

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2020

THÈSES 2020 TOU3 2058

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Obtenu après soutenance du
MÉMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement
Par

MICAS Florence
Née le 18 avril 1993 à Toulouse (31)

**PATHOGENÈSE DU GÉNOTYPE 4 DU VIRUS DE
L'HÉPATITE E CHEZ L'IMMUNOCOMPÉTENT**

Le 6 Novembre 2020

Directeur de thèse : Mme le Docteur Florence ABRAVANEL

JURY

Président : Mr le Professeur Christophe PASQUIER
1^{er} assesseur : Mr le Professeur Jacques IZOPET
2^{ème} assesseur : Mr le Professeur Jean-Marie PERON
3^{ème} assesseur : Mr le Docteur Sébastien LHOMME

A Papi Pierre et Mamie Simone, que j'aurais tellement aimé connaître,

A Marie-Claire, Jean-Pierre et Michel,

Vous nous manquez,

J'aurais aimé que vous soyez présents aujourd'hui,

**PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 2 mars 2020**

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
Mme MULLER-STAUTMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires	Universitaires
M. CESTAC P. (*)	Mme ARELLANO C. (*)
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Mme AUTHIER H.
M. PUISSET F.	M. BERGE M. (*)
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Mme BON C.
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	M. BOUJILA J. (*)
Mme THOMAS F. (*)	M. BROUILLET F.
Pharmacie Clinique	Mme CABOU C.
Droit Pharmaceutique	Mme CAZALBOU S. (*)
Pharmacie Clinique	Mme CHAPUY-REGAUD S.
Pharmacie Clinique	Mme COLACIOS C.
Biochimie	Mme COSTE A. (*)
Pharmacologie	M. DELCOURT N.
	Mme DERAËVE C.
	Mme ECHINARD-DOUIN V.
	Mme EL GARAH F.
	Mme EL HAGE S.
	Mme FALLONE F.
	Mme FERNANDEZ-VIDAL A.
	Mme HALOVA-LAJOIE B.
	Mme JOUANJUS E.
	Mme LAJOIE-MAZENC I.
	Mme LEFEVRE L.
	Mme LE LAMER A-C.
	M. LEMARIE A.
	M. MARTI G.
	Mme MONFERRAN S.
	M. OLICHON A.
	M. SAINTE-MARIE Y.
	M. STIGLIANI J-L.
	M. SUDOR J. (*)
	Mme TERRISSE A-D.
	Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)
	Mme VANSTEELANDT M.
	Mme WHITE-KONING M. (*)
	Chimie Thérapeutique
	Parasitologie
	Bactériologie - Virologie
	Biophysique
	Chimie analytique
	Pharmacie Galénique
	Physiologie
	Pharmacie Galénique
	Bactériologie - Virologie
	Immunologie
	Parasitologie
	Biochimie
	Chimie Thérapeutique
	Physiologie
	Chimie Pharmaceutique
	Chimie Pharmaceutique
	Toxicologie
	Toxicologie
	Chimie Pharmaceutique
	Pharmacologie
	Biochimie
	Physiologie
	Pharmacognosie
	Biochimie
	Biochimie
	Pharmacognosie
	Biochimie
	Biochimie
	Physiologie
	Chimie Pharmaceutique
	Chimie Analytique
	Hématologie
	Pharmacie Galénique
	Pharmacognosie
	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires	
Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Assistants Hospitalo-Universitaires	
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique

Remerciements

A Madame le Docteur Florence Abravanel,

Je te remercie de m'avoir confié ce sujet de thèse et de m'avoir encadrée tout au long de ce travail. Merci infiniment pour ta disponibilité, pour ta réactivité, pour ta bienveillance et pour ton esprit synthétique ! Ce fut un réel plaisir de travailler avec toi.

A Monsieur le Professeur Christophe Pasquier,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Merci aussi pour vos enseignements à la faculté de Pharmacie qui m'ont donné goût à l'infectiologie. Enfin, je vous remercie de nous avoir permis d'effectuer un stage d'externat à l'hôpital d'Haiphong, une expérience inoubliable.

A Monsieur le Professeur Jacques Izopet,

Je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse ainsi que de m'avoir guidée dans ce travail, en donnant votre avis précieux tout au long de l'écriture de l'article.

A Monsieur le Docteur Sébastien Lhomme,

Je te remercie d'avoir accepté d'être membre de ce jury afin de participer à la critique de ce travail. Je te remercie aussi pour les conseils que tu m'as donnés au début de mon travail de rédaction.

A Monsieur le Professeur Jean-Marie Péron,

Je vous remercie de me faire l'honneur d'avoir accepté de siéger dans ce jury, et d'apporter votre expertise clinique à ce travail.

Merci au Docteur Chloé Dimeglio,

Je te remercie pour ton aide précieuse dans l'analyse des données, et des statistiques.
Merci aussi pour le temps que tu m'as accordé.

Un grand merci aux biologistes et aux techniciens qui m'ont permis d'apprendre mon métier, et notamment aux services de Virologie-Bactériologie-Hygiène et d'Hématologie du CHU de Toulouse, d'Hématologie et de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de Limoges, et de Biochimie et de Parasitologie-Mycologie du CHU de Bordeaux. Merci pour votre temps, pour votre confiance, et pour la diversité des disciplines que vous nous avez enseignées sur le terrain. Merci aussi de nous avoir impliqués dans la gestion d'une crise sanitaire et de nous avoir montrés qu'avec une équipe soudée, tout est possible.

Merci à mes co-internes, avec lesquels j'ai eu la chance d'avoir une très bonne entente, quelque soit le stage et la ville. Merci à vous d'avoir été bienveillants, motivés et solidaires quelque soient les circonstances. A Mouaffak, Paola, Pauline, Marc, Virgo, Camille, Marie, Guigui, Claudia, Ludivine S, Mélanie, Thomas, Juliette, Marine, Orancie, Delphine, Aude, Imane, Julie, Dori, Alban, Théo, Maximin, Pico, Caro, Vicos, Maxime, Nico, Etienne et tous ceux que j'oublie !!!

A mes parents,

Je vous dédie cette thèse. Quelques mots ne suffiront pas pour vous remercier. Merci pour l'éducation que vous nous avez donnée, merci pour tout votre amour. Merci pour le soutien inconditionnel que vous m'avez apporté tout au long de mes études, sur tous les plans, et malgré mes humeurs ! Vous êtes formidables. Je vous aime.

A mon petit frère, Thibault,

A notre enfance, à nos fous rires, à nos disputes. Tu resteras toujours mon petit frère d'amour ! Je suis tellement fière du jeune homme que tu es devenu, et heureuse de te voir t'épanouir dans la voie que tu as choisie. Je te souhaite le meilleur avec la jolie Chloé.

A Papi et Mamie,

Merci à mes grands parents adorés de nous avoir toujours chéris et gâtés. Merci pour ces beaux souvenirs gravés, depuis notre tendre enfance et jusqu'à aujourd'hui. Je vous aime.

A mes oncles et tantes, Dominique, Sylvette, Sylvie, Jean-Didier, Serge et Sophie,

A mes cousins, Stéphane, Fabrice, Laurène, Julie, Guillaume, Marie et Antoine,

A mes petits-cousins, Alex, Jérémy, Elsa, Annabel et Eloïse,

Merci pour tous ces souvenirs inoubliables et ces week-ends/vacances passés ensemble. J'aimerais tellement vous voir plus souvent. Déçue que la crise sanitaire actuelle rende impossible le fait de se réunir aujourd'hui...

A mon Parrain,

Que de beaux souvenirs avec toi à Soueich....les chevaux, les champignons, les jeux de société....et le vélo sans les roulettes ! Je pense bien à toi aujourd'hui.

A ma Marraine,

Merci d'avoir toujours été présente pour moi, pour tous ces fous rires ensemble, et de m'avoir peut être influencée dans le choix de mes études.... !

A ma jolie petite filleule, Eloïse,

Je suis très fière d'être la marraine d'une adorable petite fille comme toi. Je te souhaite le meilleur, et j'espère y veiller.

Aux Familles Roux, Rozes, Bonneil, Diaz, et Braure,

Merci pour ces beaux moments passés avec vous tous depuis mon plus jeune âge, et pour tous ceux à venir. Vous faites partie de ma famille.

A Elisabeth et à Jean-François,

Merci de votre générosité, et pour tous ces bons moments partagés.

A mes Rachou, Fla, Plouma et Roro

Une amitié de longue date - de nos soirées pyjama à notre vie d'adulte - merci d'être à mes côtés, de près ou de loin, dans les étapes de la vie. Je suis fière de voir les femmes heureuses et épanouies que vous êtes devenues.

A Lucy, Gil et Lisa,

Que de bons moments ensemble....je pense souvent à vous, malgré le temps qui passe, la distance géographique, et nos vies mouvementées qui font qu'on a moins de temps ! J'espère que le temps nous permettra de vite se retrouver !

A mes Chouch, Cam, Zou et Piapiou,

Mes amours de copines. Quelques mots ne suffiront jamais à décrire notre amitié, surtout que si je citais les premiers qui me viennent à l'esprit - cataraaaacte, « donnez moi 100 000 euros », sudoku, ou encore truffe - ce serait bizarre...De nos plus beaux voyages à travers Toulouse (oui, oui c'est la mégalopole européenne), la France, l'Europe ou le monde, à nos plus gros fous rires, je suis heureuse de devenir croûton à vos côtés. Je vous souhaite le meilleur.

A mes Cécé, Clacla, Zam, Lénou, Mélou, et Loulou,

A ces copines extraordinaires rencontrées sur les bancs de la fac de Pharma...Tout a commencé durant nos TPs, nos soirées, nos vacances, nos soirées (*bis repetita*), et vous êtes maintenant des copines pour toujours ! Un mélange parfait de pharmaciennes d'officine, en industrie, en pharmacie hospitalière et en biologie médicale, à Toulouse, Marseille, Montpellier ou sur l'île de Beauté, avec en prime un bébé et un mariage à venir! On n'a pas encore tqqqrente-deux ans, mais on s'en rapproche non Lénou ?

A ma Picotte,

De nos soirées karting pour nos 12 ans, à notre vie de biologiste, le destin nous a toujours rassemblées. Tu es une personne en or, apaisante et rassurante. Je te souhaite le meilleur.

Aux Pharmaciens toulousains, Coco, Valentine, Aurélien, Romain, Laura, Benjamin, Arthur, Andréa, Claire, et tous ceux que j'oublie

Merci pour ces belles années d'études, que je n'oublierai jamais ! Une mention toute particulière à celui que j'ai torturé, pour sa patience, merci Bengigi.

A cette belle première année d'internat limougeaude, et à tous ceux qui l'ont rendue inoubliable.

Aux GO pharmaciens/dentistes, Paola, Charlotte, Claudia, Renan, Séb, Théo, JB, Soline, PA, toujours prêts à nous servir un aligot-saucisse au top ou à faire 5000 crêpes dans la soirée. Merci aux médecins aussi, à Ariane, Esther et les autres, pour votre bonne humeur et pour vos consultations minutes toujours parfaites !

A cette année bordelaise,

Et notamment à mes co-internes adorables, à ma tech préférée Gugu et à la coloc ! Une année appréciable mais qui m'a quand même montré qu'on ne peut pas être Toulousain ET Bordelais à la fois, faut choisir.....

Au retour ToulousainG, et à ces belles rencontres

A mes formidables Orancie, Marine, Cécile et Imane, excellentes collègues de travail et de fous rires !

A Lulu, qui m'a suivie de Limoges à Toulouse en passant par Bordeaux, toujours motivée pour faire des soirées culturelles, culinaires ou œnologiques/houbloniques après une grosse journée de travail !

A mon retour dans le Limousin, à ces formidables (re)découvertes, et surtout au PF®. A Lélé, à Chacha et à Caro, les piliers de ce semestre formidable, sans qui rien n'aurait été pareil ! A Vicos le Tacos, à ma cousine Cuenca, à Anissa, à Tim, à Camille, à Matéo, à Julien Bosch, à Wasfi, à Marwan, à Ernest, à Gom et à tous les autres !

Et surtout, à toi Loulou, Benoît,

Merci de partager ma vie, mes joies, mes peines, nos voyages, et nos projets. Très heureuse de débiter ce semestre avec toi dans la ville rose. Merci aussi pour ton soutien et pour les relectures. Je t'aime mon coeur.

Table des matières

REMERCIEMENTS	5
TABLE DES ILLUSTRATIONS	12
ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION GÉNÉRALE	15
INTRODUCTION.....	16
I. HISTORIQUE	17
II. VIROLOGIE	18
1. <i>Classification</i>	18
2. <i>Caractéristiques du virus</i>	21
3. <i>Tropisme tissulaire et réplication virale</i>	24
III. EPIDEMIOLOGIE	27
1. <i>Répartition mondiale des différents génotypes</i>	27
2. <i>Epidémies liées au péril fécal</i>	30
3. <i>L'hépatite E de transmission zoonotique</i>	31
4. <i>L'hépatite E de transmission nosocomiale</i>	31
5. <i>Epidémiologie en France</i>	32
IV. MANIFESTATIONS CLINIQUES DE L'INFECTION PAR LE VHE.....	34
1. <i>L'hépatite E aiguë</i>	34
A. Chez l'immunocompétent.....	34
B. Chez les patients ayant une pathologie hépatique préexistante.....	35
C. Chez l'immunodéprimé.....	36
D. Chez la femme enceinte	36
2. <i>L'hépatite E chronique</i>	37
A. Patients ayant reçu une transplantation d'organe solide.....	38
B. Patients atteints d'hémopathies malignes.....	39
C. Patients infectés par le VIH.....	39
3. <i>Manifestations extra-hépatiques</i>	40
A. Manifestations neurologiques	40
B. Manifestations hématologiques.....	42
C. Manifestations rénales.....	43
D. Autres manifestations.....	44
V. METHODES DIAGNOSTIQUES	45
1. <i>Cinétique des marqueurs de l'infection</i>	45
2. <i>Algorithme diagnostique de l'hépatite E</i>	46
3. <i>Diagnostic direct</i>	48
A. Par biologie moléculaire.....	48
B. Par détection de l'antigène de capsid e.....	49
4. <i>Diagnostic indirect</i>	50
A. Antigènes utilisés.....	51
B. Méthodes utilisées.....	51
5. <i>Séquençage du génome</i>	52
VI. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE	53
1. <i>Chez le patient immunocompétent</i>	53
2. <i>Chez le patient immunodéprimé</i>	54
A. La ribavirine	56
B. L'interféron alpha-pegylé	59
VII. PREVENTION	59
1. <i>Dans les pays en développement</i>	59

2. Dans les pays industrialisés.....	60
TRAVAIL PERSONNEL	62
I. INTRODUCTION	63
II. OBJECTIF DE L'ETUDE.....	64
III. SÉVÉRITÉ DU GÉNOTYPE 4 DE L'HEPATITE E EN EUROPE : ETUDE	65
CONCLUSION	80
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	83

Table des illustrations

FIGURES

Figure 1 – Arbre phylogénétique de la famille des *Hepeviridae* établi à partir du séquençage du génome viral complet d'après (14) *Page 19*

Figure 2 – Génotypes du VHE et hôtes, d'après Nimgaonkar et al (17) *Page 20*

Figure 3 – Génome du VHE, d'après Kamar et al (1) *Page 22*

Figure 4 – Cycle de réplication du VHE d'après Lhomme et al (14) *Page 26*

Figure 5 – Répartition des génotypes du VHE dans le monde (1) *Page 29*

Figure 6 – Séroprévalence d'anti IgG ou d'anti IgM VHE selon les régions (41) *Page 33*

Figure 7 – Evolution des marqueurs du VHE lors d'une infection aigue d'après Izopet et al (98) *Page 46*

Figure 8 – Algorithme diagnostique d'une hépatite E aigue d'après Izopet et al (98) *Page 47*

Figure 9 – Algorithme thérapeutique de l'hépatite E chronique d'après les recommandations de l'EASL Clinical Practice Guidelines sur l'infection par le VHE (2) *Page 55*

TABLE

Table 1 – Characteristics of the patients according to HEV genotype *Page 75-76*

Abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ALAT : ALanine Amino-Transférerase

ASAT : Aspartate Amino-Transférerase

Asn : Asparagine

ARN : Acide Ribonucléique

CNR : Centre National de Référence

CD4 : Cluster de Différenciation 4

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ESCRT : Endosomal Sorting Complexes Required for Transport

GMP : Guanosine MonoPhosphate

GMSI : Gammapathie Monoclonale de Signification Indéterminée

GTP : Guanosine TriPhosphate

G6PD : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase

IFN- α PEG : Interféron-alpha Pégylé

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

IMPDH : Inosine-5'-MonoPhosphate Déshydrogénase

IRA : Insuffisance Rénale Aiguë

Kb : kilobase

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LT : Lymphocyte T

LTH1 : Lymphocyte T Helper (ou auxiliaire) de type 1

LTH2 : Lymphocyte T Helper (ou auxiliaire) de type 2

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORF : Open Reading Frame

PEG : Polyéthylène glycol

PPR : région de la polyproline

PrEP : Prophylaxie pré-exposition au VIH

RT-LAMP : Reverse Transcription Loop Isothermal Amplification

RT-PCR : Reverse transcription Polymerase Chain Reaction

SMRT Sequencing : Single-Molecule Real-Time Sequencing

SNC : Système Nerveux Central

SNP : Système Nerveux Périphérique

TMA : Transcription Mediated Amplification

TP : Taux de Prothrombine

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

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction

L'hépatite E est la première cause d'hépatite virale dans le monde avec plus de 20 millions de nouveaux cas d'infections chaque année dont environ 70 000 décès par an. En Europe, elle représente 2 millions de cas par an d'infections acquises localement (1)(2). En France, en 2018, 2642 cas ont été répertoriés dont 99 % de cas autochtones (3).

Le virus de l'hépatite E (VHE) est l'un des cinq virus humains, responsables d'hépatites, connus aux côtés des virus des hépatites A, B, C et D. Cependant, il est le seul virus hépatotrope ayant un réservoir animal. C'est un virus non enveloppé, composé d'un ARN simple brin, appartenant au genre des *Orthohepevirus* et à la famille des *Hepeviridae*. Il existe 4 génotypes majeurs différents qui ont des répartitions géographiques et des hôtes différents : les génotypes 1 et 2 strictement humains et les génotypes 3 et 4 à transmission zoonotique (4). Ainsi, deux voies de contamination se distinguent selon les zones géographiques.

En effet, dans les pays en développement, l'hépatite E est une maladie liée au péril fécal, notamment transmissible par ingestion d'eau souillée. Dans ces régions du monde, les génotypes VHE 1 et 2 entraînent de grandes épidémies. Les sujets jeunes sont souvent symptomatiques, et une mortalité élevée est observée chez les femmes enceintes.

A l'inverse, dans les pays industrialisés dont la France, les génotypes VHE 3 et 4 prédominent et sont responsables d'hépatites sporadiques, à transmission zoonotique notamment via la consommation de viande porcine. La population symptomatique est plus âgée, et il existe des formes chroniques chez les patients immunodéprimés pouvant évoluer

vers une cirrhose. Dans près de 20% des cas des infections, des symptômes extra-hépatiques comme des atteintes neurologiques, rénales ou hématologiques sont rapportés.

