a re-evaluation of anti-HEV IgG seroprevalence data in developed countries », *J. Med. Virol.*, vol. 82, n° 5, p. 799-805, mai 2010.

[203] M. P. Shrestha *et al.*, « Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine », *N. Engl. J. Med.*, vol. 356, n° 9, p. 895-903, mars 2007.

[204] P. Gallian *et al.*, « [Hepatitis E virus: Blood transfusion implications] », *Transfus. Clin. Biol. J. Soc. Francaise Transfus. Sang.*, vol. 21, n° 4-5, p. 173-177, nov. 2014.

- [205] S. A. Baylis, K.-M. Hanschmann, J. Blümel, C. M. Nübling, et HEV Collaborative Study Group, « Standardization of hepatitis E virus (HEV) nucleic acid amplification technique-based assays: an initial study to evaluate a panel of HEV strains and investigate laboratory performance », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 49, n° 4, p. 1234-1239, avr. 2011.
- [206] J.-M. Mansuy *et al.*, « Hepatitis E Virus Antibodies in Blood Donors, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 12, p. 2309-2312, déc. 2011.
- [207] R. Aggarwal, « The global prevalence of hepatitis E virus infection and susceptibility: a systematic review. », World Health Organization Department of Immunization, Vaccines and Biologicals, WHO/IVB/10.14, déc. 2010.
- [208] R. Aggarwal, « A systematic review on hepatitis E virus globally », World Health Organization Department of Immunization, Vaccines and Biologicals, 2014.
- [209] C. Xu *et al.*, « An Assessment of Hepatitis E Virus in US Blood Donors and Recipients: No Detectable HEV RNA in 1939 Donors Tested and No Evidence For HEV Transmission to 362 Prospectively Followed Recipients », *Transfusion (Paris)*, vol. 53, n° 10 0 2, p. 2505-2511, oct. 2013.
- [210] S. Sarkar *et al.*, « An Epidemiologic Investigation of a Case of Acute Hepatitis E », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 53, n° 11, p. 3547-3552, nov. 2015.
- [211] M. A. Fearon *et al.*, « Hepatitis E in Canadian blood donors », *Transfusion (Paris)*, vol. 57, n° 6, p. 1420-1425, juin 2017.
- [212] M. S. Munné *et al.*, « Updating the knowledge of hepatitis E: new variants and higher prevalence of anti-HEV in Argentina », *Ann. Hepatol.*, vol. 13, n° 5, p. 496-502, oct. 2014.
- [213] N. Covarrubías, C. Hurtado, A. Díaz, G. Mezzano, J. Brahm, et M. Venegas, « [Hepatitis E virus seroprevalence: a reappraisal] », *Rev. Chil. Infectologia Organo Of. Soc. Chil. Infectologia*, vol. 32, n° 4, p. 482-484, août 2015.
- [214] N. Houcine *et al.*, « Seroprevalence of hepatitis E virus infection in rural and urban populations, Tunisia », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 5, p. E119-121, mai 2012.
- [215] A. Meseret, « Seroprevalence and Risk Factors of Hepatitis E Virus Infection among Pregnant Women in Selected Health Facilities of Addis Ababa, Ethiopia », Thesis, AAU, 2015.
- [216] R. G. Madden *et al.*, « Hepatitis E virus: Western Cape, South Africa », *World J. Gastroenterol.*, vol. 22, n° 44, p. 9853-9859, nov. 2016.
- [217] K. A. Traoré *et al.*, « Hepatitis E Virus Prevalence among Blood Donors, Ouagadougou, Burkina Faso », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 22, n° 4, p. 755-757, avr. 2016.
- [218] T. E. Taha *et al.*, « Seroprevalence for Hepatitis E and Other Viral Hepatitides among

