

Epidémiologie du virus de l'hépatite E chez le porc : comment limiter l'exposition des consommateurs

Nicolas ROSE (1) et Nicole PAVIO (2)

(1) Unité Epidémiologie et bien-être du Porc, Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, BP 53, 22440 Ploufragan

(2) UMR Virologie 1161 Anses-INRA-ENVA, Laboratoire de Santé Animale, 23 Avenue du Général de Gaulle,
94706 Maisons-Alfort

nicolas.rose@anses.fr

Epidémiologie du virus de l'hépatite E chez le porc : comment limiter l'exposition des consommateurs

Le virus de l'hépatite E (VHE) est responsable d'une hépatite aiguë chez l'Homme, assez similaire à l'hépatite A mais en moyenne plus grave. Dans les pays industrialisés, les cas humains autochtones sont exclusivement liés aux génotypes 3 et 4. Ces deux génotypes peuvent infecter l'Homme et une grande variété d'animaux sauvages et domestiques dont le porc. En France, près de 300 cas cliniques non importés sont recensés chaque année par le Centre national de référence. Parmi ces cas, 39% seraient liés à la consommation de charcuteries crues ou peu cuites et préparées à partir de foie cru. Seule une cuisson à cœur à 71°C pendant au moins 20 min permet l'inactivation du virus.

La prévalence du VHE dans les élevages porcins est élevée (65% d'élevages séropositifs). En moyenne 4% des porcs abattus sont infectés par le VHE et ont encore du virus au niveau du foie. Les études phylogéniques montrent que les souches de VHE ne se séparent pas selon l'espèce d'origine et qu'un taux d'identité supérieur à 99% entre souches humaines et porcines sans proximité géographique peut être rencontré, suggérant une contamination par la voie alimentaire. En élevage porcine, une très forte variabilité de dynamique d'infection est observée, les infections tardives, se produisant peu de temps avant l'abattage, étant les plus à risque d'introduire des foies contaminés dans la chaîne alimentaire. La transmission de ce virus entérique entre porcs est fortement conditionnée par un réservoir environnemental, ce qui suggère la possibilité de limiter considérablement la prévalence de porcs infectés par des mesures d'hygiène, zootechniques et de biosécurité appropriées.

Epidemiology of Hepatitis E virus in pigs: the way forward to limit consumer exposure

Hepatitis E virus (HEV) is responsible for an acute hepatitis in humans similar to Hepatitis A with sometimes more severe consequences. In industrialized countries, autochthonous cases are exclusively due to genotypes 3 and 4. Both genotypes can infect human people and a large variety of wild and domestic animals including pigs. In France, almost 300 non imported cases are reported every year by the National Reference Center. Among those cases, 39% would result from consumption of raw or undercooked delicatessen prepared with raw pork liver. Only deep cooking at 71°C during at least 20 minutes can inactivate the virus.

HEV prevalence in pig farms is very high (65% of seropositive farms in France). On average, 4% of the slaughtered pigs are infected with HEV with remaining virus particles that can be recovered from the liver. Phylogenetic studies showed that HEV strains don't cluster according to host species and more than 99% identity between human and swine strains without geographical proximity have been shown, which suggests foodborne infections. In pig farms, a large variability in terms of dynamics of infection is observed, late infections occurring shortly before slaughter-time being more risky as regards HEV presence in liver. The transmission of this enteric virus between pigs is strongly influenced by an environmental reservoir, which suggests the possibility to reduce drastically the prevalence of infected pigs by appropriate hygienic, zootechnical and biosecurity measures.

INTRODUCTION

Le virus de l'hépatite E (VHE) est responsable d'épidémies d'hépatites aiguës à transmission entérique chez l'Homme, assez similaires à l'hépatite A mais généralement plus sévères (Emerson, Purcell, 2003). Bien que dans la plupart des cas l'hépatite guérisse spontanément, des cas mortels peuvent survenir (1 à 2 pourcent des cas). Le risque d'hépatite fulminante chez les femmes enceintes peut atteindre 25% même si de tels cas ont jusqu'ici été décrits uniquement dans les pays émergents (Smith, 2001). Des hépatites chroniques sont aussi de plus en plus fréquemment rapportées, et tout particulièrement chez les patients immunodéprimés (Bihl, Negro, 2009; Gerolami *et al.*, 2008; Kamar *et al.*, 2008). Le virus de l'hépatite E a été découvert au début des années 80 et sa responsabilité a été rétrospectivement établie en tant qu'agent étiologique d'épidémies d'hépatites aiguës survenues à la fin des années 70 dans des régions tropicales et subtropicales d'Afrique et d'Asie (Khuroo, 2011). Cependant, plus récemment, de nombreux cas sporadiques d'hépatite E, sans commémoratif de voyages en zone d'endémie, ont été rapportés dans des pays industrialisés. En France, le Centre national de référence des hépatites entéro-transmissibles décrit un accroissement important du nombre de cas humains d'hépatite E entre 2002 (9 cas, création du CNR) et 2011 (249 cas) (Nicand *et al.*, 2011; Roque-Afonso, 2011). Les cas ont été diagnostiqués dans toutes les régions métropolitaines mais majoritairement dans le sud. Plus de la moitié des cas autochtones proviennent des régions Midi-Pyrénées, Languedoc-Roussillon ou PACA (Nicand *et al.*, 2009; Nicand *et al.*, 2005). L'augmentation du nombre de cas autochtones diagnostiqués pourrait être due à une augmentation réelle du nombre de cas mais aussi au recours plus fréquent au diagnostic d'hépatite E qui est évoqué de plus en plus souvent par les cliniciens. Le CNR a observé ces dernières années une augmentation du nombre d'échantillons reçus sans augmentation de la proportion de cas certains ou probables, diagnostiqués parmi les cas testés (figure 1).

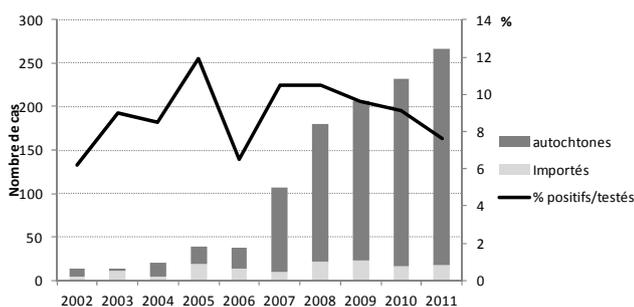


Figure 1 – Evolution du nombre de cas d'hépatite E rapportés au Centre National de Référence entre 2002 et 2011

En 1997, Meng *et al* ont mis en évidence des similitudes génétiques entre un nouveau virus porcine (i.e. VHE porcine) et une souche humaine de VHE (Meng *et al.*, 1997). Cette découverte a suggéré l'implication potentielle de souches porcines de VHE dans les cas humains autochtones. De nombreuses études ont ainsi été conduites dans différentes populations animales et ont montré que le VHE est susceptible d'infecter de nombreuses espèces animales, dont le porc, son réservoir principal (Cooper *et al.*, 2005; de Deus *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 1997; Pavio *et al.*, 2006). Un lien direct entre la consommation de produits infectés et des hépatites E

humaines autochtones a été rapporté à la suite de consommation de viande de cerf crue (Tei *et al.*, 2003), de viande de sanglier crue (Tamada *et al.*, 2004) ou de saucisses de foie crues dénommées figatelli (Colson *et al.*, 2010). Cependant, le nombre exact des cas humains strictement en lien avec la consommation de produits porcins demeure inconnu.

L'objectif de cette revue est de faire le bilan des données disponibles sur l'épidémiologie du VHE chez le porc et les conséquences en termes de moyens de maîtrise permettant de limiter l'exposition des consommateurs.