Dans la majorité des cas, l'hépatite E est une infection bénigne, souvent sous diagnostiquée car peu ou pas symptomatique. Elle ne nécessite pas de traitement spécifique, sauf dans les formes chroniques de l'immunodéprimé pour lesquelles un traitement par ribavirine peut être instauré.

La prévention de l'hépatite E est essentielle. Dans les pays en développement, elle repose sur des mesures d'hygiène strictes, associées à une amélioration des infrastructures et notamment des réseaux d'assainissement. Dans les pays industrialisés comme la France, la cuisson à cœur de la viande de porc permettrait de limiter la transmission du virus. Aujourd'hui, aucun vaccin anti-hépatite E n'est commercialisé en France. Deux vaccins ont été testés au Népal (vaccin rHEV) et en Chine (vaccin HEV239), avec une efficacité proche de 100% dans la prévention des formes symptomatiques d'hépatite E, mais l'utilisation du vaccin HEV239 n'a été approuvée que par la Chine à l'heure actuelle (4).

I. Historique

Après la découverte du virus de l'hépatite A et B dans les années 1960-1970, d'autres cas d'hépatites virales aux sérologies VHA et VHB négatives, ont été qualifiées d'hépatites « non A non B », de l'anglais *NANBH (Non-A Non-B hepatitis)*. Au sein de cette entité « non-A non-B », les formes cliniques, les modes de transmission, et l'épidémiologie divergent.

Ainsi, en 1989, le virus de l'hépatite C, responsable d'hépatites chroniques transmissibles par voie parentérale a été découvert (5).

Par ailleurs, le virus de l'hépatite E, a été décrit entre novembre 1978 et avril 1979, dans une épidémie d'hépatite virale aigue non-A non-B touchant 1.65% de la population dans la vallée du Cachemire. Le mode de transmission était entérique, par consommation d'eau contaminée. La plupart des infections étaient bénignes et résolutives, excepté des cas d'hépatites fulminantes décrites (4%) survenant notamment chez des femmes enceintes (6).

Le virus de l'hépatite E (VHE) a ensuite été observé pour la première fois en 1983 par le Docteur Balayan en microscopie électronique, dans ses propres selles, après s'être infecté volontairement par ingestion de selles de patients malades (7). Le génome viral a ensuite été séquencé en 1990, dans la bile de macaques infectés expérimentalement (8). L'année suivante, en 1991, l'identification d'épitopes spécifiques au virus a permis le développement de la recherche d'anticorps anti-VHE (9).

II. Virologie

1. Classification

Le virus de l'hépatite E appartient à la famille des *Hepeviridae*, aujourd'hui divisée en deux genres : les *Orthohepevirus* responsables d'infections chez les mammifères et chez les oiseaux et les *Piscihepevirus* responsables d'infections chez les poissons et notamment chez la truite (10). Au sein des *Orthohepevirus*, plusieurs espèces sont décrites en fonction des hôtes infectés :

- ↗ *Orthohepevirus* A : mammifères (humains, porcs, cerfs, sangliers, lapins, camélidés)
- ↗ *Orthohepevirus* B : oiseaux (hépatosplénomégalias décrites chez les poulets)
- ↗ *Orthohepevirus* C : rats, furets, musaraignes...

📌 *Orthohepevirus D* : chauve-souris

Le VHE, infectant l'Homme, appartient donc au genre des *Orthohepevirus A*. Cependant, récemment, des cas d'hépatites à *Orthohepevirus C* ont été rapportés chez des patients immunodéprimés (11) mais aussi immunocompétents (12). Suite à ces *case-reports*, une étude approfondie (13) menée à Hong Kong chez 2860 patients, a permis de détecter l'ARN viral du VHE-C chez 7 d'entre eux. L'hépatite à VHE-C pourrait donc constituer une zoonose émergente.

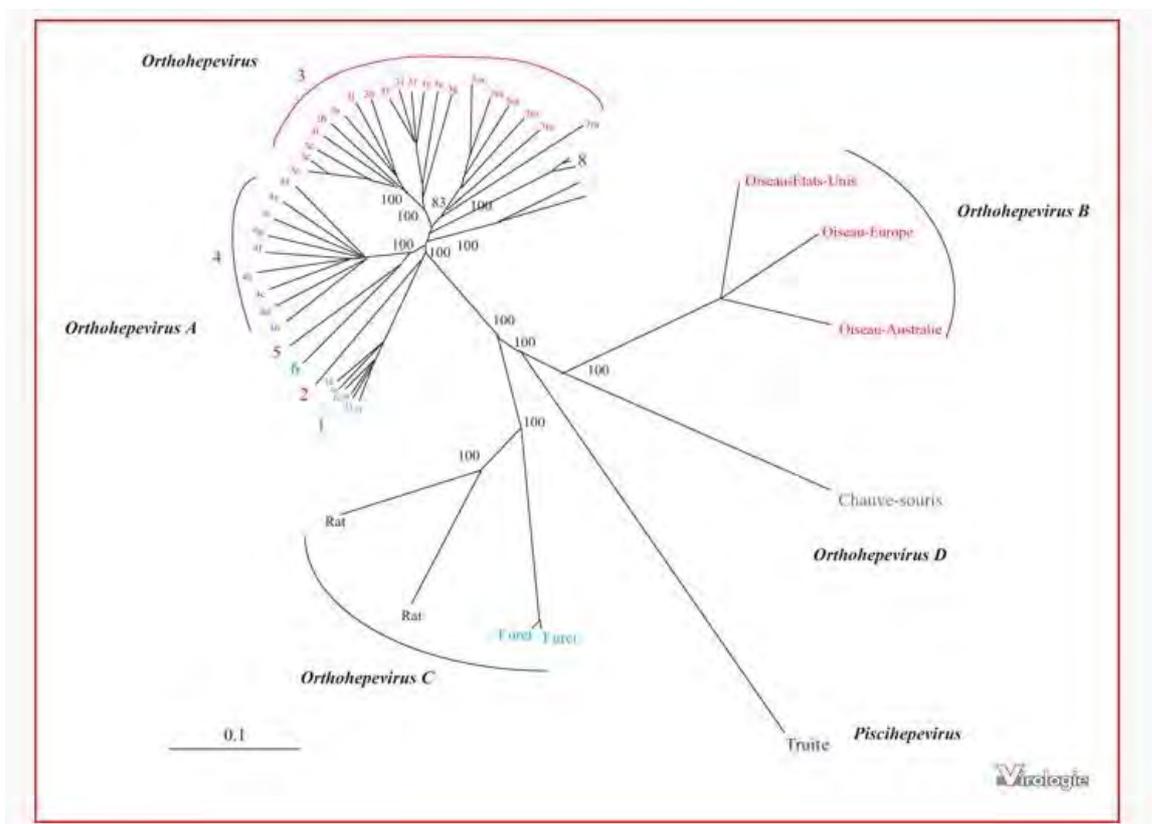


Figure 1 : Arbre phylogénétique de la famille des *Hepeviridae* établi à partir du séquençage du génome viral complet (14)

Plusieurs génotypes sont retrouvés dans l'espèce Orthohepevirus A (15) :

- ↗ Les VHE 1 et 2 infectant uniquement l'espèce humaine
- ↗ Les VHE 3 et 4, zoonotiques, infectent l'espèce humaine mais aussi des mammifères comme les porcs, les lapins, les cervidés et les sangliers
- ↗ Les VHE 5 et 6 infectant les sangliers
- ↗ Les VHE 7 et 8 infectant les camélidés. Cependant, un cas d'infection humaine par le génotype 7 a été rapporté chez l'Homme, dans un contexte de consommation de viande et de lait de camélidé par un patient transplanté hépatique (16).

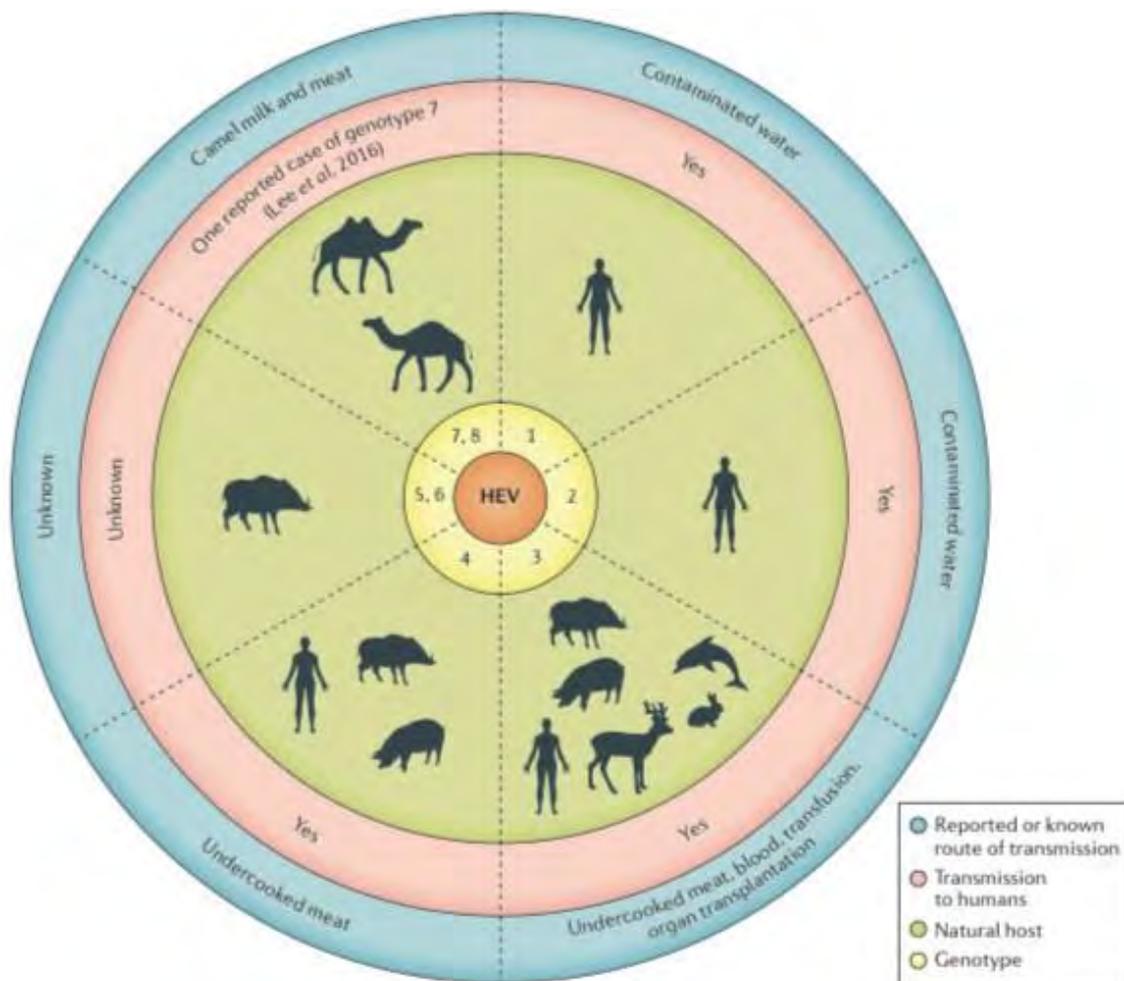


Figure 2. Génotypes du VHE et hôtes, d'après Nimgaonkar et al (17).

Des sous-types ont également été identifiés au sein des génotypes VHE 1, 2, 3 et 4 et leur dénomination s'effectue par comparaison avec des séquences de référence (18). Les sous-types 1*a* à 1*g* pour le génotype 1, les sous-types 2*a* et 2*b* pour le génotype 2, et les sous-types 4*a* à 4*i* pour le génotype 4. Pour le génotype 3, les sous-types 3*a*, 3*b*, 3*c*, 3*h*, 3*i* et 3*j* forment un clade majeur, alors que les sous-types 3*e*, 3*f* et 3*g* en forment un autre. Les souches les plus divergentes dérivées du lapin sont rangées dans le sous-type 3*ra*. Très récemment, de nouveaux sous-types, 3*k*, 3*l* et 3*m* (anciennement 3*chi-new*), ont été ajoutés à la nomenclature et rejoignent le clade *abchij* (18).

En France, une étude récente (19) a montré que les génotypes circulant le plus couramment sont les génotypes 3*f* (62%), 3*c/i* (25,5%) mais aussi, le 3*h* (4.1%) et le 3*e* (2%). Le sous-type 3*m* représente 4.8% des souches circulantes séquencées en France entre 2012 et 2017. Ainsi, en France, après 2012, on note une diminution du clade 3*efg* au profit du clade 3*abchij*. La répartition des sous-types retrouvés est différente dans chacun des pays européens à un temps donné, et reflète alors la distribution des sous-types de VHE dans les réservoirs porcins de chacun d'entre eux au même moment. En effet, la distribution de ces sous-types chez l'Homme est assez comparable à celle retrouvée chez les porcs, et une similitude de plus de 99% entre des séquences de VHE humaines et porcines a pu être retrouvée (20).

2. Caractéristiques du virus

Le virus de l'hépatite E est un virus à capsidre icosaédrique, de 27 à 33 nanomètres de diamètre, et comprend un ARN monocaténaire de polarité positive, comportant environ 7.2 kb. Initialement décrit comme non enveloppé, le VHE tout comme le VHA, est en réalité un virus « quasi-enveloppé ». En effet, le virus est excrété nu dans les selles des hôtes infectés

mais les virions circulants dans le sang ou excrétés dans les urines sont associés à une membrane lipidique entourant la capsid (particules eHEV). Le virus n'est donc pas proprement enveloppé puisqu'il ne code pas pour des protéines d'enveloppe. Cependant, cette membrane lipidique pourrait être impliquée dans la protection du virus vis-à-vis des anticorps neutralisants (21). L'enveloppe lipidique est détruite par l'action détergente des sels biliaires lors du passage des virions dans la bile, avant l'excrétion sous forme de virus nu dans les selles.

L'ARN viral est constitué d'une séquence non codante en 5' avec une coiffe 7-méthylguanosine, de trois cadres de lectures se chevauchant partiellement, nommés Open Reading Frames (ORF-1, ORF-2, et ORF-3) et d'une courte séquence non codante en 3' avec une queue poly A (1).

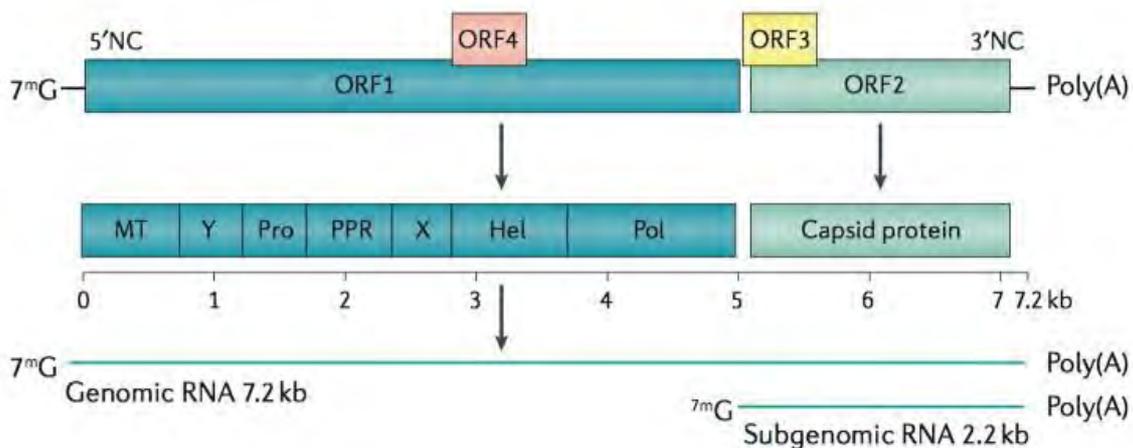


Figure 3 – Génome du VHE, d'après Kamar et al (1)

ORF-1 : MT (méthyltransférase) ; Y (domaine Y) ; Pro (cystéine protéase papaine-like) ; PPR (région hypervariable ou région riche en proline) ; X (macro-domaine X) ; Hel (hélicase à ARN) ; Pol (ARN polymérase ARN dépendante).

ORF-2 : code pour la protéine de capsid divisée en trois domaines S (Shell), M (Middle) et P (Protruding), et comporte trois sites de glycosylation (Asn 137, Asn 310 et Asn 562)

ORF-3 : code pour une petite protéine multifonctionnelle incluant des régions hydrophobes et des régions riches en proline

L'ORF-1 code pour une protéine non structurale d'environ 1700 acides aminés impliquée dans la réplication de l'ARN du VHE. Elle comprend plusieurs domaines fonctionnels : une méthyltransférase, une cystéine protéase ayant une activité comparable à celle de la papaïne, une hélicase à ARN avec une activité 5' nucléoside triphosphatase et une ARN polymérase ARN dépendante. De plus, on retrouve trois autres régions dont la fonction n'est pas élucidée : le domaine Y, le macro-domaine X et la région hypervariable (PPR). Cette dernière, aussi appelée région riche en proline (PPR) est une partie désordonnée dans laquelle on peut retrouver des séquences génomiques humaines, et des duplications ou insertions de parties d'ORF-1 (1). Une structure semblable à celle de l'ORF-1 est retrouvée dans le génome d'autres virus à ARN de polarité positive et à simple brin, comme le virus de la rubéole (22).

L'ORF-2 code pour une protéine de capsid, comportant 660 acides aminés et possédant trois sites de glycosylation (Asn 132, Asn 310 et Asn 562), ainsi qu'une région amino-terminale permettant sa translocation dans le réticulum endoplasmique (23). L'ORF-2 comprend trois domaines : S (shell), M (middle) et P (protruding). Après la traduction, les monomères de protéine de capsid s'assemblent pour former des décamères pouvant alors encapsuler l'ARN viral.

Le domaine P de la protéine de capsid a une importance capitale du fait qu'il soit la principale cible des anticorps neutralisants mais aussi parce qu'il permet l'interaction avec la cellule cible (24).

Pour une même séquence génomique, une étude récente de Montpellier et al (25) a mis en évidence l'existence de différentes formes de la protéine de capsid sur des modèles de culture cellulaire du VHE de génotype 3. En effet, les deux formes majeures de l'ORF-2,

glycosylées, sont sécrétées et pourraient servir de leurre aux anticorps neutralisants. Seule une seule forme, non glycosylée et minoritaire, est associée à la particule infectieuse.

L'ORF-3 chevauche en partie l'ORF-2 et code pour une petite protéine de 113 acides aminés pour le génotype 3 et de 114 acides aminés pour les génotypes 1, 2, et 4. L'ORF-3 code pour un canal ionique ayant un rôle de viroporine (26). Elle est essentielle à la sortie du virus de la cellule infectée par bourgeonnement en s'associant aux lipides à la surface du virus « quasi-enveloppé ». En effet, l'ORF-3 est présente au niveau des virions du VHE libérés par les cellules infectées mais n'est pas retrouvée sur les particules nues de VHE présentes dans les selles de patients infectés (27).

L'ORF-1 du VHE de génotype 1 comporte une ORF supplémentaire, **l'ORF-4**, exprimée après un stress au niveau du réticulum endoplasmique et qui permettrait de stimuler l'activité polymérase virale et donc la réplication virale (28).