- Diverse Populations, Malawi », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 21, n° 7, p. 1174-1182, juill. 2015.
- [219] F. Ren *et al.*, « Hepatitis E virus seroprevalence and molecular study among blood donors in China », *Transfusion (Paris)*, vol. 54, n° 3 Pt 2, p. 910-917, mars 2014.
- [220] H. Yamada *et al.*, « Hepatitis E Virus in Cambodia: Prevalence among the General Population and Complete Genome Sequence of Genotype 4 », *PLOS ONE*, vol. 10, n° 8, p. e0136903, août 2015.
- [221] J. Izopet *et al.*, « Hepatitis E virus seroprevalence in three hyperendemic areas: Nepal, Bangladesh and southwest France », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 70, p. 39-42, sept. 2015.
- [222] F. Farshadpour, R. Taherkhani, et M. Makvandi, « Prevalence of Hepatitis E Virus among Adults in South-West of Iran », *Hepat. Res. Treat.*, vol. 2015, p. e759589, juin 2015.
- [223] K. Hesamizadeh *et al.*, « Hepatitis A Virus and Hepatitis E Virus Seroprevalence Among Blood Donors in Tehran, Iran », *Hepat. Mon.*, vol. 16, n° 1, p. e32215, janv. 2016.
- [224] A. C. Shrestha *et al.*, « Hepatitis E virus seroepidemiology: a post-earthquake study among blood donors in Nepal », *BMC Infect. Dis.*, vol. 16, nov. 2016.
- [225] G. K. Nasrallah *et al.*, « Seroprevalence of hepatitis E virus among blood donors in Qatar (2013-2016) », *Transfusion (Paris)*, vol. 57, n° 7, p. 1801-1807, juill. 2017.
- [226] V. Němeček *et al.*, « [The prevalence of antibodies against Hepatitis E Virus in the Czech Republic: serological survey] », *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. Cas. Společnosti Epidemiol. Mikrobiol. Ceske Lek. Společnosti JE Purkyne*, vol. 66, n° 1, p. 3-7, 2017.
- [227] P. Clemente-Casares, C. Ramos-Romero, E. Ramirez-Gonzalez, et A. Mas, « Hepatitis E Virus in Industrialized Countries: The Silent Threat », *BioMed Res. Int.*, vol. 2016, p. e9838041, déc. 2016.
- [228] J. M. Echevarría, M. Fogeda, et A. Avellón, « [Epidemiology of hepatitis E virus infection in Spain] », *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 33, n° 4, p. 281-286, avr. 2015.
- [229] J.-M. Echevarría, « Autochthonous Hepatitis E Virus Infection in Europe: A Matter of Concern for Public Health? », *J. Clin. Transl. Hepatol.*, vol. 2, n° 1, p. 7-14, mars 2014.
- [230] C. Lucarelli *et al.*, « High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies among blood donors in central Italy, February to March 2014 », *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 21, n° 30, juill. 2016.
- [231] C. Hickey *et al.*, « Hepatitis E Virus (HEV) Infection in Ireland », *Ir. Med. J.*, vol. 109, n° 8, p. 451, sept. 2016.
- [232] L. Verhoef, M. Koopmans, E. Duizer, J. Bakker, J. Reimerink, et W. V. Pelt, « Seroprevalence of hepatitis E antibodies and risk profile of HEV seropositivity in The Netherlands, 2006-2007 », *Epidemiol. Amp Infect.*, vol. 140, n° 10, p. 1838-1847, oct. 2012.