1. PREVALENCE CHEZ LE PORC ET FACTEURS DE RISQUE

1.1. Prévalence chez le porc et lien entre souches porcines et humaines

De nombreuses publications mettent en évidence une prévalence très élevée chez le porc dans les pays dits « non endémiques », Etats-Unis (Feagins *et al.*, 2007; Meng *et al.*, 1997), Japon (Takahashi *et al.*, 2003) et pays d'Europe (Baechlein *et al.*, 2010; McCreary *et al.*, 2008; Peralta *et al.*, 2009; Seminati *et al.*, 2008). En France, une enquête nationale a été réalisée afin d'estimer la prévalence virologique et sérologique du VHE dans le réservoir porcine et de déterminer s'il pouvait être à l'origine des cas humains en comparant les séquences de VHE circulant dans les deux populations humaine et porcine (Bouquet *et al.*, 2011; Rose *et al.*, 2011). Un total de 186 lots de porcins (6565 sérums et 3715 foies) a été collecté dans 35 abattoirs repartis sur l'ensemble du territoire français, correspondant à 95% de la production nationale porcine. Les lots ont été sélectionnés de façon aléatoire à partir d'une liste de jours et d'heures d'abattage afin d'obtenir un échantillonnage représentatif de tous les types d'élevages (petits et grands, engraisseurs, naisseur-engraisseurs). Cette collecte été réalisée de Mai 2008 à Novembre 2009.

1.1.1. Séroprévalence du VHE

L'analyse de la prévalence sérologique du VHE chez les porcs domestiques a été réalisée sur un total de 6565 sera, provenant de 186 élevages tirés au sort. Le traitement statistique de cet échantillonnage a permis de montrer que le VHE circule dans 65,3% [56,6 – 73,9]¹ des élevages et que 30,7% [23,8 – 37,6] des animaux abattus présentent des anticorps anti-VHE. La séroprévalence intra-élevage du VHE varie de 5 à 90%. L'effet de plusieurs paramètres tels que la saison, le type d'élevage ou encore l'origine géographique de l'élevage sur la séroprévalence a été analysé. Il apparaît un fort lien entre une séroprévalence élevée et une origine géographique du Grand Ouest (OR 2,4 [1,1; 5,4] p=0,03). Il n'a pas été mis en évidence d'effet significatif de la saison ni du type d'élevage (engraisseur vs naisseur-engraisseur) (Rose *et al.*, 2011).

1.1.2. Prévalence du VHE dans les foies de porcs prélevés à l'abattoir

L'analyse de la prévalence virologique du VHE chez les porcs domestiques a été réalisée sur un total de 3715 foies, provenant des mêmes 186 élevages. La prévalence des élevages ayant au moins un animal à foie VHE positif au moment de l'abattage est estimée à 24% [17 ; 31].

¹ Intervalle de confiance à 95%

La prévalence individuelle est de 4% [2 ; 6] (Rose *et al.*, 2011). Cette prévalence de foies infectés par le VHE est du même ordre de grandeur que celle observée en Allemagne (4%) (Wenzel *et al.*, 2011) mais inférieure à celle des Etats-Unis (11%) (Feagins *et al.*, 2007) ou des Pays-Bas (6,5%) (Bouwknegt *et al.*, 2007a).

De même que pour la séroprévalence, il existe également un fort lien entre une prévalence élevée et une origine géographique du Grand Ouest. Il n'a pas été mis en évidence d'effet significatif de la saison ni du type d'élevage (engraisseur vs naisseur-engraisseur).

La charge génomique (en nombre de génomes équivalents/g de foie) a pu être estimée entre 10^3 et 10^8 GE/g de foie. Pour un des foies la présence de virus infectieux a été confirmée par inoculation chez le porc. Ces charges élevées représentent un risque de contamination pour le consommateur.

En effet, la dose infectante du VHE par voie orale chez l'homme reste à ce jour imprécise mais l'utilisation d'un modèle d'infection chez le primate a montré que 10^4 copies de génome permettent une infection productive avec un virus de génotype 1 (Tsarev *et al.*, 1995).

1.1.3. Lien entre les souches porcines isolées et les souches humaines contemporaines

Afin de définir s'il existe un lien entre le réservoir animal et les cas humains, les séquences de VHE isolées dans les foies (n=43) ont été alignées et comparées aux séquences isolées chez l'homme par le CNR (n=106) pendant la même période de temps (Mai 2008 à Novembre 2009). La caractérisation des cas humains d'hépatite virale E réalisée montre une majorité de cas chez l'homme de plus de 50 ans avec un gradient croissant Nord-Sud. Le gradient observé ici corrobore une autre étude portant sur la répartition géographique des cas d'hépatite E aiguë sur le territoire français avec une majorité des cas dans le Sud (85%) (Renou *et al.*, 2008).

La comparaison des séquences de VHE présentes chez l'homme et le porc a permis de montrer une circulation très active des mêmes sous-types et dans les mêmes proportions dans ces deux populations. Les séquences identiques entre élevages sont géographiquement proches, suggérant une source locale de contamination alors qu'au contraire, les séquences humaines identiques sont très distantes (>200 Km) écartant ainsi une origine locale. De plus, les séquences identiques chez l'homme et le porc sont également géographiquement très distantes (>200 Km), écartant une origine locale. Ces résultats suggèrent que la voie alimentaire serait privilégiée par rapport à la voie environnementale locale (Bouquet *et al.*, 2011).

1.2. Facteurs de risque de contamination des élevages porcins

Très peu d'études épidémiologiques ont été conduites pour identifier les facteurs de risque d'infection par le VHE à l'échelle de l'élevage. Une enquête rétrospective a été conduite en France à partir de 90 élevages qui avaient été prélevés aléatoirement à l'abattoir lors de l'enquête de prévalence (Rose *et al.*, 2011). Le statut sérologique et virologique des élevages a été établi à partir de ces résultats rétrospectifs et une enquête sur site a été conduite après obtention du consentement de l'éleveur (Walachowski *et al.*, 2013).

Cette enquête conduite entre avril et août 2010 a permis de collecter des données sur la structure des élevages, la biosécurité, les pratiques d'hygiène et de conduite à partir d'un questionnaire.

Différents facteurs de risque ont été identifiés selon que la variable à expliquer considérée était la séroprévalence intra-lot ou l'infection des foies au stade de l'abattage. Le risque d'infection des foies était conditionné par un abattage précoce d'une partie des animaux, la lignée génétique des reproducteurs femelles, le déficit de mesures de biosécurité et l'utilisation d'une eau issue d'un captage superficiel pour l'abreuvement des animaux (Tableau 1).

Tableau 1 – Facteurs de risque associés à la présence du VHE dans les foies (Walachowski *et al.*, 2013)

Variables	RR*	IC** 95% (RR)
<i>Ecart d'âge départs abattoir intra-bande</i>		
> 20 jours	6,0	1,3 - 66,0
< 20 jours	-	-
<i>Pourcentage d'adoptions en maternité</i>		
> 25%	2,7	1,2 - 5,5
< 25%	-	-
<i>Port de bottes</i>		
spécifique à l'atelier porc	-	-
non spécifique	6,2	1,6 - 45,9
<i>Origine et profondeur source d'eau</i>		
>50 m ou réseau public	-	-
<50 m (forage ou captage)	2,9	1,2 - 9,7
<i>Type Génétique Voie Femelle</i>		
Large White - Landrace	-	-
LW LD Duroc	2,9	1,2 - 6,7
Sino-européenne	4,5	1,6 - 11,5

*Risque relatif **Intervalle de confiance

Les fortes séroprévalences en fin de période d'élevage étaient associées à des mélanges excessifs en post-sevrage et à des conditions d'hygiène défavorables (Tableau 2).