3. Tropisme tissulaire et réplication virale

Le VHE est un virus hépatotrope, infectant les hépatocytes. Mais la détection d'ARN de polarité négative, intermédiaires de réplication, dans d'autres tissus tels que l'intestin grêle, le côlon ou les ganglions lymphatiques chez le porc (29) ainsi que la présence de cellules infectées dans le tissu rénal chez le singe (30) démontre que le virus peut se répliquer dans d'autres tissus que le foie. Le VHE pourrait aussi se répliquer dans le système nerveux central puisqu'un cycle viral entier a été obtenu dans des oligodendrocytes (31). Ceci pourrait donc expliquer les signes extra-hépatiques parfois retrouvés au cours d'une hépatite aigüe à VHE.

De même, la sévérité du tableau clinique chez les femmes enceintes, pourrait être expliquée par une réplication active du VHE dans le placenta, comme l'a démontré la mise en évidence de brins négatifs d'ARN viral dans ces tissus (32). Ceci a été confirmé par une étude menée *ex vivo* (33) révélant que le génotype 1, largement impliqué dans les hépatites fulminantes de la femme enceinte, entraînait une réplication virale ainsi qu'une sécrétion de cytokines favorisant les lésions tissulaires plus importantes que le génotype 3 dans les explants placentaires. Ainsi, le VHE-1 induirait une augmentation de la sécrétion locale de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, CCL-3, CCL4, etc) et une diminution de production de CXCL10 (nécessaire à la placentation du fœtus) et des interférons de type III (inhibant la réplication virale), favorisant ainsi la nécrose tissulaire.

Le VHE a donc pour porte d'entrée la voie orale, avec une réplication initiale dans les entérocytes, puis atteint le foie par voie hématogène *via* la veine porte, sous forme « quasi enveloppée » (34). Au cours de la réplication dans les hépatocytes, le VHE va être excrété dans le sang et dans la bile, puis éliminé dans les selles. Le virus peut aussi être retrouvé dans les urines (30).

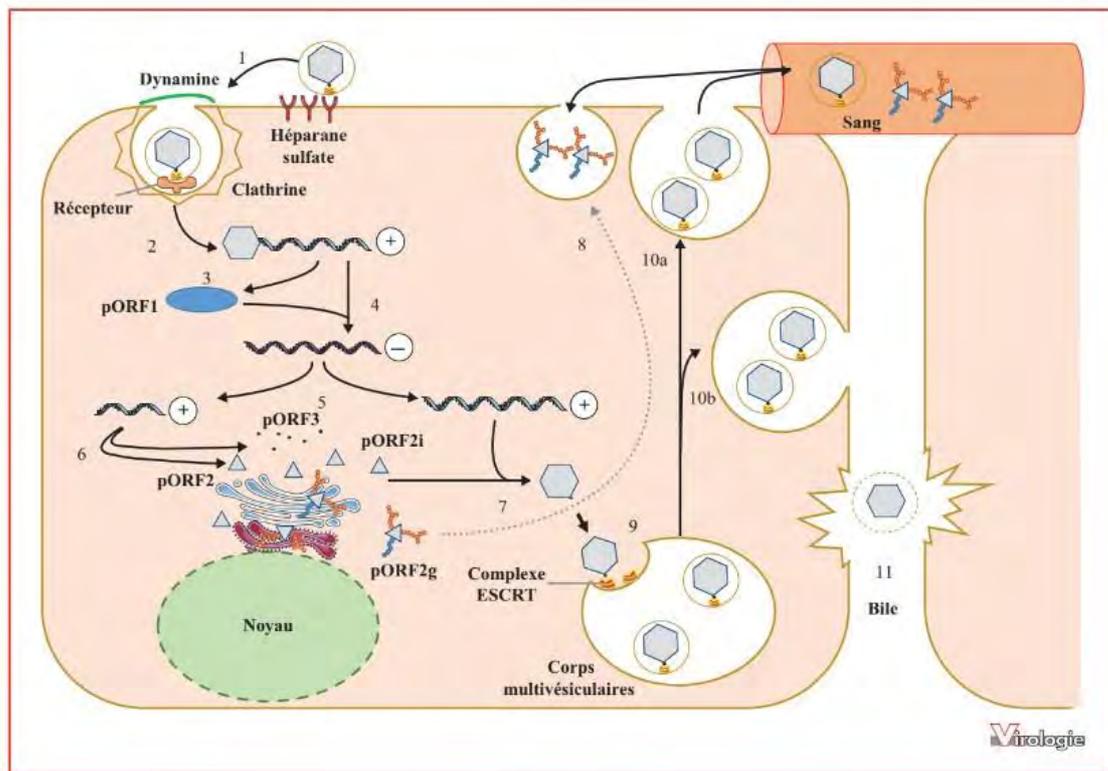


Figure 4 – Cycle de réplication du VHE d’après Lhomme et al (14)

pORF2i : forme non glycosylée d’ORF-2 ; *pORF2g* : forme glycosylée d’ORF-2 ; *ESCRT* : endosomal sorting complexes required for transport

La réplication virale est intra-cytoplasmique. Le VHE nu et le VHE « quasi-enveloppé » ont des mécanismes différents d’entrée dans la cellule, mais le récepteur d’entrée du VHE est toujours inconnu. Le virus de l’hépatite E interagit avec la cellule-cible via l’héparane sulfate par l’intermédiaire de l’ORF-2 (35), puis se fixe sur un récepteur de haute affinité non identifié, et pénètre enfin dans la cellule par endocytose dépendante de la clathrine et de la dynamine-2 mais aussi du cholestérol (36).

Après l’entrée dans la cellule, il semblerait que l’enveloppe du VHE soit dégradée par le lysosome ; la décapsidation, elle, semble être indépendante du pH. L’ARN viral est alors rapidement libéré. La polyprotéine ORF1 est traduite à partir du brin positif de l’ARN viral, via la machine de traduction de l’hôte (37), ce qui permet la synthèse de l’ARN polymérase

ARN dépendante. Cette dernière va donc transcrire l'intégralité de l'ARN viral de polarité positive en ARN de polarité négative. Ce dernier va ensuite servir de matrice pour la transcription d'ARN viral de polarité positive, génomique et sub-génomique (36). L'ARN sub-génomique, plus court (2.2 kb), code pour les protéines ORF2 et ORF3. Celui-ci va donc permettre la traduction de ces deux protéines (36). L'ARN génomique, quant à lui, est encapsidé dans de nouveaux virions.

Après l'assemblage des particules virales, ORF3, de par son motif d'acides aminés *PSAP* (Proline-Sérine-Alanine-Proline) conservé chez toutes les souches de VHE, interagit avec, entre autres, les protéines Tsg 101 (protéine du gène 101 de la susceptibilité aux tumeurs) du complexe ESCRT, et permet alors le bourgeonnement des virions et l'exocytose dans le sang et dans les canaux biliaires (38). Les virions libérés sont associés à des lipides et donc « quasi-enveloppés ».

III. Epidémiologie

Les infections par le VHE surviennent dans différents contextes selon les régions du monde. En effet, dans les pays en développement où les mesures d'hygiène et de lutte contre le péril fécal sont précaires, de grandes épidémies à VHE sont à déplorer. Par ailleurs, dans le monde entier, des cas sporadiques d'hépatite E de transmission zoonotique, sont retrouvés.

1. Répartition mondiale des différents génotypes

Les génotypes 1 et 2 du VHE sont responsables d'épidémies le plus souvent hydriques dans diverses régions du monde, notamment en Asie, en Afrique et au Moyen-Orient. Le génotype 2 n'a été retrouvé qu'en Afrique, et ponctuellement au Mexique lors d'une épidémie

dans les années 1980. Ces deux génotypes sont responsables du fléau mondial qu'est l'hépatite E avec plus de 20 millions de nouveaux cas chaque année, dont 3,3 millions de cas symptomatiques et 44 000 décès en 2015 d'après l'OMS (39). Ces génotypes sont absents des pays industrialisés : dans ces régions, toutes les infections à VHE 1 et 2 retrouvées sont associées à des voyages.

Les génotypes 3 et 4 du VHE sont, eux, retrouvés majoritairement dans les pays développés, ayant des structures sanitaires satisfaisantes pour éviter la contamination par voie hydrique, mais aussi dans les pays en développement. En effet, ces deux génotypes entraînent des cas sporadiques d'hépatite E par transmission zoonotique (ou parfois nosocomiale) du virus. Tandis que le génotype 3 est réparti sur la majorité des continents (Amérique du Nord et du Sud, Europe, Océanie, Russie ou Chine), le génotype 4 est retrouvé majoritairement en Asie, et notamment au Japon, en Chine, à Taiwan, en Corée du Sud ou à Hong Kong.

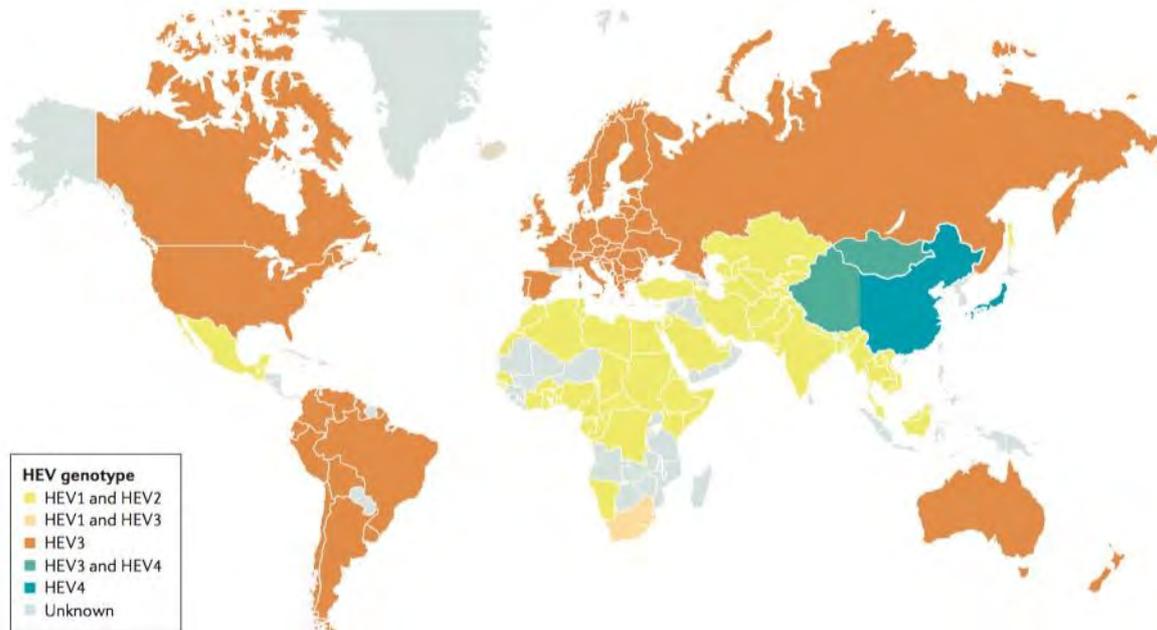


Figure 5 – Répartition des génotypes du VHE dans le monde (1)

En Europe, la prévalence de l'hépatite E dépend des régions. En effet, elle est hyper endémique dans le sud-ouest de la France avec une séroprévalence évaluée à 52.5% (40) et endémique sur l'ensemble du territoire français avec une séroprévalence de 22.4%(41) ; mais aussi en Allemagne (29.5%), aux Pays-Bas (27%), et en Suisse (20.4%) (19). Selon la même étude, l'hépatite E semble moins endémique (séroprévalence IgG < 20%) dans d'autres pays européens tels que l'Espagne (19.9%), l'Angleterre (12%), l'Italie (8.7%) ou encore l'Ecosse (4.7%). Cependant, une étude (42) montre qu'en Ecosse, et particulièrement à Edimbourg, cette séroprévalence évolue au fil du temps puisqu'elle est passée de 4.5% à en 2004-2008 à 9.3% en 2014-2015.

De même, l'épidémiologie mondiale semble évoluer au fil des décennies dans certains pays comme la Chine, de par une croissance économique rapide ainsi qu'avec l'amélioration de l'assainissement des eaux usées. En effet, en Chine, les grandes épidémies causées par le

VHE-1 ont été progressivement remplacées par des cas zoonotiques sporadiques dus au VHE-4 (43). Une étude a montré à la fois une augmentation de l'incidence de l'hépatite E entre 1997 et 2014 en Chine, et un âge plus avancé des sujets infectés symptomatiques. Le génotype 4 étant connu pour infecter des sujets plus âgés que le génotype 1, ces données peuvent évoquer une modification de l'épidémiologie locale, avec des infections plutôt liées à une transmission zoonotique qu'à une transmission hydrique (44). De plus, une autre étude menée en 2006-2007 dans une zone rurale à l'Est de la Chine a montré que 93.5% des hépatites E aiguës étaient liées au génotype 4 contre 6.5% d'infections liées au génotype 1 (45).

2. Epidémies liées au péril fécal

Dans les pays en développement, où les mesures d'hygiène collectives sont insuffisantes, le VHE est très endémique. En effet, la voie majeure de transmission est la consommation d'eau de boisson souillée par les fèces de personnes infectées par le VHE, puisque le virus est éliminé dans les selles *via* la bile. Les épidémies sont saisonnières, particulièrement pendant la saison des pluies. Les génotypes impliqués sont ceux infectant presque exclusivement l'espèce humaine, les génotypes 1 et 2 (46). En effet, les primates non humains peuvent être infectés par le génotype 1 du VHE, mais il n'existe pas, à ce jour, de transmission zoonotique de ce génotype connue (47). La séroprévalence du VHE en Asie et en Afrique est de 10 à 40%, et augmente avec l'âge (48).

Lors d'endémies, la population la plus touchée est constituée d'adolescents et de jeunes adultes (15-40 ans) de sexe masculin. La létalité est comprise entre 0.4 et 3%. Chez les enfants, les infections sont souvent asymptomatiques et donc probablement sous-estimées.

3. L'hépatite E de transmission zoonotique

Dans les pays développés comme dans les pays en développement, le VHE est responsable de cas sporadiques. Les patients symptomatiques sont souvent de sexe masculin et plus âgés (moyenne d'âge d'environ 50 ans) que dans les infections par les génotypes 1 ou 2. La contamination se fait majoritairement par transmission zoonotique. Ainsi, les facteurs de risque principaux d'infection sont le contact direct avec des animaux infectés de par certaines professions ou loisirs (vétérinaires, éleveurs, chasseurs) ou la consommation d'aliments contaminés comme la viande crue ou pas assez cuite, et en particulier les produits à base de foie cru de porc (41). En effet, plusieurs travaux ont permis de confirmer l'homologie entre les souches virales retrouvées à la fois chez l'Homme et au niveau de la charcuterie ingérée impliquée dans la contamination (49)(50). Les fruits de mer (moules, huîtres), ainsi que l'eau courante semblent aussi constituer des sources de contamination par le VHE. En effet, une étude française a démontré une séroprévalence des anticorps IgG anti-VHE plus élevée chez les consommateurs d'eau du robinet que chez ceux consommant de l'eau minérale, ainsi que chez les consommateurs d'huîtres dans une cohorte de donneurs de sang (41).

4. L'hépatite E de transmission nosocomiale

D'autres voies de contamination, associées aux soins, ont été démontrées, pour l'ensemble des génotypes de l'hépatite E, notamment *via* les transfusions de produits sanguins labiles (culots globulaires, plaquettes ou encore plasma) (51). En 2014, une étude menée dans le Sud-Est de l'Angleterre sur 225 000 dons de sang a montré une prévalence de détection de l'ARN viral du VHE de 0,04%. Le taux de transmission chez les patients exposés a été estimé à 42%, et a conduit principalement à des formes d'hépatites chroniques chez les

patients immunodéprimés (hormis une hépatite aiguë chez un patient immunocompétent) (52).

Depuis 2015, en France, certains dons sont testés afin de garder 20 à 30 % de stock de plasma non infecté pour transfuser des patients immunodéprimés ou ayant une pathologie hépatique chronique sous-jacente. Un dépistage génomique viral systématique pourrait voir le jour prochainement.

5. Epidémiologie en France

En France, les cas autochtones représentent près de 99% des cas d'hépatite E aiguë. Le génotype largement majoritaire est le génotype 3 représentant 97.5% des infections, alors que le VHE-4 n'est impliqué que dans 1.3% des hépatites E diagnostiquées en France. Ainsi, le VHE-1 ne représente qu'1.2% des infections par le VHE. (19).

Le nombre de diagnostics d'hépatites E aiguës autochtones rapporté par le CNR est en croissance chaque année, alors que le nombre de cas importé reste constant. En effet, alors que seulement 9 cas autochtones par an étaient documentés en 2002, on a recensé 2642 cas en 2018 sur le territoire français (3). Cette incidence croissante de cas autochtones est principalement liée au dépistage plus systématique de l'hépatite E devant des signes cliniques évoquant une hépatite aiguë grâce à une meilleure connaissance de cette pathologie par les médecins. En effet, 209 échantillons ont été testés pour diagnostiquer l'hépatite E en 2002, contre 76 000 en 2016 (53). Les variations très importantes de nombre de cas rapportés dans les différents pays européens démontrent l'importance de la variabilité des algorithmes diagnostiques vis-à-vis d'une suspicion d'hépatite aiguë (19).

Cependant, l'hépatite E est toujours sous-diagnostiquée, de par son caractère souvent pauci-symptomatique. En effet, au total, une étude menée en France entre 2008 et 2013

estime à 68 000 le nombre d'infections annuelles par le VHE en France, entraînant près de 546 hospitalisations, et 20 décès (54).

La séroprévalence varie significativement selon les régions françaises, avec un gradient Nord-Sud, puisqu'elle a été estimée à 8% en Haute-Loire *versus* 86.4% en Ariège. Les régions identifiées comme hyper-endémiques semblent être le Sud-Est et le Sud-Ouest, ainsi que le Nord-Est. Ceci semble être principalement dû à des habitudes alimentaires distinctes selon les régions, avec par exemple la mise en cause du *figatellu* (saucisse de foie séchée) en Corse ou l'importante consommation de viande de porc dans certaines régions comme l'Ariège (41).

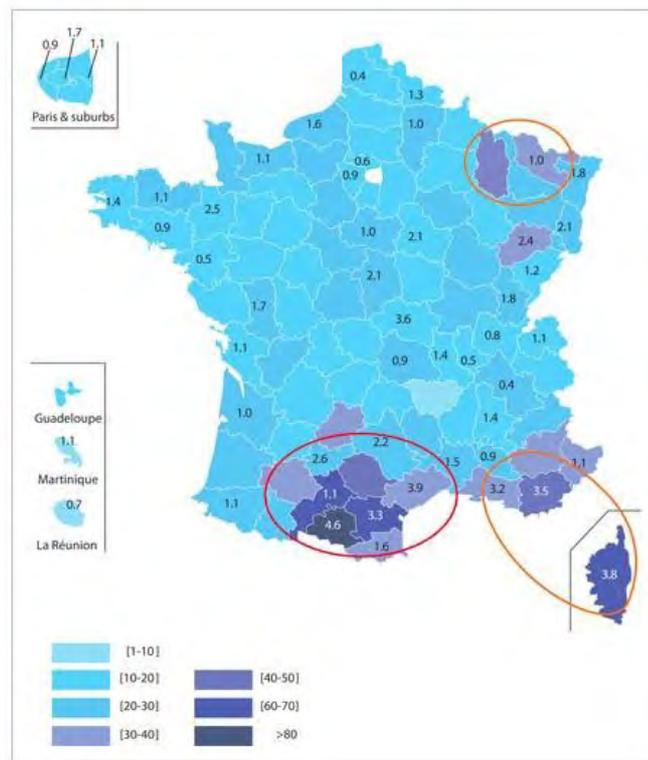


Figure 6 – Séroprévalence d’anti IgG ou d’anti IgM VHE selon les régions d’après Mansuy et al (41). Un code couleur est utilisé pour les IgG exprimées en %, et les taux d’IgM retrouvés en % sont notés en noir sur les différentes zones du territoire français.