- [233] H. Lagler *et al.*, « Hepatitis E Virus Seroprevalence in Austrian Adults: A Nationwide Cross-Sectional Study among Civilians and Military Professionals », *PLOS ONE*, vol. 9, n° 2, p. e87669, févr 2014.
- [234] C. Fischer, M. Hofmann, M. Danzer, K. Hofer, J. Kaar, et C. Gabriel, « Seroprevalence and Incidence of hepatitis E in Blood Donors in Upper Austria », *PLoS ONE*, vol. 10, n° 3, mars 2015.
- [235] « Anti-HEV seroprevalence in the area of Lecce ».
- [236] G. Scotto, A. Giammario, M. Centra, F. Vittorio, D. Martinelli, et V. Fazio, « Seroprevalence of hepatitis E virus among blood donors in a district of Southern Italy », *Blood Transfus.*, vol. 10, n° 4, p. 565-566, oct. 2012.
- [237] M. Zuin *et al.*, « Seroepidemiology of HEV and HAV in two populations with different socio-economic levels and hygienic/sanitary conditions », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 36, n° 3, p. 479-485, mars 2017.
- [238] L. De Sabato, I. Di Bartolo, E. Montomoli, C. Trombetta, F. M. Ruggeri, et F. Ostanello, « Retrospective Study Evaluating Seroprevalence of Hepatitis E Virus in Blood Donors and in Swine Veterinarians in Italy (2004) », *Zoonoses Public Health*, déc. 2016.
- [239] S. Lanini *et al.*, « Epidemiology of HEV in the Mediterranean basin: 10-year prevalence in Italy », *BMJ Open*, vol. 5, n° 7, juill. 2015.
- [240] C. Puttini *et al.*, « Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in blood donors and renal transplant recipients: a retrospective study from central Italy », *Infez. Med. Riv. Period. Eziologia Epidemiol. Diagn. Clin. E Ter. Delle Patol. Infett.*, vol. 23, n° 3, p. 253-256, sept. 2015.
- [241] M. Rapicetta *et al.*, « Seroprevalence and anti-HEV persistence in the general population of the Republic of San Marino », *J. Med. Virol.*, vol. 58, n° 1, p. 49-53, mai 1999.
- [242] L. Queirós, J. Condeço, A. Tender, M. Mateus, A. Teixeira, et H. Pascoal, « [The seroprevalence for hepatitis E viral antibodies in the northern region of Portugal (among the donor population)] », *Acta Med. Port.*, vol. 10, n° 6-7, p. 447-453, juill. 1997.
- [243] J. R. Mesquita, N. Conceição-Neto, G. Valente-Gomes, G. Gonçalves, et M. S. J. Nascimento, « Antibodies to hepatitis E in Portuguese mothers and their newborns », *J. Med. Virol.*, vol. 85, n° 8, p. 1377-1378, août 2013.
- [244] J. Hartl *et al.*, « Hepatitis E Seroprevalence in Europe: A Meta-Analysis », *Viruses*, vol. 8, n° 8, août 2016.
- [245] B. Olsen, D. Axelsson-Olsson, A. Thelin, et O. Weiland, « Unexpected high prevalence of IgG-antibodies to hepatitis E virus in Swedish pig farmers and controls », *Scand. J. Infect. Dis.*, vol. 38, n° 1, p. 55-58, 2006.

- [246] M. Bura, M. Łagiedo, M. Michalak, J. Sikora, et I. Mozer-Lisewska, « Hepatitis E virus IgG seroprevalence in HIV patients and blood donors, west-central Poland », *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.*, vol. 61, p. 20-22, août 2017.
- [247] T. Kantala, P. M. Kinnunen, S. Oristo, P. Jokelainen, O. Vapalahti, et L. Maunula, « Hepatitis E Virus Antibodies in Finnish Veterinarians », *Zoonoses Public Health*, vol. 64, n° 3, p. 232-238, mai 2017.
- [248] T. Petrović *et al.*, « Prevalence of hepatitis E virus (HEV) antibodies in Serbian blood donors », *J. Infect. Dev. Ctries.*, vol. 8, n° 10, p. 1322-1327, oct. 2014.
- [249] T. Vilibic-Cavlek *et al.*, « Seroepidemiology of Hepatitis E in Selected Population Groups in Croatia: A Prospective Pilot Study », *Zoonoses Public Health*, vol. 63, n° 6, p. 494-502, sept. 2016.
- [250] L. Moaven, M. Van Asten, N. Crofts, et S. A. Locarnini, « Seroepidemiology of hepatitis E in selected Australian populations », *J. Med. Virol.*, vol. 45, n° 3, p. 326-330, mars 1995.
- [251] A. C. S. et Al, « Hepatitis E Virus and Implications for Blood Supply Safety, Australia - Volume 20, Number 11—November 2014 - Emerging Infectious Disease journal - CDC ».
- [252] H. R. Dalton *et al.*, « Hepatitis E in new zealand », *J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 22, n° 8, p. 1236-1240, août 2007.
- [253] O. Bauduceau, A. Berlioz, et Y. Buisson, « [Hepatitis B, C, and E in New Caledonia. Seroepidemiologic study in military recruits] », *Med. Trop. Rev. Corps Sante Colon.*, vol. 60, n° 2, p. 167-170, 2000.
- [254] J. S. H. et Al, « Hepatitis E Virus Infection, Papua New Guinea, Fiji, and Kiribati, 2003–2005 - Volume 20, Number 6—June 2014 - Emerging Infectious Disease journal - CDC ».
- [255] E. Slot, B. M. Hogema, A. Riezebos-Brilman, T. M. Kok, M. Molier, et H. L. Zaaijer, « Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012 », *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 18, n° 31, août 2013.
- [256] M. P. Busch *et al.*, « Virus and antibody dynamics in acute west nile virus infection », *J. Infect. Dis.*, vol. 198, n° 7, p. 984-993, oct. 2008.
- [257] B. Said *et al.*, « Hepatitis E Outbreak on Cruise Ship », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 15, n° 11, p. 1738-1744, nov. 2009.
- [258] A. C. Shrestha *et al.*, « Hepatitis E virus RNA in Australian blood donations », *Transfusion (Paris)*, vol. 56, n° 12, p. 3086-3093, déc. 2016.
- [259] S. A. Baylis, T. Gärtner, S. Nick, J. Ovemyr, et J. Blümel, « Occurrence of hepatitis E virus RNA in plasma donations from Sweden, Germany and the United States », *Vox Sang.*, vol. 103, n° 1, p. 89-90, juill. 2012.