Bien que l'enquête de prévalence ait montré précédemment que les fortes séroprévalences en fin de période d'engraissement étaient associées à un risque augmenté d'infection des foies, il semble que les circonstances conduisant à chacun de ces phénomènes diffèrent sensiblement.

Les facteurs de risque associés à l'infection des foies représentent des circonstances favorisant une infection tardive et/ou une excrétion prolongée du VHE par les animaux conduisant à la présence de particules virales au niveau du foie au moment de l'abattage. Cependant, ceci n'est pas exclusif d'une diffusion massive préalable du virus à l'échelle de la population (conduisant à une forte séroprévalence intra-lot). Ainsi, les facteurs de risque doivent être considérés dans leur globalité pour définir des stratégies de prévention efficaces. Les points critiques à prendre en compte concernent différents stades cruciaux de la production des porcs et ciblent des interactions entre les conditions d'élevage, la perte d'immunité passive et l'hygiène.

2. DYNAMIQUE D'INFECTION EN ELEVAGE ET RELATION AVEC L'INFECTION DES FOIES AU MOMENT DE L'ABATTAGE

Tableau 2 – Facteurs de risque associés à la séroprévalence VHE intra-lot en fin d'engraissement (d'après (Walachowski *et al.*, 2013))

Variabes	OR*	IC 95% (OR)**
<i>Durée du vide sanitaire en post-sevrage</i>		
<4 jours	1,7	1,04 - 2,9
> 4 jours	-	-
<i>Distance lisier-caillebotis en engraissement</i>		
<80 cm	1,9	1,1 - 3,5
>80 cm	-	-
<i>Mélange d'animaux issus de salles différentes entre la maternité et le post-sevrage</i>		
oui	1,8	1,1 - 2,9
non	-	-
<i>Pratique de contamination des cochettes : distribution de délivres + fèces</i>		
oui	0,3	0,2 - 0,6
non	-	-
<i>Nombre de porcs/case en post-sevrage</i>		
< 16 porcs/case	-	-
Entre 16 et 26 porcs/case	1,7	0,9 - 3,3
> 26 porcs /case	2,4	1,2 - 4,8

* Odds Ratio ** Intervalle de confiance de l'OR à 95%

2.1. Voies d'excrétion du VHE chez le porc

Même si l'infection chez le porc domestique est asymptomatique, le virus s'y multiplie très efficacement et est fortement excrété. La majorité des études réalisées en conditions d'élevage indique que la source principale d'excrétion du VHE est le porc en croissance et principalement à partir du troisième mois d'âge, notamment lors du premier mois d'engraissement (60%), suivi par le stade post-sevrage (41,7%) (Fernandez-Barredo *et al.*, 2006). L'excrétion par les animaux reproducteurs a aussi été montrée dans plusieurs études (Casas *et al.*, 2011; de Deus *et al.*, 2008; Fernandez-Barredo *et al.*, 2006). Ainsi, la voie de transmission horizontale de la truie au porcelet par contact, de même que la voie verticale in-utero ne peuvent être exclues (de Deus *et al.*, 2008). Des ARN viraux ont ainsi été détectés dans les foies de fœtus avortés (Hosmillo *et al.*, 2010). Ces résultats sont cependant controversés, une étude expérimentale (Kasornrorkbua *et al.*, 2003) n'ayant en effet montré aucune transmission verticale suite à l'inoculation intraveineuse de cochettes gestantes. Néanmoins, malgré la difficulté matérielle d'objectiver ces phénomènes d'excrétion chez la truie, on ne peut exclure que cette catégorie d'animaux soit un réservoir du VHE au sein des élevages infectés. Elles pourraient ainsi entretenir et maintenir la propagation du virus dans les élevages.

Le virus est principalement excrété par voie fécale chez le porc, conduisant à une accumulation du VHE dans l'environnement des animaux en élevage infecté. Des travaux ont ainsi mis en évidence une relation entre l'excrétion du VHE

par les porcs et sa présence dans les fosses à lisier de ces mêmes élevages (Fernandez-Barredo *et al.*, 2006). Selon le type de sol (litière ou caillebotis avec pré-fosses de stockage du lisier), les animaux sont en contact permanent, plus ou moins direct avec ce réservoir environnemental du VHE. En cas de pré-fosses de stockage du lisier, une transmission *via* des suspensions de lisier est envisageable notamment au cours des opérations de brassage et de vidange.

Plusieurs études ont détecté le virus dans les urines de porcs ayant été en contact avec des porcs inoculés par voie intraveineuse ou infectés naturellement (Banks *et al.*, 2004; Bouwknecht *et al.*, 2009; Bouwknecht *et al.*, 2011). Il semblerait que l'urine soit aussi une voie importante de transmission du VHE chez le porc, compte tenu du volume émis quotidiennement et de l'excrétion du virus plus longue dans ce support (Bouwknecht *et al.*, 2009).

En élevage, compte tenu de ces voies d'excrétion fécale et urinaire, l'eau d'abreuvement ou l'alimentation peuvent éventuellement constituer un vecteur indirect de propagation à l'échelle du groupe notamment si les dispositifs d'alimentation ou d'abreuvement peuvent être facilement souillés par les déjections (Fernandez-Barredo *et al.*, 2006). Au final, les contacts quotidiens répétés des porcs occupant les mêmes salles et élevés en milieu confiné, de même que les ré-alottements à certains stades de production du porc (changement de bâtiment et d'environnement) semblent accélérer la propagation du VHE au sein des élevages (Bouwknecht *et al.*, 2008; de Deus *et al.*, 2008; Kasornrorkbua *et al.*, 2004).

Ces observations confirment la voie féco-orale comme voie privilégiée de transmission du VHE chez le porc (Bouwknecht *et al.*, 2009; Casas *et al.*, 2009; Kasornrorkbua *et al.*, 2004) bien que plusieurs expérimentations soulignent la difficulté d'inoculation par voie orale (Bouwknecht *et al.*, 2007b; Kasornrorkbua *et al.*, 2002). Il est estimé que l'infection par inoculation *per os* requiert une dose 10^4 fois plus importante de particules virales (environ 15 g de fèces par jour à 10^8 génomes équivalents (ge) par g pendant 3 jours consécutifs) que la dose nécessaire d'infection par inoculation intraveineuse (Bouwknecht *et al.*, 2011). Expérimentalement, une charge minimale de 10^6 ge/g semble nécessaire pour infecter des porcs *per os* et pour qu'ils soient capables d'excréter le virus et le transmettre à des congénères (Andraud *et al.*, 2013). La propagation en élevage, *via* cette voie de transmission féco-orale suggère que des charges virales importantes doivent s'accumuler dans l'environnement pour que le processus de transmission se maintienne.