IV. Manifestations cliniques de l'infection par le VHE

1. L'hépatite E aiguë

A. Chez l'immunocompétent

Dans la plupart des cas - 60 à 90% des cas - l'infection par le VHE chez l'immunocompétent, est asymptomatique, ne se traduisant biologiquement que par une augmentation des transaminases. Les formes symptomatiques sont le plus souvent bénignes et le tableau clinique retrouvé est semblable à celui retrouvé avec la plupart des virus hépatotropes, comme l'hépatite A. Après une période d'incubation de deux à six semaines, on retrouve le plus souvent un phase prodromique caractérisée par des symptômes non spécifiques, comme de la fièvre, une asthénie, une anorexie, des myalgies, des nausées ou des vomissements, pouvant parfois être suivie par une phase ictérique dans près de 43% des cas (55). Une phase de convalescence avec disparition des signes cliniques s'en suit spontanément après quelques jours, voire quelques semaines. Biologiquement, on observe une cytolysé hépatique de par l'augmentation des transaminases durant la phase prodromale et au début de la phase ictérique, puis une augmentation de la bilirubine concomitante de la phase ictérique. On ne retrouve pas d'hépatite chronique chez l'immunocompétent, mais des formes cholestatiques ictériques se prolongeant durant quelques mois ont déjà été décrites (56).

Si l'hépatite aiguë autochtone est souvent bénigne chez l'immunocompétent, des formes d'hépatites aiguës graves, incluant un taux de prothrombine (TP) inférieur à 50%, ont cependant été retrouvées chez environ 6.5% des sujets immunocompétents infectés par le VHE dans une étude française (55). Des cas d'hépatites fulminantes, définies par l'association

d'un TP inférieur à 50% et d'une encéphalopathie hépatique, ont aussi été décrites en Europe chez des patients ayant la plupart du temps des co-morbidités, comme un diabète et/ou une stéatose hépatique et/ou une hépatopathie sous-jacente (57)(58). Le TP doit être donc étroitement surveillé au cours d'une hépatite E aiguë.

D'autre part, plusieurs études décrivent le génotype 4 comme ayant une virulence plus importante que le génotype 3 et donc conduisant plus fréquemment à des formes d'hépatites plus sévères (59)(60)(61)(62).

B. Chez les patients ayant une pathologie hépatique préexistante

Dans les pays en voie de développement, où le génotype 1 prédomine, certaines études montrent que la décompensation cirrhotique sur une hépatite E aiguë entraînerait une surmortalité. En effet, une étude indienne (63) rapporte une mortalité de 70% chez ces patients, *versus* 30% chez des patients ayant un autre facteur de décompensation.

De même, en France, l'étude de Péron et al, montre que parmi l'ensemble des patients ayant développé une hépatite fulminante après une infection par le VHE de génotype 3, la quasi totalité étaient atteints d'une pathologie hépatique chronique sous-jacente, ou avaient une consommation excessive d'alcool (64). Ainsi, une maladie hépatique chronique préexistante prédisposerait les individus à une insuffisance hépatique aiguë lors d'une infection par le VHE. Cependant, une étude (65) prospective franco-anglaise menée sur 343 patients décompensant une cirrhose hépatique, n'a trouvé que 3.2% des patients ayant une hépatite E aiguë. Contrairement aux résultats retrouvés avec le génotype 1, aucune différence en terme de mortalité, selon que le patient ait décompensé sa pathologie chronique hépatique via l'hépatite E ou via un autre facteur, n'a été retrouvée, chez ces patients infectés par le génotype 3 (65).

Cette différence de mortalité est peut-être liée à des facteurs viraux, avec un génotype 1 du VHE plus pathogène que le génotype 3 (63)(65).

C. Chez l'immunodéprimé

Chez le patient immunodéprimé, l'infection aiguë passe souvent inaperçue puisque les patients sont souvent asymptomatiques. En effet, une étude (55) a montré que l'ictère, la fièvre, le prurit, ou encore les manifestations neurologiques sont significativement moins fréquentes chez les patients immunodéprimés que chez les patients immunocompétents. De même, biologiquement, l'augmentation des transaminases est moins importante que chez les sujets immunocompétents et semble dépendre du type d'immunodépression. Ainsi, on retrouve des transaminases 1.5 à 19 fois au dessus des valeurs limites normales chez les patients transplantés d'organes, alors qu'elles sont à des taux de 6 à 95 fois au dessus des valeurs limites normales chez les patients atteints d'hémopathies (66).

D. Chez la femme enceinte

Les génotype 1 et 2 de l'hépatite E, contrairement aux génotypes 3 et 4, sont connus pour être à l'origine de formes graves chez la femme enceinte, puisque la létalité dans cette population est estimée à 25% notamment au cours du troisième trimestre de grossesse (17).

En effet, lors d'épidémies en Inde dans les années 1980, une étude (67) a montré que 22.2% des femmes enceintes ont développé une hépatite fulminante, contre 0% des femmes non enceinte et 2.8% des hommes infectés. La cause de cette surmortalité maternelle reste mal connue mais semble être liée aux modifications immunologiques et hormonales induites par la grossesse, ainsi qu'à des facteurs viraux.

D'autre part, l'infection par le VHE chez des femmes enceintes dans les pays en développement est souvent associée à des complications obstétriques telles que l'éclampsie ou des hémorragies anténatales ainsi qu'une transmission verticale à l'enfant pouvant causer une prématurité ou une mortalité périnatale (68). Comme vu précédemment, la cause de cette surmortalité maternelle semble être liée à des dommages placentaires plus importants induits par le génotype 1 (33).

Récemment, des modifications au niveau d'acides aminés, C1483W et N1530T, découlant de substitutions nucléotidiques au niveau de l'ARN polymérase, ont été décrites chez des patientes enceintes infectées par le génotype 1 et se révèlent à l'origine de charges virales plus élevées, d'une perturbation du TP, ainsi qu'à une mortalité plus importante par rapport aux femmes infectées par un virus ne présentant pas ces mutations (69). De même, d'autres mutations entraînant des variations d'acides aminés touchant l'ORF2 et donc la protéine de capsid semblent associées à des formes graves d'hépatite – probablement en modifiant l'antigène de capsid et donc en entraînant une réponse immunitaire de l'hôte excessive (70).

2. L'hépatite E chronique

Chez les patients immunodéprimés, et notamment chez les transplantés d'organes solides, chez les patients traités pour une hémopathie, mais aussi chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou traités par des immunomodulateurs ou par biothérapie, des formes chroniques d'hépatites E sont aujourd'hui clairement établies. 60% des hépatites E aiguës autochtones chez les immunodéprimés évoluent vers une hépatite chronique, de par une élimination incomplète du virus causée par l'immunodépression (71). Celle-ci se caractérise par une persistance du VHE dans le sang et/ou dans les selles pendant plus de trois mois (72), entraînant une hépatite chronique, puis

l'apparition progressive d'une fibrose et d'une cirrhose dans 10% des cas en l'absence de traitement. Ce passage à la chronicité a souvent été décrit lors d'infections par le VHE de génotype 3 mais peut aussi apparaître chez les patients infectés par le génotype 4 (73), ou 7 (17). Les génotypes 1 et 2, eux, n'entraînent vraisemblablement pas de formes chroniques. Lors de la guérison, après l'achèvement de la clairance virale, il n'y a en général pas de réactivation de l'hépatite E (74), contrairement à l'infection par le VHB.

A. Patients ayant reçu une transplantation d'organe solide

Un passage à la chronicité a été mis en évidence pour la première fois en 2008 (75) chez des patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe solide (rein, foie, pancréas et cœur) en raison de l'immunodépression conférée par les traitements utilisés pour réduire les risques de rejets. Cette chronicité a donc été mise en évidence chez l'adulte, mais aussi chez l'enfant (76). Des études ont montré que le traitement par tacrolimus serait associé à une évolution vers la chronicité significativement plus importante par rapport à un traitement par ciclosporine. Ceci pourrait s'expliquer par un effet immunosuppresseur plus important du tacrolimus par rapport à la ciclosporine, avec une diminution plus importante des lymphocytes T CD4+ spécifiques de l'hépatite E (77)(74). De même, un taux de plaquettes plus bas est un facteur prédictif de l'évolution vers la chronicité (74). Le traitement de première intention pour permettre la clairance virale et la guérison passe donc par une diminution des doses d'immunosuppresseurs, et notamment de ceux ciblant les lymphocytes T CD4+. Ainsi, dans l'étude de Kamar et al. (77), on observe des taux sanguins significativement plus faibles de tacrolimus et de corticoïdes et des taux plus élevés de LT CD4+ circulants chez les sujets ayant guéri de leur hépatite chronique, comparativement à ceux ayant toujours une charge virale positive. Les doses d'immunosuppresseurs doivent donc être contrôlées afin de trouver un équilibre entre le risque de rejet et le risque d'un

passage à la chronicité de l'hépatite E. Si l'infection persiste après modulation des doses des traitements immunosuppresseurs, des traitements antiviraux tels que la ribavirine ou l'interféron alpha pégylé peuvent être mis en place.

B. Patients atteints d'hémopathies malignes

Des cas d'hépatites E chroniques ont aussi été rapportés chez des sujets immunodéprimés du fait d'une hémopathie, après une hépatite aiguë la plupart du temps asymptomatique, et diagnostiquée devant une augmentation des enzymes hépatiques (66). La persistance d'une charge virale détectable semble corrélérer avec le degré d'immunosuppression lié aux traitements de la pathologie hématologique, mais contrairement aux patients transplantés, l'ensemble des patients suivis dans une étude toulousaine ont pu négativer leur charge virale, après sortie d'aplasie (66).

C. Patients infectés par le VIH

Des infections chroniques chez des patients infectés par le VIH ont aussi été rapportées, notamment chez des patients ayant un taux de lymphocytes T CD4 inférieur à 200/mm³, alors considérée comme une maladie opportuniste. L'infection chronique semble là aussi, sans traitement, évoluer progressivement vers une cirrhose (78)(79). Un retard de diagnostic peut exister du fait de l'imputabilité des traitements anti-rétroviraux devant l'augmentation des enzymes hépatiques (79).

3. Manifestations extra-hépatiques

A. Manifestations neurologiques

Des formes neurologiques ont été rapportées suite à l'infection par le VHE, notamment après infection par le génotype 1 dans les pays en voie de développement, et par le génotype 3 dans les pays développés (80). Le premier cas a été décrit chez un patient immunocompétent en Inde, en 2000, ayant développé un syndrome de Guillain-Barré suite à une hépatite E aiguë (81). Depuis, plusieurs dizaines de cas de neuropathies associées au VHE ont été décrites. Une revue de l'ensemble des cas de formes neurologiques rapportés avant 2016 et possiblement associées à l'hépatite E (80), soit 91 cas, semble montrer une prédominance de ces formes chez les sujets d'âge moyen (médiane de 50 ans), principalement de sexe masculin (75% des cas), le plus souvent immunocompétents (93%) et anictériques. Les manifestations neurologiques sont variées, avec une prédominance des syndromes de Guillain-Barré (36/91), se traduisant par une faiblesse musculaire d'apparition rapide causée par des lésions du système nerveux périphérique (SNP) à médiation immunitaire, pouvant progresser vers la détresse respiratoire. On retrouve, chez les autres patients, des tableaux d'amyotrophies névralgiques (Syndrome de Parsonage-Turner) (30/91), d'encéphalites ou de myélites (12/91), ou encore de mononévrites, de myosites, de névrites vestibulaires ou de paralysie de Bell (14/91). Cependant, ces cas ne peuvent être reliés à l'infection par l'hépatite E avec certitude, d'une part car tous les autres types d'infections conjoints à l'hépatite E n'ont pas toujours été exclus, mais aussi parce que certaines de ces manifestations immunitaires apparaissent après la clairance virale - donc seules les IgM anti-VHE sont détectables à ce moment là.

Une étude menée entre 2004 et 2009 (82), dans un hôpital anglais et dans un hôpital français, a mis en évidence la survenue de manifestations neurologiques chez 7 patients parmi 126 patients atteints d'une hépatite E aiguë ou chronique, de génotype 3, soit 5.5%.

Cependant, cette prévalence peut être sous-estimée, du fait de la recherche inconstante de l'hépatite E devant des troubles neurologiques. Dans cette étude, le tableau clinique prédominant était l'atteinte du SNP, observée chez 5 des 7 patients, probablement d'origine immunitaire. En ce qui concernait les autres patients, tous deux immunodéprimés, l'un présentait des manifestations centrales et périphériques, et l'autre avait développé une encéphalite. Le lien entre infection par le VHE et neuropathie semble, en revanche, ici bien établi, du fait de la détection de l'ARN viral sérique chez l'ensemble des patients et dans le LCR chez les patients immunodéprimés, ainsi que du fait de la temporalité entre la clairance virale, et de la résolution des symptômes neurologiques. Une autre étude anglaise, menée entre 1999 et 2013 chez des patients ayant eu le plus souvent une hépatite E aiguë causée par le génotype 3, rapporte 7.5% de formes neurologiques (83).

Cependant, une étude française (55), réalisée sur 200 patients infectés par le VHE, a mis en évidence une survenue de troubles neurologiques plus fréquente, évaluée à 16.5%, et survenant notamment chez les patients immunocompétents. Cette étude a appuyé le fait que parmi ces patients, ceux développant des signes neurologiques, sont significativement plus jeunes, ont une cytolyse hépatique plus modérée, et des formes ictériques moins fréquentes que les patients n'ayant pas de formes neurologiques. De plus, dans cette étude, le signe clinique neurologique prépondérant concernait des douleurs neuropathiques dans 42% des cas, peu décrites auparavant car probablement peu recherchées.

Les mécanismes aboutissant à cette pathogénicité ne sont pas connus, mais ils sembleraient plutôt auto-immuns pour le syndrome de Guillain-Barré ou pour le syndrome de Parsonage-Turner ; ou bien liés à une réplication virale locale dans le SNC, provoquant des dommages neuronaux directs dans les cas d'encéphalites ou de myélites (comme le montre la détection d'ARN viral dans le LCR de la plupart des patients atteints, le plus souvent immunodéprimés). Chez un patient greffé rénal (84), ayant une hépatite E chronique, et ayant présenté une neuropathie périphérique, le séquençage de l'ORF1 du VHE - région la plus variable du génome viral - dans le sang et dans le LCR a montré la présence de quasi-espèces

en fonction du compartiment. Il est donc légitime d'évoquer l'apparition de variants neurotropes qui seraient responsables de ces neuropathies.

B. Manifestations hématologiques

Trois cas de thrombopénies profondes ont été rapportés chez des sujets infectés par le génotype 3f avec un mécanisme probablement immun (85). D'autre part, une étude rétrospective sur 106 cas d'hépatites E autochtones chez des immunocompétents pour la plupart (83), a retrouvé une thrombopénie chez 11.3% d'entre eux, une hyperlymphocytose chez 13.2% des patients et une lymphopénie dans 7.5% des cas, à chaque fois sans aucune conséquence clinique.

D'autre part, une électrophorèse des protéines effectuée chez des patients atteints d'une hépatite E aiguë dans une étude (83), a retrouvé une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) - ou en anglais monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) - chez 26% d'entre eux, ce qui semble bien plus élevé que la prévalence de 1% retrouvée dans la population générale. Cependant, cette constatation ne permet pas d'établir la nature de la relation entre le VHE et la gammopathie monoclonale de signification indéterminée : le VHE a-t-il un rôle causal dans la GMSI ? Le déficit immunitaire associé à la GMSI prédispose-t-il à l'infection par le VHE ? L'explication la plus probable, semble être qu'après une infection par le VHE, il existe une réponse immunitaire importante de l'hôte entraînant une production accrue de gammaglobulines, y compris d'immunoglobulines monoclonales sécrétées par un clone de plasmocytes sous-jacent. Ainsi, la GMSI serait précipitée par cette infection.

Aussi, de rares cas d'anémie aplasique, définie par une pancytopénie profonde apparaissant deux à trois mois après le début de l'hépatite aiguë, ont été publiés (86)(87).

Enfin des anémies hémolytiques ont aussi été décrites : auto-immunes comme c'est le cas avec d'autres virus hépatotropes (cytomégalovirus, VHA, VHB), mais aussi chez les patients ayant un déficit en G6PD (de par l'accumulation d'oxydants induite par l'hépatite virale) (88).

C. Manifestations rénales

Comme pour d'autres virus hépatotropes tels que le VHC, des insuffisances rénales aiguës (IRA) ont été décrites suite à une infection par le VHE. Celles-ci ont été à la fois rapportées chez le sujet immunodéprimé infecté chroniquement (89), mais aussi chez le sujet immunocompétent que l'infection soit causée par le génotype 1 (90) ou par le génotype 3 (91).

Chez le patient immunodéprimé, ayant bénéficié d'une transplantation rénale ou hépatique, on observe une détérioration de la fonction rénale (diminution du débit de filtration glomérulaire) au cours de la phase aiguë de l'infection par le VHE chez certains patients (89). Histologiquement, des maladies glomérulaires telles que la glomérulonéphrite membraneuse ou membrano-proliférative sont parfois retrouvées, souvent accompagnées de cryoglobulinémies. En effet, l'infection par le VHE de génotype 3 a été identifiée comme un facteur prédictif de la cryoglobulinémie de manière indépendante chez les patients transplantés d'organe (72). Selon une étude française (72), une cryoglobulinémie serait retrouvée chez environ 50% des patients transplantés d'organe ayant une hépatite E chronique, donc significativement plus que chez les patients transplantés ayant une hépatite E aiguë ou n'ayant pas d'infection par l'hépatite E. Cette cryoglobulinémie entraînerait une détérioration de la fonction rénale ainsi qu'une protéinurie importante. L'élimination du VHE, par diminution de l'immunosuppression ou par traitement par ribavirine (92) permet le plus souvent, la diminution de la protéinurie et l'amélioration de la fonction rénale ; de même le plus souvent, la ribavirine permet la disparition de la cryoglobulinémie (72).

Chez l'immunocompétent, la glomérulonéphrite membrano-proliférative cryoglobulinémique associée à une hépatite E aiguë a été décrite et confirmée sur biopsie rénale pour la première fois en 2015 (91). Des IgG et IgM anti-VHE ainsi que de l'ARN du VHE étaient alors détectables à la fois dans le sérum mais aussi dans le cryoprécipité. Après l'élimination du VHE, la cryoglobulinémie était alors indétectable.

D'autre part, un case-report indien (93) a décrit l'apparition d'une gammapathie monoclonale de signification rénale (MGRS) (tableau de gammapathie monoclonale de signification indéterminée sur le plan hématologique, se compliquant d'une insuffisance rénale) au cours d'une hépatite E aiguë. En effet, la patiente a développé une néphropathie à chaînes légères et une insuffisance rénale aiguë quelques semaines après le diagnostic d'hépatite E.