- [260] V. M. Corman, J. F. Drexler, I. Eckerle, W. K. Roth, C. Drosten, et A. M. Eis-Hübinger, « Zoonotic hepatitis E virus strains in German blood donors », *Vox Sang.*, vol. 104, n° 2, p. 179-180, févr. 2013.
- [261] S. Sauleda *et al.*, « Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) and detection of HEV RNA with a transcription-mediated amplification assay in blood donors from Catalonia (Spain) », *Transfusion (Paris)*, vol. 55, n° 5, p. 972-979, mai 2015.
- [262] P. E. Hewitt *et al.*, « Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 384, n° 9956, p. 1766-1773, nov. 2014.
- [263] D. Domanović *et al.*, « Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: a shift to screening? », *Eurosurveillance*, vol. 22, n° 16, avr. 2017.
- [264] L. H. Harritshøj *et al.*, « Low transfusion transmission of hepatitis E among 25,637 single-donation, nucleic acid-tested blood donors », *Transfusion (Paris)*, vol. 56, n° 9, p. 2225-2232, sept. 2016.
- [265] P. Gallian *et al.*, « Hepatitis E virus infections in blood donors, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 20, n° 11, p. 1914-1917, nov. 2014.
- [266] P. Gallian *et al.*, « Comparison of hepatitis E virus nucleic acid test screening platforms and RNA prevalence in French blood donors », *Transfusion (Paris)*, vol. 57, n° 1, p. 223-224, janv. 2017.
- [267] B. M. Hogema *et al.*, « Incidence and duration of hepatitis E virus infection in Dutch blood donors », *Transfusion (Paris)*, vol. 56, n° 3, p. 722-728, mars 2016.
- [268] C. Adlhoch, M. Kaiser, G. Pauli, J. Koch, et H. Meisel, « Indigenous hepatitis E virus infection of a plasma donor in Germany », *Vox Sang.*, vol. 97, n° 4, p. 303-308, nov. 2009.
- [269] T. Vollmer, J. Diekmann, R. Johne, M. Eberhardt, C. Knabbe, et J. Dreier, « Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 50, n° 8, p. 2708-2713, août 2012.
- [270] T. Minagi *et al.*, « Hepatitis E virus in donor plasma collected in Japan », *Vox Sang.*, vol. 111, n° 3, p. 242-246, oct. 2016.
- [271] J. O’Riordan *et al.*, « Hepatitis E virus infection in the Irish blood donor population », *Transfusion (Paris)*, vol. 56, n° 11, p. 2868-2876, nov. 2016.
- [272] T. Vollmer, J. Diekmann, M. Eberhardt, C. Knabbe, et J. Dreier, « Hepatitis E in blood donors: investigation of the natural course of asymptomatic infection, Germany, 2011 », *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 21, n° 35, sept. 2016.
- [273] R. S. Tedder *et al.*, « Hepatitis E risks: pigs or blood-that is the question », *Transfusion*

(Paris), vol. 57, n° 2, p. 267-272, févr. 2017.

[274] H. Sakata *et al.*, « A nationwide survey for hepatitis E virus prevalence in Japanese blood donors with elevated alanine aminotransferase », *Transfusion (Paris)*, vol. 48, n° 12, p. 2568-2576, déc. 2008.