La persistance du virus en élevage est conditionnée (i) par l'aptitude intrinsèque du virus à persister dans l'environnement des animaux, (ii) par les possibilités éventuelles de réintroduction régulière dans l'élevage et (iii) par l'aptitude du virus à se maintenir et se propager dans la population. Ce dernier critère peut être appréhendé par le taux de reproduction de base (R_0) du virus qui mesure le nombre d'infections secondaires engendrées par un porc infectieux pendant toute sa période d'excrétion et dans une population totalement sensible. Plus cet indicateur est élevé, plus le virus se propage facilement entre les animaux et plus il aura les capacités à se maintenir dans la population. En théorie, en deçà d'une valeur seuil de 1 pour le R_0 , le virus est voué à l'extinction au sein de la population (sans réintroduction). Pour le VHE, d'après une expérimentation réalisée par une équipe néerlandaise (Bouwknecht *et al.*, 2008),

ce ratio a été estimé à 8,8 indiquant qu'un animal infectieux peut en théorie en contaminer plus de 8 pendant sa période infectieuse. Cette estimation expérimentale repose cependant sur des répétitions de contacts 1 à 1 et sur la production d'animaux naturellement infectés (pour réaliser les contacts avec des animaux sensibles) après exposition initiale de ces animaux index à des porcs inoculés par voie intraveineuse. Toujours expérimentalement mais en travaillant sur des groupes de porcs inoculés par voie orale et exposés à des porcs sensibles de manière directe ou indirecte (cases séparées), les estimations confirment que le virus est capable de se propager dans une population sensible et s'y maintenir. Un modèle mathématique prenant en compte trois voies de transmission a permis de quantifier la transmission en fonction de la structure de contact entre les animaux (contacts directs et indirects) ainsi que le rôle joué par l'environnement dans le processus infectieux. Les résultats obtenus montrent que la transmission par contact direct peut être un facteur de persistance de l'infection en élevage porcin avec un taux de reproduction partiel estimé à 1,06 [0,25 ; 2,13]. Cette voie de transmission seule ne permet cependant pas d'expliquer les fortes prévalences observées en élevage. Le facteur majeur de propagation et de maintien de l'infection dans la population réside dans l'accumulation du virus dans l'environnement des animaux favorisant un processus de contamination par voie oro-fécale. La transmission d'une case à l'autre est fortement limitée et repose exclusivement sur le transfert de matières fécales d'un parc à l'autre. Des mesures de biosécurité internes drastiques seraient donc *a priori* très efficaces pour limiter la propagation à l'échelle de la population (Andraud *et al.*, 2013).

2.2. Relation âge / infection / excrétion du VHE

Depuis la fin des années 2000, de nombreuses études se sont attachées à décrire la dynamique d'infection du virus en montrant que les prévalences des ARN du VHE dans les fèces et dans le sérum chez le porc évoluent en fonction du stade de production, donc de l'âge du porc. Les durées et délais d'apparition de la virémie et de l'excrétion sont variables selon les études du fait de l'échantillonnage parfois très restreint. A l'échelle de la population porcine de l'élevage, les porcs excrètent collectivement le virus sur une large période, approximativement de 1,5 à 5 mois d'âge avec une virémie manifeste entre 2 et 4 mois d'âge (de Deus *et al.*, 2008 ; Seminati *et al.*, 2008). Dans une autre étude, l'excrétion a été observée sur une très longue période (de 40 à 100 jours d'âge, soit pendant près de 9 semaines) (Kanai *et al.*, 2011). Cependant, dans la très grande majorité des travaux le pic de l'excrétion fécale est décrit vers 3 à 4 mois d'âge des porcs (de Deus *et al.*, 2008 ; Fernandez-Barredo *et al.*, 2007 ; Takahashi *et al.*, 2005) et très peu d'animaux sont détectés positifs par PCR au-delà de 6 mois d'âge, selon les études : moins de 10% (McCreary *et al.*, 2008 ; Nakai *et al.*, 2006), voire aucun (de Deus *et al.*, 2007).

Les données d'excrétion fécale en fonction de l'âge issues de 13 publications ont été synthétisées sous la forme d'une méta-régression modélisant la prévalence d'excrétion fécale en fonction de l'âge par un modèle polynomial d'ordre 2 (Tableau 3) avec prise en compte du poids respectif des publications calculé sous la forme de l'inverse de la somme de la variance inter- et intra-étude pour un âge donné. La prédiction moyenne du modèle et son intervalle de confiance sont présentés sur la Figure 2.

Malgré une importante variabilité observée entre les études, le modèle met en évidence une probabilité d'excrétion fécale significativement liée à l'âge et maximale à l'échelle de la population entre 90 et 120 jours d'âge.

Tableau 3 - Modèle polynomial d'ordre 2 mettant en relation la prévalence d'excrétion fécale du VHE et l'âge des animaux, (13 publications).

	Coefficient	Ecart type	t value	Pr (> t)
Constante	-0,0815	0.074	-1,11	0,27
âge	0,01	0.002	4,64	<0,0001
âge ²	-5,08.10 ⁻⁵	1,2.10 ⁻⁵	-4,27	0,0001

R^2 ajusté: 0,33

F-statistic: 11,2 avec 2 and 39 ddl, p-value: <0,0001

Toujours selon ce modèle, l'extrapolation de la prévalence d'excrétion s'annule en moyenne à 188,5 jours d'âge. Les valeurs prédites par le modèle (prévalence d'excrétion fécale) pour un âge de 175 et 185 jours sont respectivement 11% [95% IC 0 – 16%] et 3% [95% IC 0 – 17%]. Ces prédictions sont cohérentes avec l'estimation de prévalence de contamination des foies chez des porcs charcutiers, à l'abattage en France (4% [95% IC 2-6] (Rose *et al.*, 2011)).

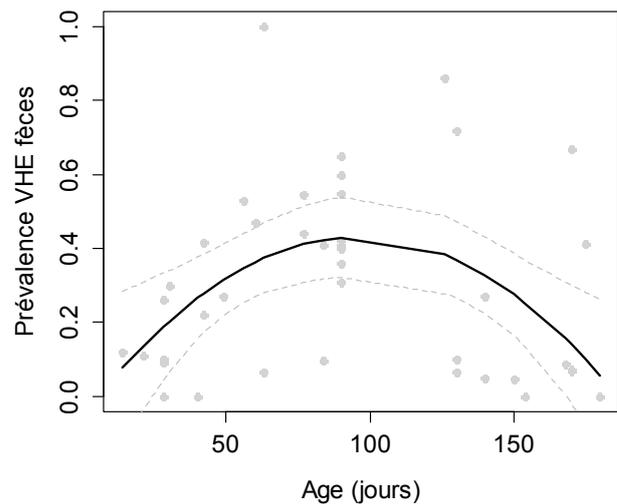


Figure 2 - Prédiction et intervalle de confiance à 95% du modèle polynomial d'ordre 2 mettant en relation la prévalence d'excrétion fécale et l'âge des animaux, 13 publications.

Depuis fin 2010, certaines études observationnelles permettent de décrire des dynamiques d'infection de manière plus précise en prenant en compte la variabilité individuelle *via* la mise en place de suivis longitudinaux réguliers de porcs depuis la naissance jusqu'à l'abattage. Dans l'étude de Casas *et al.* (Casas *et al.*, 2011), les IgM, dont la production est très précoce après l'infection mais qui persistent peu longtemps, sont détectées pour la première fois chez les porcs âgés de 7 et 13 semaines dans les 6 élevages et pour les 20 porcelets. A l'abattage, autour de 25 semaines, les IgG, qui apparaissent plus tardivement mais persistent beaucoup plus longtemps que les IgM, sont présentes chez 50 à 100% des sujets pour 5 des 6 élevages. De même, 11,5% des 96 animaux abattus étaient positifs en PCR (foies et biles). Certaines études détectent les différents isotypes d'immunoglobulines et mettent ainsi en évidence une apparition des IgG plus tardive (à partir de 15 semaines d'âge) comparée à celle des IgA et IgM qui intervient à l'âge de 12 semaines chez des porcs

naturellement infectés (45 porcelets dans 1 élevage) (de Deus *et al.*, 2008). Dans cette même étude, l'ARN viral est détecté dans les sérums des porcs de tout âge, la prévalence la plus élevée étant observée à 15 semaines d'âge ainsi que dans les fèces et la lymphe à partir de 9 semaines d'âge avec un pic entre 12 et 15 semaines d'âge (fèces et lymphe, bile et foie sur animaux autopsiés). A 18 semaines d'âge, le VHE peut encore être détecté dans le foie (2/5) et les fèces (2/5) des porcs

autopsiés. Cette étude a également mis en évidence une corrélation entre virémie et séroconversion IgG et IgM à 15 semaines d'âge.