D. Autres manifestations

Des pancréatites ont aussi été rapportées suite à une hépatite E aiguë de génotype 1, soit dans les pays en développement, soit dans les pays industrialisés. A ce jour, aucun cas de pancréatite n'a été décrit lors d'infections par les génotypes 3 ou 4 (94). Une étude indienne (95) s'intéressant aux étiologies des pancréatites aiguës, a identifié une hépatite E aiguë chez 2,1% des patients, sans aucune autre cause pouvant expliquer cette pancréatite chez la plupart d'entre eux. Dans la majorité des cas, ces pancréatites aiguës semblent de bon pronostic, et souvent associées à une hépatite modérée.

D'autres manifestations extra-hépatiques diverses et variées associées à l'infection par le VHE sont citées dans la littérature, comme l'hyperthyroïdie auto-immune (96) ou la myocardite (97), sans aucun lien causal prouvé à ce jour.

V. Méthodes diagnostiques

1. Cinétique des marqueurs de l'infection

La durée d'incubation de l'hépatite E est de deux à six semaines (98).

L'ARN viral est détectable dans le sang et dans les selles avant le début de la phase aiguë (environ deux semaines après la contamination) et persiste durant trois à quatre semaines dans le sang, et durant cinq à six semaines dans les selles lors d'une hépatite E aiguë (98). Ainsi, l'ARN viral dans le sang et dans les selles est en général indétectable dès lors que la résolution clinique et biologique de l'hépatite est obtenue (99).

Les IgM anti-VHE, qui témoignent de l'infection aiguë, apparaissent précocement au début de la phase aiguë, dans le même temps que l'augmentation des transaminases et que l'apparition de l'ictère. Ces IgM persistent environ trois mois après le début de l'infection, mais elles peuvent parfois être détectables plus longtemps (six à neuf mois). Les IgG spécifiques - témoignant d'une infection passée ou chronique - apparaissent simultanément, et persistent pendant plusieurs mois à années après la guérison, sans que leur durée exacte de persistance ne soit réellement déterminée (1).

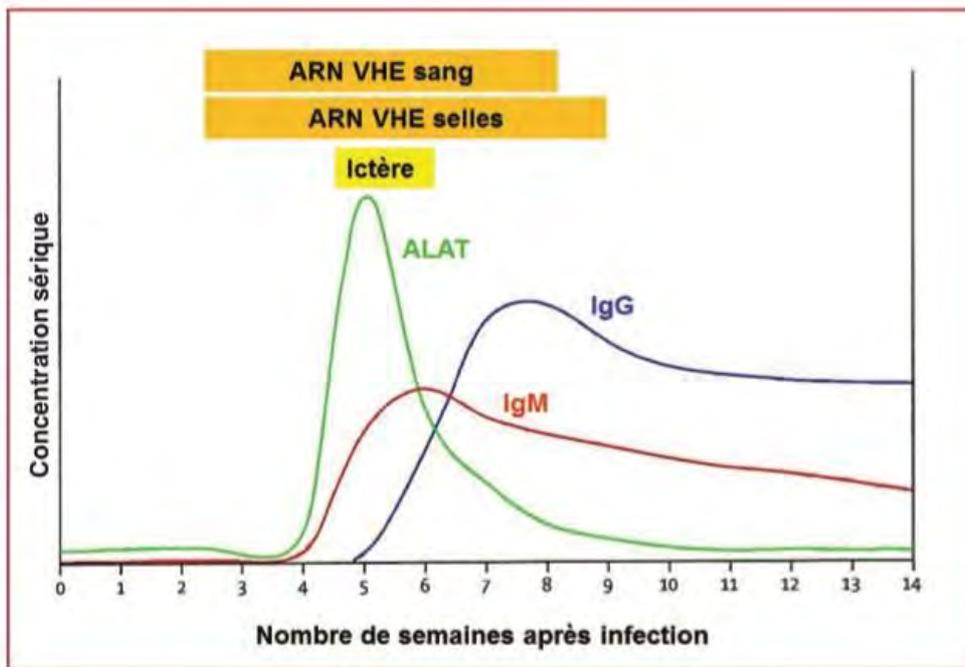


Figure 7 – Evolution des marqueurs du VHE lors d’une infection aiguë d’après Izopet et al (98)

2. Algorithme diagnostique de l’hépatite E

Le diagnostic de l’hépatite E aiguë, se fonde en première intention sur la recherche d’IgM spécifiques témoignant de l’infection récente. Cependant, des faux négatifs peuvent exister chez les immunodéprimés. En effet, une étude (100) menée sur deux kits de détection différents, et comparant ces techniques à la biologie moléculaire, a conclu à une sensibilité d’environ 85% à 87.5% selon le test utilisé chez les immunodéprimés *versus* une sensibilité de 97.7% chez les immunocompétents. La sensibilité reste donc satisfaisante chez l’immunodéprimé pour les IgM, en comparaison des IgG, pour lesquelles une sensibilité de 15 à 45 % a été retrouvée chez les immunodéprimés, alors qu’elle était de 81.8% à 93.2% chez les immunocompétents. Cependant, en cas d’IgM négatives chez l’immunodéprimé, il faut tout de même impérativement rechercher l’ARN viral dans le sang par biologie moléculaire.

Lorsque des IgM spécifiques sont retrouvées, l'ARN viral sanguin peut être recherché pour confirmer l'infection en cours par le VHE. Le prélèvement sera ensuite transmis au CNR afin de procéder au génotypage de la souche impliquée.

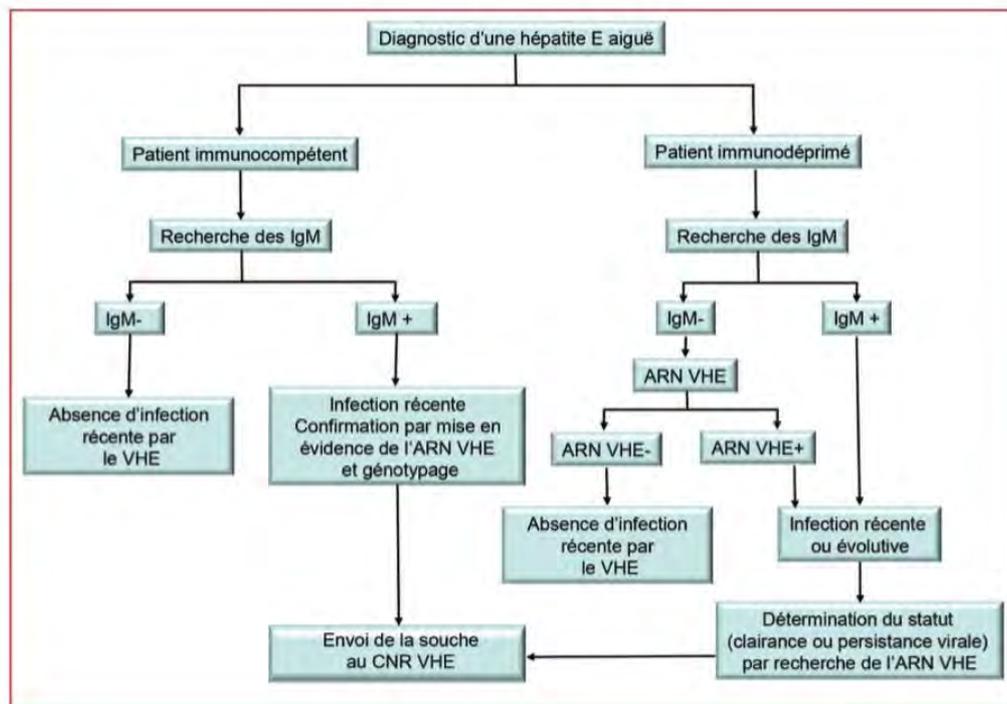


Figure 8 – Algorithme diagnostique d'une hépatite E aiguë d'après Izopet et al (98)

Au total, le diagnostic de l'hépatite E peut se faire indirectement par la détection d'anticorps spécifiques dans le sérum, et directement, par détection de l'ARN viral ou de l'antigène de capsid dans le sang ou dans les selles.

3. Diagnostic direct

A. Par biologie moléculaire

Diverses techniques de biologie moléculaire, permettent de détecter l'ARN viral dans le sang mais aussi dans d'autres prélèvements biologiques (selles, urines, LCR, etc).

✓ RT-PCR

La RT-PCR est aujourd'hui le « gold standard » pour la détection virale de par sa grande sensibilité. Différents types de RT-PCR peuvent être mises en place pour détecter l'ARN viral : RT-PCR conventionnelle, RT-PCR nichée ou enfin la RT-PCR en temps réel permettant de rendre un résultat quantitatif. De même, les régions du génome viral amplifiées varient selon les techniques, mais doivent cibler une région conservée du génome du VHE en tenant compte de la grande hétérogénéité génétique.

Une étude (101) a montré que les PCR en temps réel étaient les plus performantes, mais que selon la méthode utilisée, et la région amplifiée (ORF1, ORF2 ou ORF3), la sensibilité variait de manière très importante (de 100 à 1000 fois), et ce indépendamment de la souche virale. D'après une étude publiée en 2012 (102), et menée sur des échantillons contenant plusieurs sous-types du génotypes 3, les techniques de RT-PCR en temps réel sur la région ORF3 semblent les plus sensibles pour détecter l'ARN viral.

✓ **La TMA (Transcription Mediated Amplification)**

La TMA utilise le principe de l'amplification de l'ARN à l'aide d'enzymes de transcription (ARN polymérase) à température isotherme, pouvant être totalement automatisée sur un automate comme le *Panther*, de la société Hologic. Une publication ayant étudiée le test *Procleix* sur cet automate (103) conclue à une excellente sensibilité et spécificité de la TMA dans la détection de l'ARN viral dans le sang et dans les selles, comparable à celle d'une RT-PCR en temps réel. La limite étant que cette trousse ne permet pas de quantifier l'ARN viral dans les prélèvements.

✓ **Technique RT-LAMP (Reverse Transcription Loop Isothermal Amplification)**

La technique d'amplification isotherme menée par les boucles permet une amplification de l'ARN, à température constante proche de 60°C (méthode isotherme) en une seule étape, à l'aide de six amorces reconnaissant six régions distinctes sur la séquence cible (gène de la protéine de capsid virale) ce qui lui confère une grande spécificité. Cette technique rapide, et ne nécessitant pas l'acquisition d'un thermocycleur, pourrait donc être intéressante pour le diagnostic de l'hépatite E dans des hôpitaux ayant peu de moyens, et dans des zones d'endémie par exemple (104)(105). Une étude publiée en 2014 (106), montre qu'une détection colorimétrique de l'ARN viral est possible en couplant la RT-LAMP à un système de détection impliquant le complexe streptavidine/biotine.

B. Par détection de l'antigène de capsid

L'utilisation d'une méthode immuno-enzymatique sandwich, technique ELISA, peut permettre de détecter les antigènes viraux de capsid du VHE dans un échantillon de sérum ou de selles. Une étude (107) montre que la détection de ces antigènes est précoce au cours de

l'hépatite E aiguë, et semble avoir une fenêtre de détection proche de celle de l'ARN viral, puisqu'on retrouve une concordance de 81% entre ces deux marqueurs dans des échantillons sanguins. Dans cette même étude, une infection chez des macaques par le VHE de génotype 1 ou 4, a mis en évidence que l'antigène viral était détectable dans le sang avant le pic d'ALAT et avant l'apparition des IgM spécifiques, mais qu'il devenait rapidement indétectable après la séroconversion – probablement du fait de la formation de complexes immuns lors de l'apparition des anticorps. En effet, les antigènes de capsidite du VHE seraient détectables dans le sang et dans les selles une semaine après l'infection et ne le seraient plus après six à sept semaines.

Bien que moins sensible que la RT-PCR et que les IgM spécifiques, cette technique spécifique et précoce, pourrait avoir un rôle dans les régions où les techniques de biologie moléculaire ne sont pas disponibles (108). De plus, alors que la RT-PCR peut être affectée par les différents génotypes et par des variations importantes de séquences, les tests de détection d'antigène semblent mieux tolérer de telles variations séquentielles (107). Enfin, une récente étude (109) indique que cette recherche pourrait être intéressante chez les patients transplantés, puisque des taux sériques élevés d'antigène de capsidite en phase aiguë permettraient une bonne prédiction de l'évolution vers la chronicité de l'hépatite.

4. Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect permet de détecter des anticorps spécifiques du VHE dans le sérum des patients par méthode immuno-enzymatique. Alors que les IgG permettent de rechercher une exposition antérieure, ancienne ou récente au VHE, les IgM permettent de rechercher exclusivement une infection récente par le VHE. Les IgA peuvent aussi être recherchées : elles apparaissent précocement après le début de l'infection, et leur association aux IgM anti-VHE, constitue un marqueur spécifique d'une infection récente par le VHE (110).

Ces tests sérologiques sont relativement faciles à réaliser et moins coûteux que les tests moléculaires, mais les caractéristiques de performance des différents tests sur le marché divergent de manière très importante - en termes de sensibilité et de spécificité - malgré l'utilisation d'échantillons identiques (111)(112). Ainsi, leur interprétation doit être réalisée avec prudence, en tenant compte des résultats des autres techniques et du tableau clinico-biologique.

A. Antigènes utilisés

Les antigènes utilisés dans les techniques détectant les anticorps spécifiques sont des protéines recombinantes ou synthétiques, d'ORF2 ou ORF3, issues le plus souvent de souches de génotype 1 du VHE (1). En général, les anticorps des patients infectés par les autres génotypes sont détectés par réaction croisée grâce à des épitopes communs. Cependant, les performances des tests peuvent tout de même varier selon le génotype impliqué. En effet, il a été montré par des tests immuno-enzymatiques chez des singes infectés expérimentalement par les génotypes 1 ou 4 du VHE, que la réactivité antigène-anticorps était meilleure lorsque le génotype de l'antigène d'ORF3 utilisé correspondait au génotype ayant infecté l'animal (113).

Pour augmenter la sensibilité et la spécificité des tests, des protéines artificielles "en mosaïque" contenant plusieurs courts segments de protéines du VHE avec des épitopes antigéniques peuvent aussi être utilisées (114).

B. Méthodes utilisées

Sur le marché, les tests immunochromatographiques utilisés prennent plusieurs formes. En effet, on retrouve d'une part des essais conventionnels sur microplaques, manuels ou automatisés, ainsi que des essais immunochromatographiques rapides sur bandelette

(115). Les tests immunochromatographiques pour la recherche d'IgM anti-VHE sont très rapides (< 15 minutes), faciles à réaliser, et donnent des résultats comparables à ceux obtenus avec des tests ELISA classiques (116).

De même, ces tests utilisent diverses méthodes immuno-enzymatiques permettant de détecter les anticorps spécifiques. La technique la plus couramment utilisée est une méthode immuno-enzymatique indirecte (technique ELISA), dans laquelle les antigènes du VHE fixés au fond d'un puits, fixent les anticorps sériques spécifiques du patient, eux-mêmes reconnus par des anticorps secondaires couplés à une enzyme *via* la chaîne lourde de l'isotype à détecter. Cependant, au cours de l'hépatite E aiguë, les IgM anti-VHE sont souvent accompagnées de titres élevés d'IgG anti-VHE, ce qui peut entraîner une compétition, et une diminution de la liaison des IgM sur la phase solide, pouvant alors entraîner des faux négatifs.

Un test immuno-enzymatique par immuno-capture peut pallier à ce problème. Dans cette technique, la phase solide est composée d'anticorps anti- μ (chaînes lourdes communes à toutes les IgM) qui capturent toutes les IgM du sérum du patient, spécifiques ou pas du VHE. L'addition d'un antigène du VHE conjugué à une enzyme est ensuite utilisé pour détecter uniquement les IgM spécifiques (104).

5. Séquençage du génome

Le CNR séquence le génome viral des échantillons dans lesquels de l'ARN du VHE a été détecté afin de déterminer le génotype et le sous-type viral.

Pour cela, un séquençage selon la méthode de Sanger est réalisé sur une séquence de 348 paires de bases d'ORF2, après deux PCR successives (RT-PCR conventionnelle et PCR nichée), puis la séquence obtenue est comparée à des séquences de référence, afin de réaliser un arbre phylogénétique (117)(118). La séquence de l'ARN polymérase ARN dépendante pourrait elle aussi être utilisée afin de génotyper le VHE (118).

Actuellement, des techniques de séquençage à haut débit se développent en virologie et dans l'ensemble des disciplines de biologie médicale (hématologie, génétique, bactériologie, etc.). Au CNR VHE, le séquençage par SMRT Sequencing est d'ores et déjà utilisé pour séquencer l'intégralité de l'ARN viral chez certains patients (119).

Les intérêts du séquençage, sont à la fois l'épidémiologie moléculaire, mais aussi l'identification de la source de contamination.

VI. Prise en charge thérapeutique

1. Chez le patient immunocompétent

Lors d'une hépatite E aiguë, aucun traitement n'est habituellement à mettre en place, car la clairance virale est spontanée chez l'immunocompétent (120). Comme pour toute affection hépatique, des mesures hygiéno-diététiques sont tout de même importantes à respecter, comme l'absence de prise d'alcool ou de médicaments hépatotoxiques (comme le paracétamol). De même, le patient doit bénéficier d'un suivi clinico-biologique, afin de surveiller l'apparition d'une potentielle hépatite aiguë grave ou d'une hépatite fulminante.

Chez certains patients, ayant une pathologie hépatique sous-jacente, des comorbidités ou une forme sévère, un traitement par ribavirine est parfois instauré afin de réduire la létalité (121).

De même, la ribavirine a été utilisée avec succès dans le traitement des formes extra-hépatiques, comme les manifestations neurologiques ou les atteintes rénales de l'infection, chez certains patients (98).

2. Chez le patient immunodéprimé

Comme nous l'avons vu, **chez les patients transplantés d'organes solides**, un arrêt ou une réduction des traitements immunosuppresseurs est mise en place en première intention dans le traitement de l'hépatite E chronique, lorsque cela est possible. En effet, cette mesure permettrait la clairance virale dans un tiers des cas (74). En cas d'échec ou d'impossibilité de réduire l'immunosuppression, le deuxième choix thérapeutique se porte sur l'utilisation de traitements antiviraux. La ribavirine est le traitement de référence de l'hépatite E chronique, utilisée en monothérapie pour une durée de trois mois. En cas de rechute après l'arrêt du traitement, six mois supplémentaires de traitement par ribavirine sont alors nécessaires pour espérer une clairance virale. En cas d'échec ou d'intolérance à ce traitement, l'interféron-alpha pégylé (IFN- α PEG) peut parfois être proposé en dernière intention, s'il n'est pas contre-indiqué (2).