[275] M. Wang *et al.*, « The association of elevated alanine aminotransferase levels with hepatitis E virus infections among blood donors in China », *Transfusion (Paris)*, vol. 57, n° 2, p. 273-279, févr. 2017.

[276] A. Boutrouille, L. Bakkali-Kassimi, C. Crucière, et N. Pavio, « Prevalence of Anti-Hepatitis E Virus Antibodies in French Blood Donors », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 45, n° 6, p. 2009-2010, juin 2007.

[277] J. M. Mansuy *et al.*, « A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors », *Hepatology. Baltim. Md.*, vol. 63, n° 4, p. 1145-1154, avr. 2016.

[278] J. M. Mansuy *et al.*, « High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France », *J. Med. Virol.*, vol. 80, n° 2, p. 289-293, févr. 2008.

[279] V. A. Arankalle et L. P. Chobe, « Retrospective analysis of blood transfusion recipients: evidence for post-transfusion hepatitis E », *Vox Sang.*, vol. 79, n° 2, p. 72-74, 2000.

[280] K. Matsubayashi *et al.*, « Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan », *Transfusion (Paris)*, vol. 44, n° 6, p. 934-940, juin 2004.

[281] E. Boxall *et al.*, « Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country », *Transfus. Med.*, vol. 16, n° 2, p. 79-83, avr. 2006.

[282] K. Fuse *et al.*, « Late Onset Post-Transfusion Hepatitis E Developing during Chemotherapy for Acute Promyelocytic Leukemia », *Intern. Med.*, vol. 54, n° 6, p. 657-661, 2015.

[283] Veronica C Hoad, Tristan Gibbs, Madhur Ravikumara, Monica Nash, Avram Levy, Samantha L Tracy, Catherine Mews, Zofia Perkowska-Guse, Helen M Faddy, Scott Bowden, « First confirmed case of transfusion-transmitted hepatitis E in Australia - doctorportal | doctorportal ».

[284] A. Tamura *et al.*, « Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma », *Hepatology. Res.*, vol. 37, n° 2, p. 113-120, févr. 2007.

[285] Y. Kimura *et al.*, « Transfusion-transmitted hepatitis E in a patient with myelodysplastic syndromes », *Blood Transfus.*, vol. 12, n° 1, p. 103-106, janv. 2014.

[286] M. Riveiro-Barciela *et al.*, « Red blood cell transfusion-transmitted acute hepatitis E in

- an immunocompetent subject in Europe: a case report », *Transfusion (Paris)*, vol. 57, n° 2, p. 244-247, févr. 2017.
- [287] K. Matsubayashi *et al.*, « A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route », *Transfusion (Paris)*, vol. 48, n° 7, p. 1368-1375, juill. 2008.
- [288] T. Matsui *et al.*, « Rare case of transfusion-transmitted hepatitis E from the blood of a donor infected with the hepatitis E virus genotype 3 indigenous to Japan: Viral dynamics from onset to recovery », *Hepatology Res.*, vol. 45, n° 6, p. 698-704, juin 2015.
- [289] « Introduction of Hepatitis E Virus (HEV) NAT for Human plasma (pooled and treated for virus inactivation) - 1646 », *Eur. Pharmacopoeia*.
- [290] L. Hauser *et al.*, « Hepatitis E transmission by transfusion of Intercept blood system-treated plasma », *Blood*, vol. 123, n° 5, p. 796-797, janv. 2014.
- [291] V. Mallet, R. Sberro-Soussan, A. Vallet-Pichard, A.-M. Roque-Afonso, et S. Pol, « Transmission of Hepatitis E Virus by Plasma Exchange: A Case Report », *Ann. Intern. Med.*, vol. 164, n° 12, p. 851-852, juin 2016.
- [292] P. Colson, C. Coze, P. Gallian, M. Henry, P. De Micco, et C. Tamalet, « Transfusion-associated Hepatitis E, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 13, n° 4, p. 648-649, avr. 2007.
- [293] S. Haïm-Boukobza *et al.*, « Transfusion-transmitted hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug-induced toxicity », *J. Hepatology*, vol. 57, n° 6, p. 1374-1378, déc. 2012.
- [294] E. Loyrion, T. Trouve-Buisson, P. Pouzol, S. Larrat, T. Decaens, et J.-F. Payen, « Hepatitis E Virus Infection after Platelet Transfusion in an Immunocompetent Trauma Patient », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 23, n° 1, p. 146-147, janv. 2017.
- [295] S. Lhomme, L. Bardiaux, F. Abravanel, P. Gallian, N. Kamar, et J. Izopet, « Hepatitis E Virus Infection in Solid Organ Transplant Recipients, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 23, n° 2, p. 353-356, févr. 2017.
- [296] W. Cai *et al.*, « A high-throughput neutralizing assay for antibodies and sera against hepatitis E virus », *Sci. Rep.*, vol. 6, avr. 2016.
- [297] T. Vollmer, J. Diekmann, M. Eberhardt, C. Knabbe, et J. Dreier, « Monitoring of Anti-Hepatitis E Virus Antibody Seroconversion in Asymptomatically Infected Blood Donors: Systematic Comparison of Nine Commercial Anti-HEV IgM and IgG Assays », *Viruses*, vol. 8, n° 8, août 2016.
- [298] E. T. Clayson *et al.*, « Viremia, Fecal Shedding, and IgM and IgG Responses in Patients with Hepatitis E », *J. Infect. Dis.*, vol. 172, n° 4, p. 927-933, 1995.