Ces études menées sur le terrain en conditions réelles décrivent des dynamiques d'infection collectives et affichent quelques différences les unes par rapport aux autres qui pourraient s'expliquer par des dynamiques individuelles très diverses.

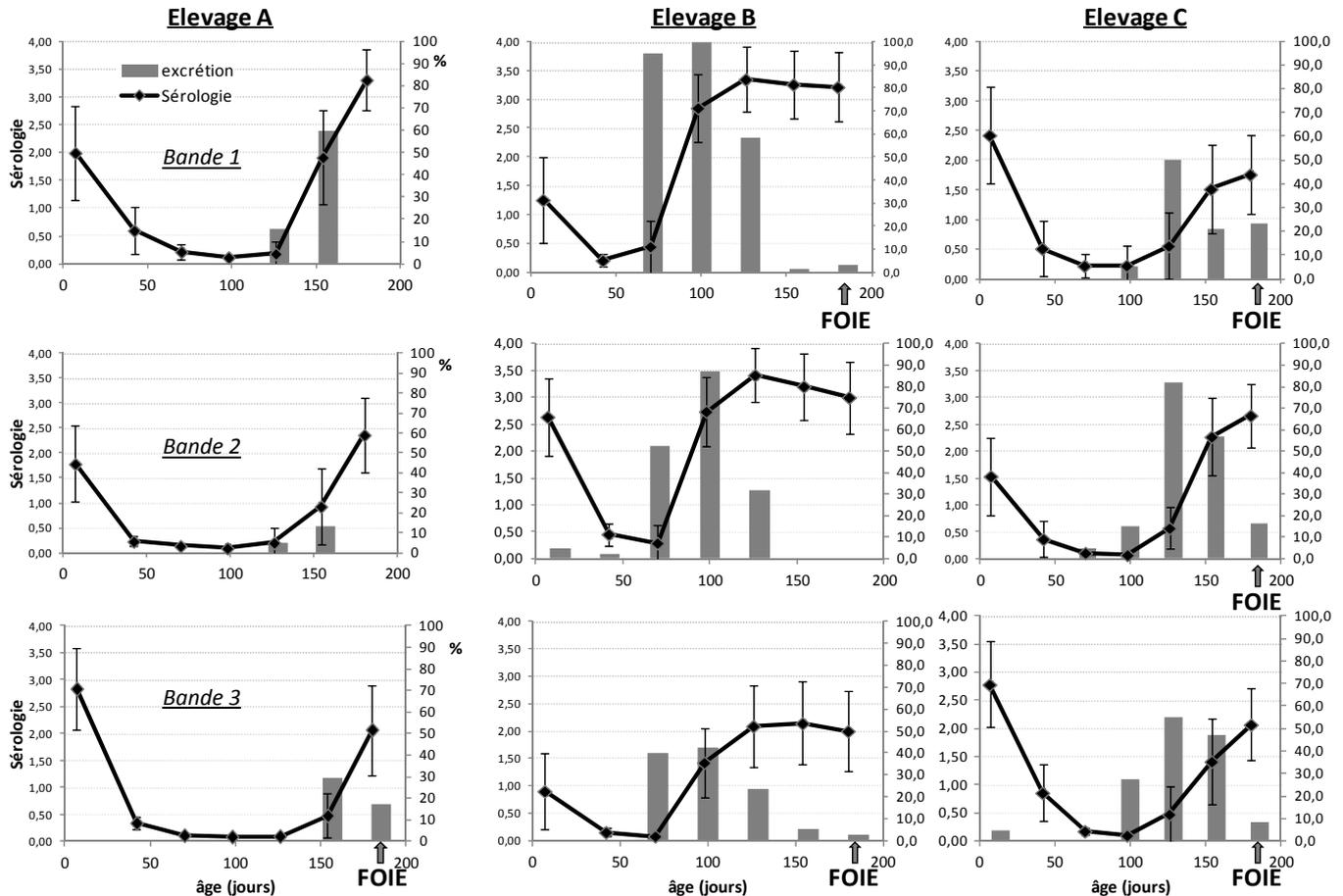


Figure 3 – Dynamique d'excrétion et de séroconversion à l'égard du virus de l'hépatite E dans 3 élevages (3 bandes consécutives, 120 porcs suivis par élevage)

La dispersion des séroprévalences intra-élevage observées dans une enquête nationale de prévalence du VHE à l'abattoir (Rose *et al.*, 2011) suggère des dynamiques d'infection individuelles très variables. Le suivi individuel rapproché de cohortes de porcs successives au sein d'élevages infectés permet d'appréhender cette variabilité individuelle. Une étude a été conduite dans 3 élevages infectés par le VHE en suivant les animaux depuis la naissance jusqu'à l'abattage (Rose, communication personnelle). Dans chaque élevage 120 porcs issus de 3 bandes consécutives ont été individuellement suivis et prélevés tous les mois pour apprécier l'excrétion fécale du VHE et la séroconversion. A l'abattoir, les foies des animaux suivis ont été prélevés pour rechercher le VHE. Les résultats de ce travail mettent en évidence des profils d'infection très différents d'un élevage un autre : dans un élevage l'excrétion du VHE est très tardive et de courte durée (Elevage A) alors qu'elle est relativement précoce et parfois très longue chez certains animaux dans les deux autres élevages (Elevages B et C) (figure 3). Dans ces deux élevages, des porcelets sont excréteurs dès la phase de maternité, soulignant la possibilité de transfert truie porcelet au cours de cette période.

La prévalence maximale d'excrétion atteinte est aussi très variable selon les élevages et les bandes (jusqu'à 100 % dans la bande 1 de l'élevage B contre 10% dans la bande 2 de l'élevage A). Les plus fortes proportions de foies positifs (jusqu'à 23%) sont atteintes dans l'élevage C associées à un pic d'excrétion atteint après 120 jours d'âge. L'analyse de ces données individuelles montre qu'il n'existe pas de relation stricte entre la contamination des foies et l'âge à la première excrétion décelée mais que la probabilité d'infection des foies augmente considérablement lorsque le délai infection-abattage est inférieur à 40 jours (OR=3,5 ; IC_{95%}[1,4-10,9]).

En conditions réelles, la probabilité de présence du virus dans le foie ne peut donc être directement déduite de l'âge à l'abattage en raison de l'absence de connaissance de la date exacte d'infection des animaux.

Au sein d'élevages infectés, la majorité des infections a lieu entre le premier et le second tiers de l'engraissement, conformément à ce qui est décrit dans la littérature, cependant une grande variabilité individuelle est rencontrée comme illustrée sur la courbe de survie représentant la probabilité de non infection

avant un âge donné, la majorité des infections se produisant entre 90 et 150 jours d'âge (Figure 4).