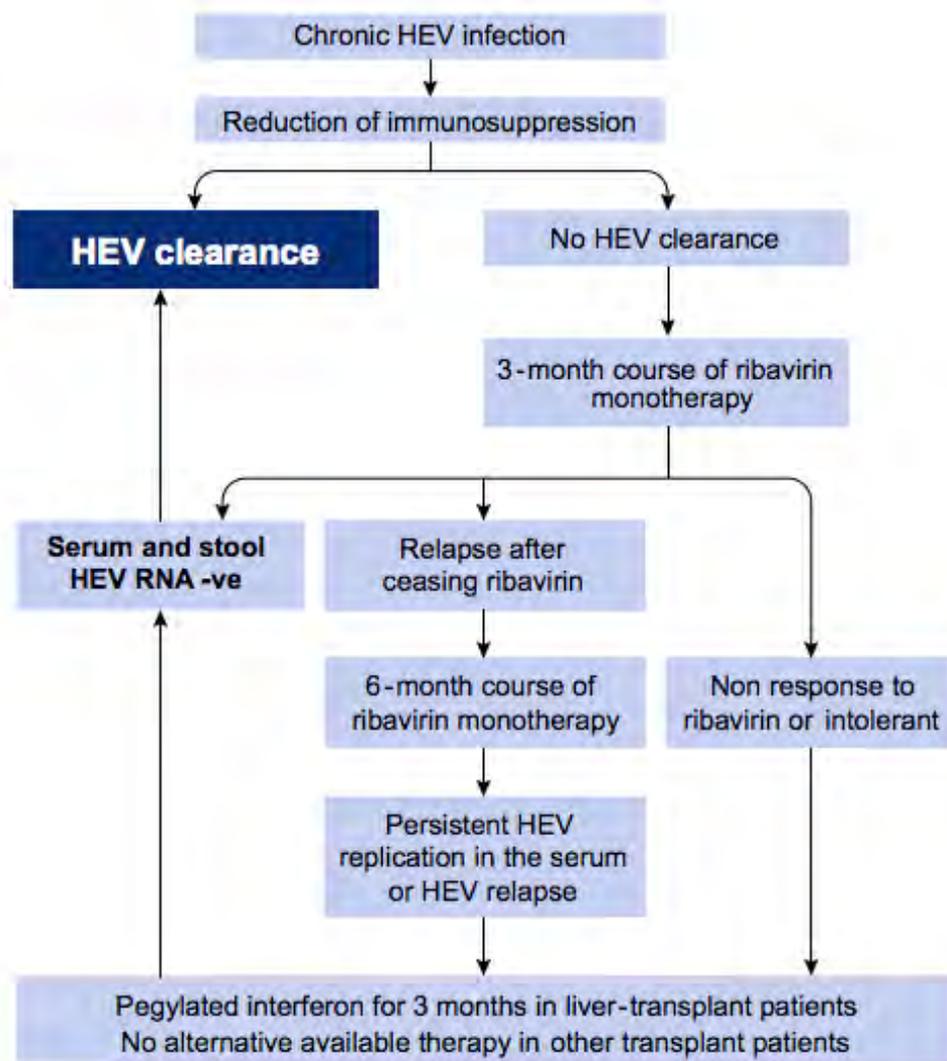


Figure 9 - Algorithme thérapeutique de l'hépatite E chronique d'après les recommandations de l'EASL Clinical Practice Guidelines sur l'infection par le VHE (2)

Chez les patients atteints d'hémopathie maligne, la levée de l'immunosuppression par l'arrêt des chimiothérapies anti-cancéreuses permettrait en général une clairance virale, mais ces traitements ne peuvent pas être différés dans la majorité des cas. Ainsi, un traitement par ribavirine pendant trois mois dès le diagnostic d'hépatite E pourrait constituer une bonne alternative afin d'éviter l'évolution vers une forme chronique de l'hépatite, tout en ne retardant pas la mise en place du traitement spécifique de l'hémopathie

maligne. En effet, une étude (122) a montré une clairance virale complète chez la majorité des patients ayant une réplication virale active, prévenant l'apparition d'un passage à la chronicité.

Enfin, concernant **les patients atteints par le VIH** et présentant une hépatite E chronique, peu de cas ont été décrits dans la littérature, mais une association ribavirine/interféron alpha peggylé (123) ou un traitement par ribavirine seule (124) auraient en général permis leur guérison.

A. La ribavirine

La ribavirine est un analogue nucléosidique de la guanosine, ayant un large spectre antiviral puisqu'il agit à la fois sur des virus à ADN et sur des virus à ARN.

Son mécanisme d'action n'est pas connu avec certitude, mais son large spectre d'action suggère qu'elle en possède plusieurs. Une étude sur ses effets *in vitro* (125) suggère que son mécanisme d'action passe par l'inhibition de l'IMPDH *via* la ribavirine 5'-monophosphate, enzyme impliquée dans la voie de synthèse du GTP. Ceci entraînerait alors un épuisement des pools intracellulaires de GTP, et donc une diminution de la réplication du VHE, virus à ARN. En effet, il a été montré que l'ajout de guanosine en excès dans le milieu de culture permettait une abolition de l'effet antiviral de la ribavirine. Cependant, la déplétion en GTP induite par ce traitement n'a pas été démontrée *in vivo*. Par ailleurs, il semblerait que la déplétion en GTP entraîne des défauts de synthèse de la coiffe de 7-méthylguanosine à l'extrémité 5' de l'ARN viral(126).

D'autres mécanismes d'action ont été évoqués (126). En effet, la ribavirine aurait des mécanismes indirects, comme une modification de l'équilibre des LT auxiliaires (balance Th1/Th2), favorisant la clairance immunitaire du virus. Il semblerait aussi que la ribavirine triphosphate puisse agir sur la réplication virale en étant reconnue par les polymérase

virales et en entraînant une terminaison de la chaîne. Enfin, l'incorporation de ribavirine dans les génomes d'ARN nouvellement synthétisés augmenterait la fréquence de mutations dans la population, entraînant à terme une non-viabilité du virus.

La ribavirine a prouvé son efficacité dans de nombreuses études (120) (127)(128) (129)(130) avec une réponse virologique soutenue (ARN viral indétectable dans le sang six mois après l'arrêt de la ribavirine) de l'ordre de 80% après un traitement d'une durée médiane de trois à cinq mois selon les études. Ceci en fait aujourd'hui le traitement de référence de l'hépatite E chronique. Cependant, des rechutes ont été observées après l'arrêt du traitement (127)(131), mais, dans la majorité des cas, un second traitement par la même molécule pendant six mois a permis leur guérison. L'effet indésirable majeur retrouvé dans ces études est une anémie, nécessitant une réduction des doses, un traitement par érythropoïétine, ou des transfusions sanguines. La durée et la dose optimale du traitement par ribavirine ne sont pas clairement établies, cependant les doses sont à adapter au DFG et au taux d'hémoglobine (2).

Une meilleure efficacité du traitement est retrouvée chez les patients ayant les taux de lymphocytes les plus élevés (127) (130), ainsi que chez ceux ayant une décroissance de l'ARN viral de 0.5 log copies/mL ou plus au septième jour de traitement(128). Par ailleurs, la persistance de l'ARN viral dans les selles à la fin du traitement par ribavirine est associée à une rechute à l'arrêt du traitement (129). Ceci suggère qu'il y aurait une inhibition de la réplication virale dans le foie mais pas dans le tractus gastro-intestinal. Ainsi, une étude récente (34) montre que la ribavirine n'abolie pas complètement la sécrétion virale au niveau du pôle apical des entérocytes du tube digestif, ce qui pourrait être expliqué par des

phénomènes d'efflux. Ainsi, l'intestin pourrait constituer un réservoir expliquant la réinfection endogène des sujets ayant une hépatite E chronique et traités par ribavirine.

Une mutation a été décrite au niveau de la région codant l'ARN polymérase située dans l'ORF1, la mutation G1634R (substitution nucléotidique G -> A), chez des patients en échec thérapeutique sous ribavirine (132). Cette mutation ne semble pas réduire l'activité de la ribavirine *in vitro* mais semble augmenter les capacités répliquatives virales et donc *in fine* diminuer son efficacité. Cependant, *in vivo*, une étude (133) sur 63 patients transplantés présentant une hépatite E chronique, montre que la mutation G1634R n'était pas significativement plus retrouvée chez les patients en échec thérapeutique que chez les patients ayant une réponse virologique soutenue, après un traitement par ribavirine (47,6% *versus* 31,0%, p=0.2). De plus, il semblerait qu'un traitement prolongé par ribavirine chez les patients porteurs d'un virus muté permette une réponse virologique soutenue dans 70% des cas.

D'autres mutations au niveau de la polymérase virale telles que Y1320H (134), D1384G, K1398R, V1479I et Y1587F (135), ont été décrites chez certains patients en échec de traitement comme pouvant être capables elles aussi d'augmenter la réplication virale *in vitro*. A l'inverse, K1383N (134) diminuerait la réplication virale et augmenterait même la sensibilité à la ribavirine. Des insertions nucléotidiques ont aussi été signalées dans la région hypervariable chez d'autres patients en échec thérapeutique (134). Il semblerait que la propriété mutagène de la ribavirine entre en jeu chez les patients traités, en augmentant l'hétérogénéité virale et en sélectionnant ces mutations au sein de la population virale, effet semblant réversible à l'arrêt du traitement (134)(135). Cependant, une étude publiée en 2019, s'intéressant à une large cohorte de patients transplantés ayant une hépatite E chronique a montré que les diverses mutations retrouvées sur la polymérase ne semblaient pas avoir d'impact sur la réponse virologique obtenue sous ribavirine (130).

B. L'interféron alpha-pegylé

L'IFN- α PEG est une glycoprotéine appartenant à la famille des cytokines ayant une activité antivirale aspécifique mais aussi une activité immuno-modulatrice et antiproliférative. La pégylation, qui correspond à l'adjonction d'une molécule de PEG à l'interféron, permet une augmentation de sa demi-vie. L'IFN exerce son action en agissant sur un récepteur à la surface de la cellule, puis s'en suivent des cascades de phosphorylation intracytoplasmiques, aboutissant à la stimulation des gènes contenant la région ISRE (Interferon Sensitive Response Element). Cette succession d'étapes permet alors la transcription des ISG (Interferon Stimulated Genes) qui assurent la réponse antivirale (136).

Des traitements par de l'IFN- α PEG chez des patients transplantés hépatiques (120), hémodialysés (138) ou infectés par le VIH (123) et atteints d'une hépatite E chronique ont permis une clairance virale. Cependant l' IFN- α PEG est généralement contre-indiqué chez les patients transplantés rénaux, pancréatiques, cardiaques ou pulmonaires car il stimule le système immunitaire et augmente le risque de rejet aigu (2).

VII. Prévention

1. Dans les pays en développement

Les premières mesures à prendre dans ces pays sont d'adopter des règles strictes d'hygiène collective permettant la lutte contre le péril fécal, notamment par l'amélioration des infrastructures sanitaires, mais aussi par le traitement des eaux usées ou encore par un lavage fréquent des mains.

De plus, un vaccin recombinant contre le VHE est disponible en Chine depuis 2011. Il s'est montré efficace lors d'une étude clinique randomisée, en double aveugle et contrôlée par un placebo, menée sur une large population (139)(140). Le schéma vaccinal complet était de trois injections. L'efficacité était de 100% un an après la troisième injection (139), et de 87% après 4.5 ans chez les patients ayant reçu au moins une injection (141). Ce vaccin nommé HEV 239 ou HECOLIN ®, est produit à partir d'une souche de VHE de génotype 1, et contient plus précisément 239 acides aminés de la protéine ORF2, codant pour la capsid virale. Ce vaccin qui serait surtout intéressant dans des contextes d'épidémies, n'est à ce jour, pas homologué dans les autres pays du monde, et n'a pas été évalué dans les sous-groupes de population à risque d'hépatites aiguës graves ou chroniques (femmes enceintes, hépatopathies chroniques, immunodéprimés...).

2. Dans les pays industrialisés

Pour ce qui est de la prévention de la transmission zoonotique retrouvée dans les pays autochtones, des mesures d'hygiène individuelles sont de rigueur. Ainsi, il est tout d'abord primordial d'éviter la consommation de viande non ou peu cuite. Une méthode par culture cellulaire (142) étudiant les caractéristiques physiques et chimiques du VHE a montré une survie du virus de 21 jours à 37°C, de 28 jours à température ambiante, ou encore de plus de 56 jours à 4°C. En revanche, un traitement thermique de deux minutes à 70°C ou d'une minute à 80°C conduirait à l'absence de détection du virus dans le milieu. Ainsi, la prévention de la contamination par le VHE passe d'abord par la cuisson à cœur des aliments, et notamment de la viande de porc, de sanglier ou de cervidé. De même, le nettoyage des plans de travail ou des ustensiles ayant été en contact avec ces produits crus est de rigueur. L'hygiène des mains, et notamment après contact avec des animaux ou avec des carcasses (chasseurs, éleveurs, vétérinaires) est aussi primordiale. Ces recommandations sont d'autant

plus importantes et plus strictes chez les patients à risque d'hépatite aiguë grave ou chronique.

Aussi, en cas d'infection par le VHE, des mesures strictes d'hygiène, notamment des mains, doivent être mises en place, pour éviter la transmission oro-fécale à l'entourage.

Contrairement à la transmission du virus de l'hépatite A par des pratiques sexuelles oro-anales aujourd'hui admise, la transmission du virus de l'hépatite E par ce biais est toujours controversée. En effet, certaines études (143)(144) avaient rapporté une prévalence d'infection par le VHE plus importante chez les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes que dans la population masculine hétérosexuelle, ce qui n'était en revanche, pas retrouvé dans d'autres études (145)(146). Une étude (147) très récente, montre que la séroprévalence vis-à-vis de l'hépatite E est similaire chez des patients à risque (hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes sous PrEP) et chez des donneurs de sang appariés sur l'âge et sur la région. Contrairement à l'avancement dans l'âge, les pratiques sexuelles oro-anales ne semblent donc pas être un facteur de risque établi d'infection par le VHE.

Le risque de transmission par administration de produits dérivés du sang, a été démontré, et peut conduire à des hépatites chroniques chez l'immunodéprimé. Ainsi, depuis 2017, dans plusieurs pays européens, comme l'Irlande, le Royaume-Uni, ou les Pays-Bas, un dépistage universel du VHE par biologie moléculaire a été instauré chez les donneurs de sang. En France et en Allemagne, en revanche, seuls certains dons sont testés afin de constituer un pool administrable à des patients à risque de développer une forme grave ou chronique de l'hépatite E (148).

TRAVAIL PERSONNEL

I. Introduction

Comme nous l'avons abordé dans la première partie, le virus de l'hépatite E regroupe de nombreuses souches virales divergentes d'un point de vue génétique (ORF-4 du génotype 1 favorisant la réplication virale en situation de stress), épidémiologique (transmission zoonotique *versus* interhumaine), tissulaire (formes neurotropiques retrouvées dans le LCR), ou clinique (formes gravissimes du génotype 1 chez la femme enceinte, formes chroniques des génotypes 3, 4 ou 7 chez l'immunodéprimé, hépatites fulminantes favorisées par certaines mutations ou par certains sous-types...). D'autre part, il existe aussi au sein d'un même hôte, une hétérogénéité virale constituant des quasi-espèces. Celles-ci peuvent ainsi moduler la réplication virale, l'infection et la pathogénèse de l'hépatite E. La combinaison des facteurs viraux et des facteurs de l'hôte (situation physiologique, immunité, etc) pourraient contribuer à la sévérité de l'infection.

Les mutations virales à l'origine de cette diversité découlent d'une part de la fréquence importante des erreurs systématiques de l'ARN polymérase lors de la réplication chez les virus à ARN ; estimée à des taux de 1/10 000 à 1/ 1 000 000 substitution par nucléotide par cellule infectée (149). D'autre part, l'hétérogénéité virale résulte aussi de la pression de sélection de l'hôte (réponse immunitaire) et des antiviraux (37). Enfin, cette complexité est accrue de par les recombinaisons virales entre génotypes, mais aussi parfois entre l'ADN humain et les souches virales (37).

Certaines publications ont évoqué que, parmi cette diversité, des génotypes ou des sous-types pourraient s'avérer plus virulents que d'autres.

Ainsi, par exemple, une récente publication belge (150) a montré que le risque d'hospitalisation était deux fois plus élevé chez les patients infectés par le génotype 1 que chez ceux infectés par le génotype 3. De la même manière, cette étude (150) ainsi qu'une

étude française (151) publiée en 2020, soulèvent le fait que certains sous-types pourraient être plus virulents que d'autres, puisqu'elles retrouvent un risque d'hospitalisation plus important pour le sous-type 3f par rapport au sous-type 3c. De plus, les patients immunocompétents infectés par le sous-type 3f développeraient plus fréquemment de la fièvre et auraient des charges virales plus élevées (151).

Dans notre étude, nous nous sommes principalement intéressés aux génotypes zoonotiques du virus de l'hépatite E, et particulièrement au génotype 4 décrit dans trois études conduites au Japon (60)(61)(62) et dans une étude française (59) comme induisant des infections plus sévères que le génotype 3.

II. Objectif de l'étude

Le but de notre étude est de comparer la sévérité clinico-biologique des deux génotypes zoonotiques les plus fréquents du VHE (génotypes 3 et 4) chez le sujet immunocompétent.

En effet, dans la littérature, certaines études tentant de répondre à cette question ont été menées, pour la majorité sur des populations japonaises. Une seule étude, française, a été menée sur des patients européens. De plus, ces études étaient limitées par le fait que les groupes étaient souvent déséquilibrés en terme d'effectif de par la répartition géographique de ces génotypes (génotype 4 principalement retrouvé en Asie, et génotype 3 prédominant en Europe).

Nous avons donc mené notre étude sur deux groupes de sujets européens (Français et Belges), infectés par l'un ou l'autre des génotypes, et appariés sur deux paramètres, l'âge et le sexe.

III. Sévérité du génotype 4 de l'hépatite E en Europe : Etude

Cette étude a été réalisée au laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse, en collectant rétrospectivement les données clinico-biologiques de l'ensemble des patients immunocompétents ayant eu un prélèvement sanguin envoyé au CNR retrouvant l'ARN viral du VHE de génotype 4 entre janvier 2017 et août 2019 (24 patients). Nous avons, par ailleurs, pu inclure trois patients diagnostiqués en Belgique, au CNR VHE de Bruxelles, ayant eu une hépatite E aiguë de génotype 4.

Ces patients ont été appariés sur le sexe et l'âge à des patients présentant une hépatite E aiguë de génotype 3 – génotype majoritaire en France et en Europe – dont les données étaient disponibles au CNR (patients immunocompétents diagnostiqués au CHU de Toulouse entre janvier 2017 et août 2019, ou patients d'autres CHUs dont les informations clinico-biologiques avaient été collectées par le CNR au préalable à l'occasion de diverses enquêtes). Les sous-types viraux des patients infectés par le génotype 3 ont été déterminés, et étaient similaires à ceux circulant en France (19), puisqu'on retrouve dans notre population, 78% d'infections par le génotype 3*f*, et 22% d'infections par le génotype 3*c*.

Les statistiques ont été menées à la fois par une analyse bivariée, mais aussi via une analyse multivariée par régression logistique permettant d'éliminer les facteurs de confusion. Ces méthodes nous ont permis de comparer les caractéristiques cliniques (hospitalisation, décès, asthénie, anorexie, fièvre, nausées, douleurs abdominales, ictère, manifestations extra-hépatiques, etc) et biologiques (ALAT, ASAT, bilirubine totale au diagnostic, TP et charge virale) des deux génotypes sur des groupes de patients homogènes.