- [299] J. M. Mansuy, J. M. Peron, C. Bureau, L. Alric, J. P. Vinel, et J. Izopet, « Immunologically Silent Autochthonous Acute Hepatitis E Virus Infection in France », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, n° 2, p. 912-913, févr. 2004.
- [300] A. Rivero-Juarez *et al.*, « Absence of occult Hepatitis E virus infection among HIV immunosuppressed patients », *J. Infect.*, vol. 70, n° 6, p. 680-683, juin 2015.
- [301] S. A. Baylis, C. Crossan, V. M. Corman, J. Blümel, L. Scobie, et H. R. Dalton, « Unusual serological response to hepatitis E virus in plasma donors consistent with re-infection », *Vox Sang.*, vol. 109, n° 4, p. 406-409, nov. 2015.
- [302] A. Rivero-Juarez *et al.*, « Hepatitis E Virus (HEV) Infection in Anti-HEV Immunoglobulin G-Carrying Patients After Successful Hepatitis C Virus Treatment: Reactivation or Reinfection? », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 64, n° 7, p. 964-966, avr. 2017.
- [303] M. Schemmerer, C. Rauh, W. Jilg, et J. J. Wenzel, « Time course of hepatitis E-specific antibodies in adults », *J. Viral Hepat.*, vol. 24, n° 1, p. 75-79, janv. 2017.
- [304] R. S. Tedder *et al.*, « Virology, serology, and demography of hepatitis E viremic blood donors in South East England », *Transfusion (Paris)*, vol. 56, n° 6 Pt 2, p. 1529-1536, juin 2016.

Annexes

Annexe 1 : résultats bruts des sérologies

Donneur	Date don	IgM	IgG	
			Interprétation	UI/mL
1	05/05/2010	NEG	NEG	0,00
	23/05/2012	NEG	NEG	0,00
	28/05/2014	NEG	NEG	0,00
	29/06/2014	NEG	POS	10,63
	09/12/2014	NEG	POS	18,12
	18/03/2015	NEG	POS	13,26
	17/06/2015	NEG	POS	12,12
2	17/02/2010	NEG	NEG	0,00
	17/10/2011	NEG	NEG	0,00
	18/03/2013	NEG	NEG	0,00
	02/04/2013	POS	POS	828,44
	17/04/2013	POS	POS	590,65
	02/05/2013	POS	POS	639,93
	17/05/2013	POS	POS	314,65
	01/06/2013	POS	POS	321,52
	17/06/2013	POS	POS	440,48
	15/07/2013	POS	POS	211,64
	08/08/2013	POS	POS	209,92
	04/09/2013	POS	POS	203,74
	19/09/2013	POS	POS	180,93
	04/10/2013	POS	POS	169,24
	25/10/2013	POS	POS	163,28
	08/11/2013	POS	POS	160,65
	22/11/2013	NEG	POS	131,65
	06/12/2013	NEG	POS	120,99
	20/12/2013	NEG	POS	109,99
	03/01/2014	NEG	POS	90,28
	17/01/2014	NEG	POS	85,58
	31/01/2014	NEG	POS	74,93
	14/02/2014	NEG	POS	67,48
	28/02/2014	NEG	POS	62,66
	14/03/2014	NEG	POS	52,69
	28/03/2014	NEG	POS	51,32
	27/06/2014	NEG	POS	36,88
	07/10/2014	NEG	POS	24,04
	14/01/2015	NEG	POS	15,45
	20/03/2015	NEG	POS	13,17
	20/06/2015	NEG	POS	12,12