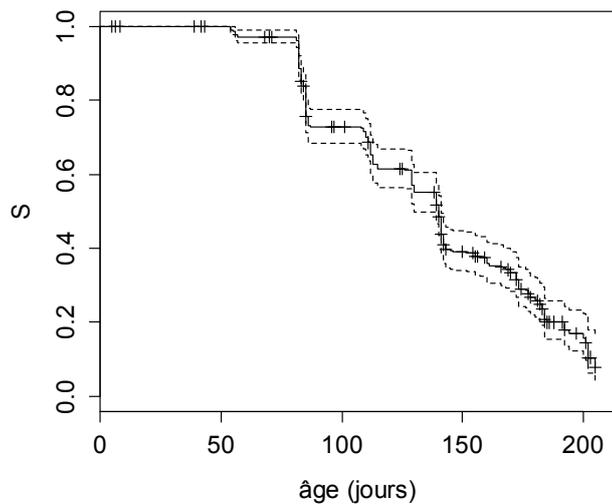


Figure 4 - Analyse de survie des données d'âge à l'infection VHE (n=360 porcs suivis individuellement, trois élevage infecté VHE)

Peu de données existent chez les truies, cependant une étude réalisée en Italie (Di Bartolo *et al.*, 2008) a montré que la prévalence d'excrétion était plus importante chez les truies les plus âgées (>2 mises bas) par rapport aux cochettes et jeunes truies (53,4% versus 38,6% et 43,1% respectivement). Ces résultats suggèrent que les porcs adultes sont susceptibles d'être réinfectés au cours de leur vie économique (immunité transitoire, réinfection par des souches différentes) ou, si l'on pose l'existence d'une potentielle chronicité, d'excréter de nouveau le virus à l'occasion d'une baisse d'immunité.

2.3. Facteurs de variation de l'âge au moment de l'infection

Les données précédemment présentées montrent qu'il existe des dynamiques d'infection différentes avec excrétion ou séroconversion plus ou moins précoce par rapport au moment de l'infection. Ces variations suggèrent que des facteurs influencent la propagation du virus en élevage.

La présence d'anticorps maternels chez le porcelet n'empêche pas l'infection mais retarde le début de la virémie ainsi que la séroconversion chez celui-ci (dos Santos *et al.*, 2009; Kanai *et al.*, 2011). La durée de présence des anticorps est également fonction du titre en anticorps chez la mère (Casas *et al.*, 2011), ce dernier étant fortement influencé par l'âge de la truie (Klobasa *et al.*, 1987). Les IgG perdurent jusqu'à 9 semaines d'âge chez les porcelets nés de truies fortement séropositives contre 1 à 3 semaines pour les porcelets issus de truies faiblement séropositives (de Deus *et al.*, 2008). Des observations équivalentes ont été réalisées précédemment (Meng *et al.*, 1997). Une immunité passive persistant plus longtemps est ainsi susceptible de décaler dans le temps le processus infectieux chez le porcelet. Il est à noter qu'il arrive que des porcelets restent séronégatifs bien que nés d'une truie séropositive. Ceci s'expliquerait par une consommation de colostrum insuffisante ou inadéquate ou encore par la pratique d'adoption lors de l'allaitement (Casas *et al.*, 2011).

L'organisation des bâtiments et la structure des contacts entre les animaux au niveau d'un élevage (plusieurs porcs dans une

case, plusieurs cases dans une salle, plusieurs salles dans un bâtiment...) peuvent modifier la transmission du VHE (Bouwknegt *et al.*, 2008). Afin d'enrayer la propagation de l'infection, il conviendrait alors de séparer les porcs indemnes des porcs infectés dès la fin du post-sevrage et de ne plus les re-mélanger par la suite afin de minimiser le nombre de porcs positifs au VHE à la finition.

Dans une étude de modélisation, l'effet d'une vaccination fictive tardive ou précoce sur la dynamique d'infection du virus a été évalué (Backer *et al.*, 2012). Une vaccination plus tardive à 10 semaines d'âge serait une meilleure stratégie dans le sens où elle permet de réduire la proportion de porcs infectieux à l'âge de l'abattage. En effet, en vaccinant à 10 semaines d'âge, la période infectieuse est raccourcie et la fraction d'animaux infectieux à l'âge de l'abattage est réduite alors qu'en vaccinant à 3 semaines d'âge, le taux de transmission du virus est réduit précocement mais la fraction de porcs infectieux à l'abattage se trouve au contraire augmentée.

3. DECONTAMINATION DES PRODUITS : RESISTANCE A LA CUISSON ET AUTRES PROCÉDES

Une étude récente conduite en France 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) (Pavio *et al.*, 2013). Compte-tenu d'une prévalence individuelle de foies infectés de l'ordre de 4%, il semble très difficile de constituer des mêlées de foies indemnes pour la préparation de ces produits. Des solutions de traitement des foies sont donc à l'étude. Néanmoins, l'impact d'un traitement technologique tel que la cuisson ou le séchage sur le virus de l'hépatite E nécessite des données basées sur le caractère infectieux du virus. En raison des difficultés rencontrées pour cultiver ce virus sur système cellulaire, il est nécessaire d'évaluer ces différents traitements par des bioessais sur porcs vivants.

3.1. Impact du traitement thermique

Différentes études ont été conduites afin d'évaluer la résistance thermique du VHE. En utilisant un système de culture cellulaire basé sur la lignée hépatocytaire PLC/PRF/5, il a été montré qu'un chauffage à 70°C pendant 10 min est nécessaire pour inactiver une suspension fécale de VHE à 6.10^4 ge. En revanche, une incubation à 56°C pendant 30 min ne permet pas d'inactiver le VHE (Tanaka *et al.*, 2007).

Les travaux de Feagins (Feagins *et al.*, 2008) ont montré par un bioessai que le virus présent dans le foie pouvait être infectieux pour le porc. Cependant la friture à la poêle à 191° ou une cuisson dans l'eau bouillante de dés de foie de porc de 0,5 à 1 cm² permettait l'obtention d'une température à cœur de 71°C durant 5 minutes qui était associée à l'inactivation des virus présents dans le foie par contamination naturelle. En revanche, l'incubation à 56°C pendant 1 heure était insuffisante pour obtenir l'inactivation totale du virus de l'hépatite E.

Récemment, différents traitements thermiques associant différents couples temps/température ont été évalués (Barnaud *et al.*, 2012). Les travaux ont été menés sur des matrices complexes : mêlées contenant 30% de foie infecté (10^8 ge de VHE/g) et 48% de matières grasses (composition du pâté de foie comparable au figatellu). Les traitements thermiques appliqués étaient les suivants : 71°C pendant 5, 10

et 20 min, 68°C pendant 5, 10 et 20 min, 62°C pendant 5, 20 et 120 min. Les bioessais réalisés chez des porcs EOPS inoculés à l'aide de ces différentes préparations ont montré que seul le traitement thermique à une température de 71°C pendant 20 min, permettait d'inactiver totalement le VHE. Un traitement à 68°C pendant 20 min n'inactive pas le VHE et un traitement à 62°C pendant 120 min n'a pas d'effet sur la survie du VHE.

Des résultats sensiblement différents sont rapportés par ces trois études suggérant que la présence de matière grasse dans les mêlées (48%) peut potentiellement exercer un effet de protection du virus contre le traitement thermique. Ainsi la suspension fécale et les dés de foies seuls, présentent une plus grande sensibilité au traitement thermique. Ces expériences ont aussi été conduites dans des conditions très sécuritaires : contamination des mêlées avant traitement thermique proche de 10^7 ge de VHE/g et test par voie intraveineuse et non par voie orale. Ces fortes contaminations initiales associées au fait que les virus n'aient pas à passer la barrière intestinale pour atteindre la circulation sanguine laisse supposer qu'en situation réelle des traitements thermiques moins drastiques permettent de sécuriser le produit. Néanmoins en l'absence d'autres données, la recommandation d'un traitement de 71°C pendant 20 min est nécessaire afin d'assurer l'inactivation du VHE.

3.2. Impact du séchage

Il n'existe actuellement aucune donnée sur l'impact d'un séchage sur le virus de l'hépatite E, ni de la survie du virus en fonction de la teneur en sel ou de l' a_w (mesure de l'activité de l'eau). Le VHE est un virus non enveloppé de petite taille, capable de résister dans l'environnement, de passer la barrière stomacale et est excrété *via* la bile contenant les sels biliaires (effet détergent). Le VHE est donc résistant à des conditions très défavorables.