HEV genotype 4 severity in Europe

Florence Micas¹, Vanessa Suin², Jean-Marie Péron³, Caroline Scholtes⁴, Edouard Tuillon⁵, Laurence Bocket⁶, Sébastien Lhomme^{1,7}, Chloé Dimeglio^{1,7}, Jacques Izopet^{1,7} and Florence Abravanel^{1,7}

¹ CHU Toulouse, Hôpital Purpan, *Laboratoire de virologie*, Centre national de référence du virus de l'hépatite E, 31300 France

² National Reference Centre of Hepatitis Viruses, Sciensano, Brussels, Belgium.

³ CHU Toulouse, Hôpital Rangueil, *Département de Gastroentérologie*, F-31300, Toulouse France

⁴ INSERM U1052-Cancer Research Center of Lyon (CRCL), 69008, Lyon, France; University of Lyon, University Claude Bernard Lyon 1 (UCBL1), Lyon, France; Department of Virology, Croix Rouse Hospital, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

⁵ Pathogenesis and Control of Chronic Infections. INSERM, University of Montpellier, Etablissement Français du Sang, CHU Montpellier, Montpellier, France.

⁶ Université de Lille, Faculté de Médecine, CHU Lille, Laboratoire de Virologie EA3610, F-59000 Lille, France.

⁷ UMR Inserm, U1043 ; UMR CNRS, U5282, Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, Toulouse 31300, France

Abbreviations:

ALT: Alanine aminotransferase

AST: Aspartate aminotransferase

HEV: Hepatitis E Virus

IgM: immunoglobulin M

IFN- λ 3: Interferon lambda 3

RNA: Ribonucleic Acid

ABSTRACT

Hepatitis E virus genotype 3 (HEV-3) and genotype 4 (HEV-4) are major etiologic agents of acute hepatitis in industrialized countries. While genotype 3 is mainly found in Europe and America, genotype 4 is predominantly found in Asia. Several Japanese studies have suggested that HEV-4 may be more virulent than HEV-3. We have analysed the clinical and biological parameters from 27 French and Belgian immunocompetent patients with an HEV genotype 4. Each HEV-4 infected patients was matched for age (+/- 5 years) and sex with 2 HEV-3 infected patients. Bivariate analysis indicated that HEV-4 infected patients had significantly higher ALT activities (2067 vs 1566 IU/L; $p=0.016$), AST activities (1581 vs 657 IU/L; $p=0.003$) and total bilirubin levels (92.4 vs 47 $\mu\text{mol/L}$; $p=0.046$) than patients infected with HEV-3 at the time of diagnosis. By contrast, HEV-3 infected patients reported more frequently dark urine (71% vs 39%, $p=0.02$) and asthenia (89% vs 58%, $p<0.01$) than HEV-4 infected patients. Finally, stepwise regression analysis only retained a greater increase in ALT (OR: 1.0005, 95%CI: 1.00012-1.00084) and less fever (OR = 0.1244; 95% IC: 0,01887-0,82020) in patients infected with HEV-4.

The virological and immunological factors that may explain the clinical and biological features of HEV-4 infected patients deserves further studies.

Key Words: hepatitis E virus, genotype, pathogenicity

INTRODUCTION

Hepatitis E is the main cause of viral hepatitis worldwide with 20 million cases each year, including more than 3 million symptomatic cases and 60,000 fatalities (1). It is responsible for diseases in both developing countries with suboptimal sanitary conditions and in industrialized countries where its transmission is zoonotic (1). The 8 HEV genotypes (HEV-1 to HEV-8) that infect mammals include four major ones (HEV-1 to 4) each with distinct characteristics. HEV-1 and HEV-2 infect only humans, mainly in resource-limited areas. HEV-3 and HEV-4 include zoonotic strains that infect both animals and humans (1,2). In Europe, HEV genotype 3 is predominant (1-3) while in Asian countries, and particularly in China and Japan, genotype 4 is the most prevalent (1,2). However, few autochthonous cases of HEV-4 in Europe were reported over the last decade in humans and in pigs (4-8).

In the majority of cases, hepatitis E leads to a benign infection in immunocompetent people. Classic symptomatic forms can induce a wide range of symptoms such as fever, nausea, anorexia, asthenia, vomiting, abdominal pain and icterus. In addition, liver function tests are often affected to varying degrees, with signs of hepatic cytolysis (increased transaminases), cholestasis, and sometimes liver failure. However, severe acute hepatitis or fulminant hepatitis rarely occurs, in patients with underlying chronic liver disease or in pregnant women with HEV-1 infection. Hepatitis E virus can also be responsible of extra hepatic symptoms like neurological disorders, renal failure, pancreatitis or haematological disorders (1). In immunocompromised patients, the biological and clinical manifestations are usually less severe but HEV can evolve to a chronic infection that can lead to cirrhosis (1).

Some Japanese studies suggest that genotype 4 would cause a more severe disease than genotype 3 (9-11). In Europe, only one study investigated the difference of pathogenicity between genotype 4 and genotype 3 (6). However, all these studies had compared a limited number HEV-3 or HEV-4 infected patients.

In our study, we therefore assessed the differences in the severity of disease caused by HEV-3 and HEV-4 infections by analysing the clinical and biological features in two groups of immunocompetent patients diagnosed in France and Belgium.

METHODS

Patients

We retrospectively included all immunocompetent patients infected with HEV-4 between January 2017 and August 2019 reported to the Belgian or the French reference centres. We collected the biological, virological and clinical data. A total of 27 immunocompetent patients infected with HEV-4 could be studied: 3 Belgian cases and 24 French cases. None of them declared a recent travel to Asia. Immunocompromised patients were excluded.

Each HEV-4 infected patients was matched for age (\pm 5 years) and sex with 2 HEV-3 infected patients selected randomly among the HEV-3 immunocompetent patients cases reported to the French national centre. For each patient infected with HEV, we collected clinical symptoms (asthenia, anorexia, fever, abdominal pain, nausea, vomiting, icterus, dark urine, discoloured stools, itching) by phone call to patients and medical report investigation. Extrahepatic manifestations (renal failure, pancytopenia, pancreatitis) as well as neurological manifestations except hepatic encephalopathy (neuralgic amyotrophy, neuropathic pain, facial paralysis) were taken into account. We recorded several biological parameters such as plasma viral load, transaminases activities (ALT and AST), prothrombin time and total bilirubin at the time of diagnosis. For each patient, we also investigated the existence of a pre-existing underlying liver disease (cirrhosis or steatosis). We also recorded whether the acute hepatitis E episode had led to hospitalization or to the patient's death.

Virological methods

Cases of HEV infection were identified by detecting anti-HEV immunoglobulin M (IgM) and HEV RNA using an accredited ISO 15189 RT-PCR method amplifying the ORF3 region of the viral genome (12). The HEV genotype was determined by sequencing a fragment of the ORF2 genome (13) and by phylogenetic analysis based on the reference sequences proposed by Smith et al (14).

Statistical analysis

The anonymized data were analyzed using Stata version 14 (StataCorp LP, College Station, TX, USA). The χ^2 test was used for categorical variable. The Wilcoxon's Rank-Sum test compared the continuous variables. A statistically significant difference has been defined by a *P*-value <0.05. We used a stepwise logistic regression analysis to identify variables independently associated with HEV-4 infections. In this model, we have taken into account all parameters with a *p*-value < 0.20 on the χ^2 test or on the Wilcoxon's Rank-Sum test.

RESULTS

We have studied 27 patients infected with HEV-4 and 54 patients infected with HEV-3. The median age of the 81 HEV-infected immunocompetent patients was 60 years old (range 31-84 years old). Their median values of ALT, AST, total bilirubin, prothrombin level and HEV RNA concentration were respectively 1652 (range 37-8900) IU/L, 1022 (range 22-11401) IU/L, 68.9 (range 3.8-446) $\mu\text{mol/L}$, 91 (range 19-100) % and 636 000 (range 1110-146 000 000) UI/mL.

The bivariate analysis found that the patients infected with HEV-4 had significantly higher ALT activities (2067 vs 1566 IU/L; $p=0.016$), AST activities (1581 vs 657 IU/L; $p=0.003$) and total bilirubin levels (92.4 vs 47 $\mu\text{mol/L}$; $p=0.046$) than patients infected with HEV-3 at time of diagnosis (Table 1). Neither pre-existing chronic diseases, prothrombin level, viral load differed according to the HEV genotype.

Regarding clinical manifestations, it appears that subjects infected with HEV-3 suffered more frequently from asthenia than those infected with genotype 4 ($p=0.002$). In addition, patients with HEV-3 reported more frequently dark urines than that of patients infected with HEV-4 ($p=0.020$). No other significant difference was found between the two groups regarding the clinical manifestations particularly no difference of neurological manifestations or other extra-hepatic disorders were found. Finally, two patients with underlying cirrhosis and infected with HEV-4 died of fulminant hepatitis but no patients with genotype 3 infections died ($p=0.035$).

Stepwise logistic regression indicated infections with genotype 4 were associated with a higher ALT levels (OR=1.0005; $p=0.01$) and lesser hyperthermia (OR=0.1244; $p=0.03$) than in patients infected with HEV-3 (Table 1).

DISCUSSION

We have investigated 27 cases of HEV-4 infection in European patients and compared the clinical and the biological parameters with that of 54 HEV-3 infected-patients matched for age and sex. We have found that HEV-4 infection in European patients was associated with a higher ALT elevation than HEV-3 infection.

HEV-4 is predominant in Asia, particularly in Japan, but HEV-3 infections were also reported in Japan. Previous Japanese studies suggested that HEV-4 infections were associated with a more severe hepatitis: higher peak aminotransferase levels (9-11), lower prothrombin time (9-11) and higher levels of total bilirubin (9,10). A previous European study also found higher ALT levels and more icterus among HEV-4 infected patients (6). However, these previous studies comparing the two zoonotic genotypes were often conducted in limited and unbalanced patients' groups. In all the Japanese studies, few HEV-3 infected patients were included (HEV-3 infected patients \leq 11) (9-11). And in the French study, 9 cases of HEV-4 were compared to 208 cases of HEV-3 (6). Thus, we aimed to compare the pathogenesis of HEV-4 by comparison with HEV-3 by equilibrating the patients in each groups. This study design allow us to confirm that the pathogenesis of HEV-4 appears more severe than HEV-3. By univariate analysis, more elevated ALT, AST and total bilirubin levels and more deaths were found in HEV-4 infected patients. Surprisingly, HEV-3 infected patients reported more frequently dark urine and asthenia than HEV-4 infected patients. By multivariate analysis, we found that HEV-4 infection was associated with higher ALT elevation and less fever than HEV-3 infection in immunocompetent patients.

Of note, two recent studies found a higher severity of subtype 3*f* compared to subtype 3*c* (15, 16). Our control group of HEV-3 infected patients included 78% of subtype 3*f* and 22% of subtype 3*c* (data not shown), a distribution of HEV-3 subtypes similar to the European distribution of these subtypes (3).

Our study found more deaths with HEV-4 infection. However, this association was not confirmed in the multivariate analysis. This is in agreement with a pooled analysis of fulminant hepatitis linked to acute hepatitis E (17). They reported a high mortality rate (46%), but did not find any influence of the genotype in cause on the patients' mortality (17).

In a recent publication studying the innate immune response to HEV infection by quantifying interferon lambda 3 (IFN- λ 3) secretion, differences between patients infected with genotypes 3 and 4 were observed. A higher level of serum IFN- λ 3 in the HEV-4 group compared to the HEV-3 group was reported (10). Furthermore, serum IFN- λ 3 levels correlated well with serum HEV RNA viral load. The induced IFN- λ 3 may contribute to immunological anti-HEV effects in the early phase of acute HEV infection. Indeed, IFN- λ induces robust innate and adaptive immunity in human contributing to the lysis of infected hepatocytes (18). Interestingly, difference in IFN- λ 3 response according to the HEV genotype was also observed in an *ex vivo* model (i.e. placental explants infected with HEV-1 or HEV-3) (19). Moreover, in this model, pro-inflammatory factor (IL-6, CCL-3, CCL-4, and CXCL-10) were differentially regulated by HEV-1 and HEV-3 infection. These alterations of the cytokine microenvironment correlate with viral load and contribute to the different tissue damage according to HEV genotype (19). Interestingly, a recent Belgian study found that compared to HEV-3 patients, HEV-1 patients had twice the risk of hospitalization after adjusting for age (15). Thus, several other immune mediators may be stimulated differently according to HEV genotype and could explain the difference of pathogenicity. In the present study, HEV-3 infected patients have more frequently fever. The different inflammatory response according to HEV genotype could be implicated in this feature. But virological factors (especially specific viral genotypes and mutants) may also modulate HEV replication, infection and pathogenesis (20).

Our study presents some limitations. The influence of patients's comorbidities that may influence the severity of the infection were not collected: obesity or diabetes were not

recorded. No liver biopsies were collected to assess the histological severity of the liver disease.

We conclude that, HEV-4 infection may be associated with higher ALT than HEV-3 infection. Further immunological and virological studies are warranted to investigate the dissimilar pathophysiology of the main HEV genotypes.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to declare.

Table 1: Characteristics of the patients according to HEV genotype

	HEV-4 infected patients N=27		HEV-3 infected patients N=54		Analyse bivariée		Analyse multivariée	
					OR	SE	P>z	95% CI
	P value							
Gender								
Men	18	36	1.000					
Women	9	18						
Existing chronic liver diseases	5 (18.5%)	6 (11.1%)	0.359					
Prothrombin activity < 50%	4 (14.8%)	4 (7.4%)	0.292					
Hospitalization	22 (81.5%)	38 (71.7%)	0.339					
Death	2 (8.0%)	0 (0%)	0.035					
Viral Load (UI/mL)	996 000	453 000	0.634					
ALT on entry (UI/L)	2067	1566	0.016	1.0005	0.0002	0.01	1.00012-1.00084	
AST on entry (UI/L)	1581	657	0.003					
Total bilirubin (µmoles/L) on entry	92.4	47	0.046					
Asthenia	14 (58.3%)	47 (88.7%)	0.002					

Anorexia	9 (37.5%)	30 (55.6%)	0.141				
Fever > 38°C	5 (20.8%)	21 (38.9%)	0.118	0.1244	0.1197	0.03	0.01887- 0.82020
Nausea	6 (25%)	21 (38.9%)	0.234				
Vomiting	4 (16.7%)	21 (38.9%)	0.052				
Abdominal pain	13 (54.2%)	17 (31.5%)	0.057				
Mucosal icterus	16 (66.7%)	27 (50%)	0.172				
Pruritus	4 (16.7%)	17 (31.5%)	0.173				
Extrahepatic manifestations (except neurological manifestations)	4 (15.4%)	5 (12.5%)	0.739				
Neurological manifestations (except hepatic encephalopathy)	2 (8.3%)	11 (20.4%)	0.188				
Colored urine	7 (38.9%)	34 (70.8%)	0.017				
Discolored stool	6 (37.5%)	22 (45.8%)	0.561				

Note: ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; OR : Odd-Ratio; SE : Standard error; CI : Confidence interval

1. Kamar N, Izopet J, Pavio N, Aggarwal R, Labrique A, Wedemeyer H, et al. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17086.
2. Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses*. 2016;8(10).
3. Izopet J, Tremeaux P, Marion O, Miguères M, Capelli N, Chapuy-Regaud S, et al. Hepatitis E virus infections in Europe. *J Clin Virol*. 2019;120:20-6.
4. Bouamra Y, Gerolami R, Arzouni JP, Grimaud JC, Lafforgue P, Nelli M, et al. Emergence of autochthonous infections with hepatitis E virus of genotype 4 in Europe. *Intervirology*. 2014;57(1):43-8.
5. Tesse S, Lioure B, Fornecker L, Wendling MJ, Stoll-Keller F, Bigaillon C, et al. Circulation of genotype 4 hepatitis E virus in Europe: first autochthonous hepatitis E infection in France. *J Clin Virol*. 2012;54(2):197-200.
6. Jebblaoui A, Haim-Boukobza S, Marchadier E, Mokhtari C, Roque-Afonso AM. Genotype 4 hepatitis e virus in france: an autochthonous infection with a more severe presentation. *Clin Infect Dis*. 2013;57(4):e122-6.
7. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, et al. Phylogenetic and casecontrol study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008;198(12):1732-
8. Hakze-van der Honing RW, van Coillie E, Antonis AF, van der Poel WH. First isolation of hepatitis E virus genotype 4 in Europe through swine surveillance in the Netherlands and Belgium. *PLoS One*. 2011;6(8):e22673.
9. Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, et al. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *J Med Virol*. 2005;76(3):341-9.

10. Murata K, Kang JH, Nagashima S, Matsui T, Karino Y, Yamamoto Y, et al. IFN-lambda3 as a host immune response in acute hepatitis E virus infection. *Cytokine*. 2020;125:154816.
11. Ohnishi S, Kang JH, Maekubo H, Arakawa T, Karino Y, Toyota J, et al. Comparison of clinical features of acute hepatitis caused by hepatitis E virus (HEV) genotypes 3 and 4 in Sapporo, Japan. *Hepatol Res*. 2006;36(4):301-7.
12. Abravanel F, Sandres-Saune K, Lhomme S, Dubois M, Mansuy J-M, Izopet J. Genotype 3 diversity and quantification of hepatitis E virus RNA. *J Clin Microbiol*. 2012;50(3):897-902.
13. Legrand-Abravanel F, Mansuy J-M, Dubois M, Kamar N, Peron J-M, Rostaing L, et al. Hepatitis E Virus Genotype 3 Diversity, France. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(1):110-4.
14. Smith DB, Simmonds P, Izopet J, Oliveira-Filho EF, Ulrich RG, Johne R, et al. Proposed reference sequences for hepatitis E virus subtypes. *J Gen Virol*. 2016;97(3):537-42.
15. Subissi L, Peeters M, Lamoral S, Klamer S, Suin V, Van Gucht S. Subtype-specific differences in the risk of hospitalisation among patients infected with hepatitis E virus genotype 3 in Belgium, 2010-2018. *Epidemiol Infect*. 2019;147:e224.
16. Abravanel F, Dimeglio C, Castanier M, Péron J-M, Kamar N, Lhomme S, et al. Does HEV-3 subtype play a role in the severity of acute hepatitis E? *Liver Int*. 2020;40(2):333-7.
17. Haffar S, Shalimar, Kaur RJ, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, et al. Acute liver failure caused by hepatitis E virus genotype 3 and 4: A systematic review and pooled analysis. *Liver Int*. 2018;38(11):1965-
18. Syedbasha M, Egli A. Interferon Lambda: Modulating Immunity in Infectious Diseases. *Front Immunol*. 2017;8:119.
19. Gouilly J, Chen Q, Siewiera J, Cartron G, Levy C, Dubois M, et al. Genotype specific pathogenicity of hepatitis E virus at the human maternal-fetal interface. *Nat Commun*. 2018;9(1):4748.

20. van Tong H, Hoan NX, Wang B, Wedemeyer H, Bock CT, Velavan TP. Hepatitis E Virus Mutations: Functional and Clinical Relevance. *EBioMedicine*. 2016;11:31-42.