3	11/06/2010	NEG	NEG	0,00
	10/10/2011	NEG	NEG	0,00
	17/09/2012	NEG	NEG	0,00
	02/08/2013	NEG	POS	3,04
	20/12/2013	NEG	POS	2,02
	25/07/2014	NEG	POS	1,25
	22/09/2014	NEG	POS	1,43
	24/10/2014	NEG	POS	1,13

4	11/10/2010	NEG	NEG	0,00
	16/09/2011	NEG	NEG	0,00
	05/10/2012	NEG	NEG	0,00
	11/07/2014	NEG	NEG	0,03
	16/01/2015	NEG	NEG	0,00
	27/03/2015	NEG	NEG	0,02
	18/09/2015	NEG	NEG	0,01

5	08/02/2010	NEG	NEG	0,00
	08/03/2010	NEG	NEG	0,00
	21/03/2011	NEG	NEG	0,00
	30/10/2012	NEG	NEG	0,00
	26/12/2012	POS	POS	1,74
	29/01/2013	POS	POS	0,94
	26/02/2013	POS	POS	2,73
	10/04/2013	POS	POS	1,47
	10/05/2013	POS	POS	1,38
	18/06/2013	POS	POS	1,54
	16/07/2013	POS	POS	1,35
	13/08/2013	POS	POS	1,22
	25/11/2013	POS	POS	0,95
	17/02/2014	POS	POS	0,35
	12/05/2014	POS	POS	0,42
	23/06/2014	POS	POS	0,36

6	06/09/2010	NEG	NEG	0,00
	17/09/2012	NEG	NEG	0,00
	03/11/2014	NEG	NEG	0,00
	01/12/2014	POS	POS	9,57
	15/12/2014	POS	POS	16,59

7	21/02/2010	NEG	NEG	0,00
	19/11/2012	NEG	NEG	0,00
	04/12/2014	NEG	NEG	0,00
	18/12/2014	NEG	NEG	0,00
	08/01/2015	POS	POS	1,16
	27/01/2015	POS	POS	1,74

8	22/02/2010	NEG	NEG	0,00
	14/03/2011	NEG	NEG	0,00
	12/11/2012	POS	NEG	0,00
	17/12/2012	POS	POS	1,77
	07/01/2013	POS	POS	1,85
	04/02/2013	POS	POS	2,10
	25/02/2013	POS	POS	1,79
	18/03/2013	DTX	POS	1,55
	09/04/2013	NEG	POS	1,53
	29/04/2013	NEG	POS	1,54
	21/05/2013	POS	POS	1,08
	10/06/2013	POS	POS	0,68
	22/07/2013	DTX	POS	1,06
	05/09/2013	DTX	POS	1,69
	28/10/2013	NEG	POS	2,19
	12/11/2013	NEG	POS	4,21
	24/02/2014	NEG	POS	2,11
	02/06/2014	NEG	POS	1,97
	19/09/2014	NEG	POS	1,46
	15/12/2014	NEG	POS	1,46
	16/03/2015	NEG	POS	1,05
	07/12/2015	NEG	POS	1,12
	27/06/2016	NEG	POS	0,75

9	07/06/2010	NEG	NEG	0,00
	05/07/2012	NEG	NEG	0,00
	29/01/2013	NEG	NEG	0,00
	26/03/2013	POS	POS	3,52
	18/04/2013	POS	POS	2,51
	20/06/2013	NEG	POS	3,83
	12/08/2013	NEG	POS	2,74
	10/09/2013	NEG	POS	3,73
	07/10/2013	NEG	POS	3,73
	21/11/2013	NEG	POS	3,56
	19/12/2013	NEG	POS	5,11
	06/02/2014	NEG	POS	4,99
	19/05/2014	NEG	POS	2,77

10	17/07/2010	NEG	NEG	0,00
	26/06/2012	NEG	NEG	0,00
	25/04/2014	NEG	POS	0,41
	03/09/2014	NEG	POS	14,69
	07/11/2014	NEG	POS	19,16