En l'absence de données et compte tenu des valeurs d' a_w et/ou de la concentration en sel des produits de charcuterie, le séchage tel que pratiqué par les fabricants de ces produits doit être considéré comme inefficace.

D'autres procédés tels que la pascalisation (traitement par hautes pressions associé à une élévation de température modérée) sont en cours d'évaluation. Leur intérêt porterait sur une diminution des inconvénients liés à la cuisson rendant difficile l'utilisation de mêlées thermisées pour la préparation de ces produits de charcuterie à base de foie cru. L'efficacité à l'égard de l'inactivation du VHE doit cependant au préalable être vérifiée.

CONCLUSION

L'augmentation du nombre de cas d'hépatite E chez l'Homme semble plus traduire une plus grande sensibilisation des praticiens à cette maladie et une amélioration considérable des techniques de diagnostic.

Il n'en reste pas moins que les infections par le VHE chez l'Homme ne sont pas rares et qu'il existe vraisemblablement un nombre considérable d'infections asymptomatiques comme l'attestent les données disponibles de séroprévalence chez l'Homme (Mansuy *et al.*, 2011).

Le porc est incontestablement un réservoir très important du virus et le lien, entre certains cas humains et les produits alimentaires préparés à base de porc et notamment à partir de foie cru, n'est plus à démontrer.

Les techniques d'assainissement des produits disponibles ne sont pas totalement satisfaisantes car elles nécessitent d'appliquer des barèmes de cuisson drastiques qui risquent de dénaturer les produits.

Si la prévalence en élevage est importante, la dynamique d'infection varie considérablement d'un élevage à l'autre. Ces variations observées ne sont pas le fait du hasard.

L'étude détaillée de ces dynamiques d'infection doit permettre d'identifier les principaux déterminants et associations de circonstances conduisant aux profils observés.

Il semble difficile d'envisager l'éradication d'une telle infection qui s'est visiblement installée de manière durable en élevage. Néanmoins, la compréhension des mécanismes conduisant à une forte prévalence de foies infectés permettra de proposer des mesures de maîtrise en élevage basées sur l'hygiène, la zootechnie et les bonnes pratiques d'élevage permettant de modifier la dynamique d'infection et ainsi limiter les excréctions prolongées et les infections tardives survenant peu de temps avant l'abattage.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) qui a financé deux programmes consécutifs sur le virus de l'hépatite E (HEVZOOONEPI et HEVECODYN) ayant permis l'obtention d'une grande partie des données présentées dans cette synthèse. Ils remercient également France AgriMer et INAPORC pour la participation financière à la partie traitements technologiques ainsi que l'IFIP pour la collaboration sur cette thématique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andraud M., Dumarest M., Cariolet R., Aylaj B., Barnaud E., Eono F., Pavio N., Rose N., 2013. Direct contact and environmental contaminations are responsible for HEV transmission in pigs. *Veterinary Research*, in press.
- Backer J.A., Berto A., McCreary C., Martelli F., van der Poel W.H.M., 2012. Transmission dynamics of hepatitis E virus in pigs: Estimation from field data and effect of vaccination. *Epidemics*, 4, 86-92.
- Baechlein C., Schielke A., Johne R., Ulrich R.G., Baumgaertner W., Grummer B., 2010. Prevalence of Hepatitis E virus-specific antibodies in sera of German domestic pigs estimated by using different assays. *Veterinary Microbiology*, 144, 187-191.
- Banks M., Bendall R., Grierson S., Heath G., Mitchell J., Dalton H., 2004. Human and Porcine Hepatitis E Virus Strains, United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 953-955.
- Barnaud E., Rogée S., Garry P., Rose N., Pavio N., 2012. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 5153-5159.
- Bihl F., Negro F., 2009. Chronic hepatitis E in the immunosuppressed: A new source of trouble? *Journal of Hepatology*, 50, 435-437.
- Bouquet J., Tessé S., Lunazzi A., Eloit M., Rose N., Nicand E., Pavio N., 2011. Close similarity between sequences of Hepatitis E Virus recovered from Human and Swine in France between 2008 and 2009. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 2018-2025.
- Bouwknegt M., Lodder-Verschoor F., van der Poel W.H., Rutjes S.A., de Roda Husman A.M., 2007a. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *J Food Prot*, 70, 2889-2895.
- Bouwknegt M., Lodder-Verschoor F., Van Der Poel W.H.M., Rutjes S.A., Husman A.M.D.R., 2007b. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *Journal of Food Protection*, 70, 2889-2895.
- Bouwknegt M., Teunis P.F.M., Frankena K., de Jong M.C.M., de Roda Husman A.M., 2011. Estimation of the Likelihood of Fecal-Oral HEV Transmission Among Pigs. *Risk Analysis*, 31, 940-950.
- Bouwknegt M., Frankena K., Rutjes S.A., Wellenberg G.J., Husman A.M.D.R., Poel W.H.M.V.D., Jong M.C.M.D., 2008. Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Veterinary Research*, 39,
- Bouwknegt M., Rutjes S.A., Reusken C.B., Stockhofe-Zurwieden N., Frankena K., de Jong M.C., de Roda Husman A.M., Poel W.H., 2009. The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation. *BMC Veterinary Research*, 5.
- Casas M., Pina S., de Deus N., Peralta B., Martin M., Segalés J., 2009. Pigs orally inoculated with swine hepatitis E virus are able to infect contact sentinels. *Veterinary Microbiology*, 138, 78-84.
- Casas M., Cortés R., Pina S., Peralta B., Allepuz A., Cortey M., Casal J., Martin M., 2011. Longitudinal study of hepatitis E virus infection in Spanish farrow-to-finish swine herds. *Veterinary Microbiology*, 148, 27-34.
- Colson P., Borentain P., Quyriaux B., Kaba M., Moal V., Gallina P., Heyries L., Raoult D., Gerolami R., 2010. Pig liver sausage as a source of Hepatitis E virus transmission to humans. *Journal of Infectious Diseases*, 202, 825-834.
- Cooper K., Huang F.F., Batista L., Rayo C.D., Bezanilla J.C., Toth T.E., Meng X.J., 2005. Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human populations. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 1684-1688.
- de Deus N., Seminati C., Pina S., Mateu E., Martin M., Segales J., 2007. Detection of hepatitis E virus in liver, mesenteric lymph node, serum, bile and faeces of naturally infected pigs affected by different pathological conditions. *Veterinary Microbiology*, 119, 105-114.
- de Deus N., Casas M., Peralta B., Nofrarias M., Pina S., Martin M., Segales J., 2008. Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. *Veterinary Microbiology*, 132, 19-28.
- Di Bartolo I., Martelli F., Inglesse N., Pourshaban M., Caprioli A., Ostanello F., Ruggeri F.M., 2008. Widespread diffusion of genotype 3 hepatitis E virus among farming swine in Northern Italy. *Veterinary Microbiology*, 132, 47-55.
- dos Santos D.R.L., Vitral C.L., de Paula V.S., Marchevsky R.S., Lopes J.F., Gaspar A.M.C., Saddi T.M., Junior N.C.d.M., Guimaraes F.d.R., Junior J.G.C., Ximenes L.L.L., Souto F.J.D., Pinto M.A., 2009. Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. *Veterinary Journal*, 182, 474-480.
- Emerson S.U., Purcell R.H., 2003. Hepatitis E virus. *Reviews in Medical Virology*, 13, 145-154.
- Feagins A.R., Opriessnig T., Guenette D.K., Halbur P.G., Meng X.-J., 2007. Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery in the USA. *Journal of General Virology*, 88, 912-917.
- Feagins A.R., Opriessnig T., Guenette D.K., Halbur P.G., Meng X.J., 2008. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol*, 123, 32-37.
- Fernandez-Barredo S., Galiana C., Garcia A., Vega S., Gomez M.T., Perez-Gracia M.T., 2006. Detection of hepatitis E virus shedding in feces of pigs at different stages of production using reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18, 462-465.
- Fernandez-Barredo S., Galiana C., Garcia A., Gomez-Munoz M.T., Vega S., Rodriguez-Iglesias M.A., Perez-Gracia M.T., 2007. Prevalence and genetic characterization of hepatitis E virus in paired samples of feces and serum from naturally infected pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 71, 236-240.
- Gerolami R., Moal V., Colson P., 2008. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *New England Journal of Medicine*, 358, 859-860.
- Hosmillo M., Jeong Y.J., Kim H.J., Park J.G., Nayak M.K., Alfajaro M.M., Collantes T.M., Park S.J., Ikuta K., Yunoki M., Kang M.I., Park S.I., Cho K.O., 2010. Molecular detection of genotype 3 porcine hepatitis E virus in aborted fetuses and their sows. *Archives of Virology*, 155, 1157-1161.
- Kamar N., Selves J., Mansuy J.M., Ouezani L., Péron J.M., Guitard J., Cointault O., Esposito L., Abravanel F., Danjoux M., Durand D., Vinel J.P., Izopet J., Rostaing L., 2008. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *New England Journal of Medicine*, 358, 811-817.
- Kanai Y., Tsujikawa M., Yunoki M., Nishiyama S., Ikuta K., Hagiwara K., 2011. Long-term shedding of hepatitis E virus in the feces of pigs infected naturally, born to sows with and without maternal antibodies. *Journal of Medical Virology*, 82, 69-76.
- Kasorndorkbua C., Halbur P.G., Thomas P.J., Guenette D.K., Toth T.E., Meng X.J., 2002. Use of a swine bioassay and a RT-PCR assay to assess the risk of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *Journal of Virological Methods*, 101, 71-78.
- Kasorndorkbua C., Guenette D.K., Huang F.F., Thomas P.J., Meng X.-J., Halbur P.G., 2004. Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 5047-5052.
- Kasorndorkbua C., Thacker B.J., Halbur P.G., Guenette D.K., Buitenwerf R.M., Royer R.L., Meng X.J., 2003. Experimental infection of pregnant gilts with swine hepatitis E virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 67, 303-306.
- Khuroo M.S., 2011. Discovery of hepatitis E: The epidemic non-A, non-B hepatitis 30 years down the memory lane. *Virus Research*, 161, 3-14.