11	15/03/2010	NEG	NEG	0,00
	29/11/2011	NEG	NEG	0,00
	04/04/2013	NEG	NEG	0,00
	26/07/2013	NEG	POS	6,39
	05/12/2013	NEG	POS	2,15
	25/04/2014	NEG	POS	1,23
	11/08/2014	NEG	POS	0,81
	22/11/2014	NEG	POS	0,75
	04/07/2015	NEG	POS	0,96

12	10/05/2010	NEG	NEG	0,00
	15/10/2012	NEG	NEG	0,00
	19/01/2013	NEG	POS	8,36
	05/09/2013	NEG	POS	7,94
	25/04/2014	NEG	POS	4,54

13	05/02/2010	NEG	NEG	0,00
	17/06/2010	NEG	NEG	0,00
	29/09/2011	NEG	NEG	0,00
	30/08/2013	NEG	NEG	0,00
	12/09/2014	NEG	POS	1,56
	13/11/2014	NEG	POS	1,24
	06/02/2015	NEG	POS	0,96

14	30/12/2010	NEG	NEG	0,00
	20/09/2012	NEG	NEG	0,00
	23/07/2014	POS	NEG	0,00
	27/11/2014	NEG	POS	18,29
	16/02/2015	NEG	POS	15,86

15	22/03/2011	NEG	POS	0,15
	15/03/2012	NEG	POS	0,23
	11/10/2012	POS	POS	12,44
	26/10/2012	POS	POS	64,38
	17/01/2013	POS	POS	20,95
	14/02/2013	POS	POS	18,22
	14/03/2013	POS	POS	21,81
	16/05/2013	POS	POS	12,09
	04/06/2013	POS	POS	9,59

16	02/04/2010	NEG	NEG	0,00
	11/07/2011	NEG	NEG	0,00
	29/10/2012	NEG	NEG	0,00
	03/04/2013	NEG	POS	15,21
	17/06/2013	NEG	POS	15,04

17	25/02/2010	NEG	NEG	0,00
	16/12/2011	NEG	NEG	0,00
	29/11/2012	NEG	NEG	0,00
	21/12/2012	POS	POS	1,29
	04/01/2013	POS	POS	7,60
	07/03/2013	POS	POS	13,84
	03/05/2013	POS	POS	9,89
	07/06/2013	NEG	POS	11,92
	05/07/2013	NEG	POS	11,30

18	19/03/2010	NEG	NEG	0,00
	07/10/2011	NEG	NEG	0,00
	25/01/2013	NEG	NEG	0,00
	15/03/2013	POS	POS	10,78
	30/05/2013	POS	POS	4,93
	13/06/2013	NEG	POS	4,72
	05/07/2013	NEG	POS	3,63
	30/08/2013	NEG	POS	1,77
	20/09/2013	NEG	POS	2,04
	08/11/2013	NEG	POS	2,65
	12/12/2013	NEG	POS	2,35
	17/01/2014	NEG	POS	1,37
	04/04/2014	NEG	POS	0,95
	11/07/2014	NEG	POS	0,56
	03/10/2014	NEG	POS	0,43
	16/01/2015	NEG	POS	0,40

19	26/02/2010	NEG	NEG	0,00
	24/11/2011	NEG	NEG	0,00
	30/04/2013	NEG	NEG	0,00
	27/06/2013	POS	POS	20,65
	29/07/2013	POS	POS	23,70
	28/08/2013	POS	POS	27,71
	01/10/2013	POS	POS	30,58
	31/10/2013	POS	POS	37,80
	25/11/2013	POS	POS	42,95
	13/12/2013	POS	POS	46,62
	05/02/2014	POS	POS	43,75
	11/03/2014	POS	POS	46,16
	11/04/2014	POS	POS	38,83
	21/05/2014	POS	POS	57,74
	29/08/2014	NEG	POS	38,48
	19/12/2014	DTX	POS	46,50
	27/03/2015	NEG	POS	31,38

20	26/02/2010	NEG	NEG	0,00
	27/01/2012	NEG	NEG	0,00
	07/10/2013	NEG	NEG	0,00
	23/06/2014	NEG	POS	1,11
	05/09/2014	NEG	POS	0,73
	18/12/2014	NEG	POS	0,29

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.