- Klobasa F., Butler J.E., . 1987. Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers. *American Journal of Veterinary Research*, 48, 176-182.
- Mansuy J.M., Bendall R., Legrand-Abravanel F., Sauné K., Miédouge M., Ellis V., Rech H., Destruel F., Kamar N., Dalton H.R., Izopet J., 2011. Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 2309-2312.
- McCreary C., Martelli F., Grierson S., Ostanello F., Nevel A., Banks M., 2008. Excretion of hepatitis E virus by pigs of different ages and its presence in slurry stores in the United Kingdom. *Veterinary Record*, 163, 261-265.
- Meng X.-J., Purcell R.H., Halbur P.G., Lehman J.R., Webb D.M., Tsareva T.S., Haynes J.S., Thacker B.J., Emerson S.U., 1997. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 9860-9865.
- Nakai I., Kato K., Miyazaki A., Yoshii M., Li T.C., Takeda N., Tsunemitsu H., Ikeda H., 2006. Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis E virus at three Japanese swine farms. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75, 1171-1177.
- Nicand E., Enouf V., Caron M., 2005. Hépatite E, bilan d'activité du Centre national de référence des hépatites entéro-transmissibles, France, 2002-2004. *BEH*, 33, 167-168.
- Nicand E., Bigaillon C., Tessé S., 2009. Hépatite E en France : données de surveillance des cas humains, 2006-2008. *BEH*, 31-32, 338-342.
- Nicand E., Delaune D., Tessé S., 2011. Surveillance data on human cases of hepatitis E in France, 2006-2009. *Feuillets de Biologie*, 52, 19-24.
- Pavio N., Renou C., Boutrouille A., Eloit M., 2006. Hepatitis E as a zoonosis. *Virologie*, 10, 341-351.
- Pavio N., Thébault A., Merbah T., Bouteiller L., Tabouis-Chaumien S., Danan C., 2013. Prévalence et facteurs de risque du virus de l'hépatite E dans les aliments à base de foie cru de porc. *Bulletin Epidemiologique, santé animale et alimentation*, 58, 8-11.
- Peralta B., Casas M., de Deus N., Martin M., Ortuño A., Pérez-Martin E., Pina S., Mateu E., 2009. Anti-HEV antibodies in domestic animal species and rodents from Spain using a genotype 3-based ELISA. *Veterinary Microbiology*, 137, 66-73.
- Renou C., Moreau X., Pariente A., Cadranet J.F., Maringe E., Morin T., Causse X., Payen J.L., Izopet J., Nicand E., Bourliere M., Penaranda G., Hardwigsen J., Gerolami R., Peron J.M., Pavio N., 2008. A national survey of acute hepatitis E in France. *Aliment Pharmacol Ther*, 27, 1086-1093.
- Roque-Afonso A.M., 2011. Rapport d'activité du CNR des virus des hépatites à transmission entérique A et E. 36 pp.
- Rose N., Lunazzi A., Dorenlor V., Merbah T., Eono F., Eloit M., Madec F., Pavio N., 2011. High prevalence of Hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34, 419-427.
- Seminati C., Mateu E., Peralta B., de Deus N., Martin M., 2008. Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *Veterinary Journal*, 175, 130-132.
- Smith J.L., 2001. A review of hepatitis E virus. *Journal of Food Protection*, 64, 572-586.
- Takahashi M., Nishizawa T., Tanaka T., Tsatsralt-Od B., Inoue J., Okamoto H., 2005. Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *Journal of General Virology*, 86, 1807-1813.
- Takahashi M., Nishizawa T., Miyajima H., Gotanda Y., Lita T., Tsuda F., Okamoto H., 2003. Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *Journal of General Virology*, 84, 851-862.
- Tamada Y., Yano K., Yatsuhashi H., Inoue O., Mawatari F., Ishibashi H., 2004. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *Journal of Hepatology*, 40, 869-870.
- Tanaka T., Takahashi M., Kusano E., Okamoto H., 2007. Development and evaluation of an efficient cell-culture system for Hepatitis E virus. *J Gen Virol*, 88, 903-911.
- Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S., 2003. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*, 362, 371-373.
- Tsarev S.A., Tsareva T.S., Emerson S.U., Rippey M.K., Zack P., Shapiro M., Purcell R.H., 1995. Experimental hepatitis E in pregnant rhesus monkeys: Failure to transmit hepatitis E virus (HEV) to offspring and evidence of naturally acquired antibodies to HEV. *Journal of Infectious Diseases*, 172, 31-37.
- Walachowski S., Dorenlor V., Lefevre J., Lunazzi A., Eono F., Merbah T., Eveno E., Pavio N., Rose N., 2013. Risk factors associated with hepatitis E virus contamination of livers and seroprevalence in slaughter-age pigs: a retrospective study in 90 swine farms in France. *Epidemiology and Infection*, in press.
- Wenzel J.J., Preiss J., Schemmerer M., Huber B., Plentz A., Jilg W., 2011. Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates. *J Clin Virol*, 52, 50-54.