Conclusion

En conclusion, notre étude confirme le fait que le génotype 4 du virus de l'hépatite E induit une hépatite E aiguë avec une lyse hépatique plus importante que le génotype 3 chez l'immunocompétent. Cependant, elle ne retrouve pas clairement de critère jugeant de la sévérité clinique de cette hépatite puisque l'analyse multivariée ne révèle pas plus de décès ou d'hospitalisations chez les patients infectés par le génotype 4. Ainsi, des études sur des populations plus importantes sont nécessaires pour juger de l'implication ou non de ce génotype dans des formes cliniques plus sévères.

Afin de comparer uniquement la sévérité clinico-biologique des génotypes 3 et 4 de l'hépatite E, nous avons bien veillé dans notre étude, à ce que la distribution des sous-types du génotype 3 soit semblable à celle retrouvée en France actuellement. En effet, il a été rapporté que le sous-type 3c serait moins pathogène que le sous-type 3f (150)(151). Dans notre étude, ce sous-type 3c n'est présent que chez 22% des contrôles génotype 3, taux similaire aux données publiées en 2019 par Izopet et al (19) rapportant que le sous-type 3c serait retrouvé chez un quart des patients infectés par le génotype 3 en France.

Les mécanismes virologiques et immunologiques responsables du tableau biologique induit par le génotype 4 ne sont pas clairement élucidés et méritent des études supplémentaires pour répondre à cette question. Cependant, certaines données ont montré des divergences entre ces génotypes.

Tout d'abord, sur le plan virologique, la structure du génotype 4 au niveau génotypique est singulière du fait d'une insertion nucléotidique d'une base uracile au niveau du nucléotide 5159 de l'ORF3. Celle-ci n'est pas retrouvée dans les autres génotypes et affecterait l'initiation de la traduction de l'ORF3 et de l'ORF2. Ainsi, l'ORF-3 se situerait vingt-

huit bases en aval de l'ORF-1 pour le génotype 4 alors qu'il existerait un chevauchement d'un nucléotide à la jonction ORF1/ORF3 pour les autres génotypes. De même, les conséquences de cette insertion feraient que l'ORF2 du génotype 4 posséderait quatorze codons supplémentaires à son extrémité 5' (152)(153).

D'autre part, de nombreuses mutations modulant la réplication et la pathogénèse virale ont été décrites au sein des différentes régions de l'ARN, et créent une diversité au sein des souches virales du VHE (37). Parmi celles-ci, on retrouve la mutation silencieuse U3148, dans le domaine de l'hélicase, qui est significativement plus retrouvée en cas d'hépatite fulminante qu'en cas d'hépatite aiguë, et lorsque le génotype 4 est impliqué plutôt qu'un autre génotype (154). Cette mutation, silencieuse, pourrait modifier la structure secondaire de l'ARN viral et favoriser la traduction des protéines virales, mécanisme pouvant expliquer sa pathogénèse (154).

Enfin, sur le plan immunologique, certaines études montrent que la réponse immunitaire innée de l'hôte est modulée de manière différente selon le génotype impliqué. Ainsi, le génotype 1 favoriserait la production de cytokines pro-inflammatoires, et entraînerait des formes cliniques plus sévères que le génotype 3, notamment chez la femme enceinte (33). Quant au génotype 4, une publication récente montre une production plus importante d'interferon lambda 3 (IFN- λ 3), chez les patients infectés par le génotype 4 par rapport à ceux infectés par le génotype 3 (61). Cette molécule, appartenant aux interférons de type III, et produite à la phase précoce de l'infection semble permettre une réponse immunitaire anti-VHE efficace, mais pourrait aussi avoir une action directe sur les hépatocytes en induisant leur lyse, et donc *in fine* entraîner une augmentation des ALAT. De la même manière, on retrouve dans notre étude, une survenue de fièvre plus fréquente chez les patients infectés par le génotype 3 que chez ceux infectés par le génotype 4; une étude des profils cytokiniques induits par ces deux génotypes serait nécessaire, pour éventuellement, expliquer ce résultat.

En conclusion, l'hétérogénéité des souches virales en perpétuelle évolution ainsi que la complexité de la réponse immunitaire – innée et acquise – à chacune de ces souches nécessitent d'autres investigations afin de mieux comprendre la pathogénicité du virus de l'hépatite E, de ses différents géotypes, et même de ses différents sous-types.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Kamar N, Izopet J, Pavio N, Aggarwal R, Labrique A, Wedemeyer H, et al. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17086.
2. Dalton H, Kamar N, Baylis S, Moradpour D, Wedemeyer H, Negro F. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *Journal of Hepatology*. 2018;68(6):1256- 71.
3. Rapports d'activité « Centre National de Référence VHA VHE [Internet]. [cité 29 juill 2020]. Disponible sur: <http://www.cnrvha-vhe.org/?cat=10>
4. Hépatite E - Santé publique France [Internet]. Santé Publique France. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/hepatites-virales/hepatite-e/la-maladie/>
5. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, L. R. Overby, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244(4902):359- 62.
6. Khuroo MS. Study of an epidemic of non-A, non-B hepatitis. Possibility of another human hepatitis virus distinct from post-transfusion non-A, non-B type. *Am J Med*. 1980;68(6):818- 24.
7. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirol*. 1983;20(1):23- 31.
8. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, Young LM, Fry KE, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1990;247(4948):1335- 9.
9. Po Y, Aw T, Ke F, K K, Ka M, Dw B, et al. Hepatitis E virus: identification of type-common epitopes. *J Virol*. 1991;65(11):5790- 7.
10. Purdy MA, Harrison TJ, Jameel S, Meng X-J, Okamoto H, Van der Poel WHM, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Hepeviridae. *J Gen Virol*. 2017;98(11):2645- 6.
11. Sridhar S, Yip CCY, Wu S, Cai J, Zhang AJ-X, Leung K-H, et al. Rat Hepatitis E Virus as Cause of Persistent Hepatitis after Liver Transplant. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(12):2241- 50.
12. Andonov A, Robbins M, Borlang J, Cao J, Hachette T. Rat Hepatitis E Virus Linked to Severe Acute Hepatitis in an Immunocompetent Patient. *J Infect Dis*. 2019;220(6):951- 5.
13. Sridhar S, Yip CC-Y, Wu S, Chew NF-S, Leung K-H, Chan JF-W, et al. Transmission of rat hepatitis E virus infection to humans in Hong Kong: a clinical and epidemiological analysis. *Hepatology*. 2020;hep.31138.
14. Lhomme S, Abravanel F, Capelli N, Marion O, Costa HE, Jabrane-Ferrat N, et al. Virus de l'hépatite E : de l'organisme infecté à la réponse cellulaire. *Virologie*. 2018;22(5):239- 50.
15. Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Origin and dispersal of Hepatitis E virus. *Emerg Microbes Infect*. 2018;7(1):11.
16. Lee G-H, Tan B-H, Teo EC-Y, Lim S-G, Dan Y-Y, Wee A, et al. Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Liver Transplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk. *Gastroenterology*. 2016;150(2):355-357.e3.
17. Nimgaonkar I, Schwartz RE, Ploss A. Hepatitis E virus: advances and challenges. *Nat*

Rev Gastroenterol Hepatol. 2018;15(2):96-110.

18. Smith DB, Izopet J, Nicot F, Simmonds P, Jameel S, Meng X-J, et al. Update: proposed reference sequences for subtypes of hepatitis E virus (species Orthohepevirus A). *J Gen Virol*. 2020;101:692-8.
19. Izopet J, Tremeaux P, Marion O, Miguères M, Capelli N. Hepatitis E virus infections in Europe. *J Clin Virol*. 2019;120:20-6.
20. Bouquet J, Tessé S, Lunazzi A, Eloit M, Rose N. Close similarity between sequences of hepatitis E virus recovered from humans and swine, France, 2008-2009. *Emerging Infect Dis*. 2011;17(11):2018-25.
21. Ankavay M, Dubuisson J, Cocquerel L. Le virus de l'hépatite E - Un virus méconnu qui se dévoile. *Med Sci (Paris)*. 2018;34(12):1071-8.
22. Koonin EV, Gorbalenya AE, Purdy MA, Rozanov MN, Reyes GR, Bradley DW. 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 USA*. 1992;89(17):8259-63.
23. Zafrullah M, Ozdener MH, Kumar R, Panda SK, Jameel S. Mutational analysis of glycosylation, membrane translocation, and cell surface expression of the hepatitis E virus ORF2 protein. *J Virol*. 1999;73(5):4074-82.
24. Yamashita T, Mori Y, Miyazaki N, Cheng RH, Yoshimura M, Unno H, et al. Biological and immunological characteristics of hepatitis E virus-like particles based on the crystal structure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(31):12986-91.
25. Montpellier C, Wychowski C, Sayed IM, Meunier J-C, Saliou J-M, Ankavay M, et al. Hepatitis E Virus Lifecycle and Identification of 3 Forms of the ORF2 Capsid Protein. *Gastroenterology*. 2018;154(1):211-223.e8.
26. Ding Q, Heller B, Capuccino J, Song B, Nimgaonkar I. Hepatitis E virus ORF3 is a functional ion channel required for release of infectious particles. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;114(5):1147-52.
27. Takahashi M, Yamada K, Hoshino Y, Takahashi H, Ichiyama K, Tanaka T, et al. Monoclonal antibodies raised against the ORF3 protein of hepatitis E virus (HEV) can capture HEV particles in culture supernatant and serum but not those in feces. *Arch Virol*. 2008;153(9):1703-13.
28. Nair VP, Anang S, Subramani C, Madhvi A, Bakshi K, Srivastava A, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Induced Synthesis of a Novel Viral Factor Mediates Efficient Replication of Genotype-1 Hepatitis E Virus. *PLoS Pathog*. 2016;12(4):e1005521.
29. Williams TPE, Kasorndorkbua C, Halbur PG, Haqshenas G, Guenette DK, Toth TE, et al. Evidence of Extrahepatic Sites of Replication of the Hepatitis E Virus in a Swine Model. *J Clin Microbiol*. 2001;39(9):3040-6.
30. Geng Y, Zhao C, Huang W, Harrison T, Zhang H, Geng K, et al. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J Hepatol*. 2016;64(1):37-43.
31. Drave SA, Debing Y, Walter S, Todt D, Engelmann M. Extra-hepatic replication and infection of hepatitis E virus in neuronal-derived cells. *J Viral Hepat*. 2016;23(7):512-21.

32. Bose P, Das B, Hazam R, Kumar A, Medhi S, Kar P. Evidence of extrahepatic replication of hepatitis E virus in human placenta. *J Gen Virol*. 2014;95(Pt 6):1266-71.
33. Gouilly J, Chen Q, Arzouni J, Cartron G, Levy C. Genotype specific pathogenicity of hepatitis E virus at the human maternal-fetal interface. *Nat Commun*. 2018;9(1):4748.
34. Marion O, Lhomme S, Nayrac M, Dubois M, Pucelle M, Requena M, et al. Hepatitis E virus replication in human intestinal cells. *Gut*. 2020;69(5):901-10.
35. Kalia M, Chandra V, Rahman S, Sehgal D, Jameel S. Heparan sulfate proteoglycans are required for cellular binding of the hepatitis E virus ORF2 capsid protein and for viral infection. *J Virol*. 2009;83(24):12714-24.
36. Kenney SP, Meng X-J. Hepatitis E Virus Genome Structure and Replication Strategy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2019;9(1):a031724.
37. van Tong H, Hoan NX, Wang B, Wedemeyer H, Bock C-T, Velavan T. Hepatitis E Virus Mutations: Functional and Clinical Relevance. *EBioMedicine*. 2016;11:31-42.
38. Nagashima S, Takahashi M, Jirintai, Tanaka T, Yamada K, Nishizawa T, et al. A PSAP motif in the ORF3 protein of hepatitis E virus is necessary for virion release from infected cells. *Journal of General Virology*. 2011;92(2):269-78.
39. Principaux repères sur l'hépatite E [Internet]. [cité 20 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>
40. Mansuy J-M, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Sauné K, Miédouge M, Ellis V, et al. Hepatitis E Virus Antibodies in Blood Donors, France. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(12):2309-12.
41. Mansuy JM, Gallian P, Dimeglio C, Saune K, Arnaud C, Pelletier B, et al. A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors. *Hepatology*. 2016;63(4):1145-54.
42. Thom K, Gilhooly P, McGowan K, Malloy K, Jarvis L, Crossan C, et al. Hepatitis E virus (HEV) in Scotland: evidence of recent increase in viral circulation in humans. *Eurosurveillance*. 2018;23(12):17-00174.
43. Dai X, Dong C, Zhou Z, Liang J, Dong M. Hepatitis E Virus Genotype 4, Nanjing, China, 2001–2011. *Emerg Infect Dis*. 2013;19(9):1528-30.
44. Ren X, Wu P, Wang L, Geng M, Zeng L, Zhang J, et al. Changing Epidemiology of Hepatitis A and Hepatitis E Viruses in China, 1990–2014. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(2):276-9.
45. Zhu F-C, Huang S-J, Wu T, Zhang X-F, Wang Z-Z, Ai X, et al. Epidemiology of Zoonotic Hepatitis E: A Community-Based Surveillance Study in a Rural Population in China. *PLOS ONE*. 2014;9(1):e87154.
46. Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E: an emerging awareness of an old disease. *J Hepatol*. 2008;48(3):494-503.
47. Purcell RH, Engle RE, Govindarajan S, Herbert R, St Claire M, Elkins WR, et al. Pathobiology of hepatitis E: lessons learned from primate models. *Emerg Microbes Infect*. 2013;2(3):e9.
48. World Health Organization. Waterborne outbreaks of hepatitis E: recognition, investigation and control. Technical report (WHO, 2014).

49. Colson P, Borentain P, Queyriaux B, Kaba M, Moal V. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis.* 2010;202(6):825- 34.
50. Renou C, Afonso A-M, Pavio N. Foodborne Transmission of Hepatitis E Virus from Raw Pork Liver Sausage, France. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(11):1945- 7.
51. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, Sato S, Fukai K, Kato T, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion.* 2004;44(6):934- 40.
52. Hewitt P, Ijaz S, Brailsford S, Brett R, Dicks S. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet.* 2014;384(9956):1766- 73.
53. Couturier E. SURVEILLANCE DE L'HÉPATITE E EN FRANCE, 2002-2016 / HEPATITIS E SURVEILLANCE IN FRANCE, 2002-2016.
54. Van Cauteran D, Le Strat Y, Sommen C, Bruyand M, Tourdjman M, Da Silva NJ, et al. Estimated Annual Numbers of Foodborne Pathogen-Associated Illnesses, Hospitalizations, and Deaths, France, 2008-2013. *Emerging Infect Dis.* 2017;23(9):1486- 92.
55. Abravanel F, Pique J, Couturier E, Nicot F, Dimeglio C, Lhomme S, et al. Acute hepatitis E in French patients and neurological manifestations. *J Infect.* 2018;77(3):220- 6.
56. Mechnik L, Bergman N, Attali M, Beergabel M, Mosenkis B, Sokolowski N, et al. Acute hepatitis E virus infection presenting as a prolonged cholestatic jaundice. *J Clin Gastroenterol.* 2001;33(5):421- 2.
57. Wenter C, Borena W, Oberhuber G, Graziadei I. Acute liver failure in immunocompetent patients infected with hepatitis E. *Wien Klin Wochenschr.* 2019;131(17):442- 5.
58. Crossan C, Simpson K, Craig D, Bellamy C, Davidson J, Dalton H, et al. Hepatitis E virus in patients with acute severe liver injury. *World J Hepatol.* 2014;6(6):426- 34.
59. Jebblaoui A, Haim-Boukobza S, Marchadier E, Mokhtari C, Roque-Afonso A-M. Genotype 4 Hepatitis E Virus in France: An Autochthonous Infection With a More Severe Presentation. *Clinical Infectious Diseases.* 15 août 2013;57(4):e122- 6.
60. Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, et al. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *Journal of Medical Virology.* 2005;76(3):341- 9.
61. Murata K, Kang J-H, Nagashima S, Matsui T, Karino Y, Yamamoto Y, et al. IFN- λ 3 as a host immune response in acute hepatitis E virus infection. *Cytokine.* 1 janv 2020;125:154816.
62. Ohnishi S, Kang J-H, Maekubo H, Arakawa T, Karino Y, Toyota J, et al. Comparison of clinical features of acute hepatitis caused by hepatitis E virus (HEV) genotypes 3 and 4 in Sapporo, Japan. *Hepatology Research.* 1 déc 2006;36(4):301- 7.
63. Kumar Acharya S, Kumar Sharma P, Singh R, Kumar Mohanty S, Madan K, Kumar Jha J, et al. Hepatitis E virus (HEV) infection in patients with cirrhosis is associated with rapid decompensation and death. *J Hepatol.* 2007;46(3):387- 94.
64. Péron JM, Bureau C, Poirson H, Mansuy JM, Alric L, Selves J, et al. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with

- acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat.* 2007;14(5):298-303.
65. Blasco-Perrin et al H, Madden R-G, Stanley A, Crossan S, Hunter J, Vine L, et al. Hepatitis E virus in patients with decompensated chronic liver disease: a prospective UK/French study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;
66. Tavitian S, Péron J-M, Huynh A, Mansuy J-M, Ysebaert L, Huguet F, et al. Hepatitis E virus excretion can be prolonged in patients with hematological malignancies. *Journal of Clinical Virology.* 2010;49(2):141-4.
67. Khuroo MS, Teli MR, Skidmore S, Sofi MA, Khuroo MI. Incidence and severity of viral hepatitis in pregnancy. *The American Journal of Medicine.* 1981;70(2):252-5.
68. Patra S, Kumar A, Trivedi SS, Puri M, Sarin SK. Maternal and fetal outcomes in pregnant women with acute hepatitis E virus infection. *Ann Intern Med.* 2007;147(1):28-33.
69. Borkakoti J, Ahmed G, Kar P. Report of a novel C1483W mutation in the hepatitis E virus polymerase in patients with acute liver failure. *Infection, Genetics and Evolution.* 2016;44:51-4.
70. Borkakoti J, Ahmed G, Hussain S, Rai A, Kar P. Novel molecular alterations in the ORF 2 capsid gene of hepatitis E virus in patients with acute liver failure in North India. *Arch Virol.* 2014;159(12):3391-4.
71. de Niet A, Zaaijer HL, ten Berge I, Weegink CJ, Reesink HW. Chronic hepatitis E after solid organ transplantation. *Neth J Med.* 2012;70(6):261-6.
72. Marion O, Abravanel F, Del Bello A, Esposito L, Lhomme S, Puissant-Lubrano B, et al. Hepatitis E virus-associated cryoglobulinemia in solid-organ-transplant recipients. *Liver Int.* 2018;38(12):2178-89.
73. Geng Y, Zhang H, Huang W, J Harrison T, Geng K, Li Z, et al. Persistent Hepatitis E Virus Genotype 4 Infection in a Child With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hepat Mon.* 2013;14(1).
74. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, Garrigue V, Pischke S, Chauvet C, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology.* 2011;140(5):1481-9.
75. Kamar N, Selves J, Mansuy J-M, Ouezzani L, Péron J-M, Guitard J, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2008;358(8):811-7.
76. Hoerning A, Hegen B, Wingen A-M, Cetiner M, Lainka E. Prevalence of hepatitis E virus infection in pediatric solid organ transplant recipients--a single-center experience. *Pediatr Transplant.* 2012;16(7):742-7.
77. Kamar N, Abravanel F, Selves J, Garrouste C, Esposito L, Lavayssière L, et al. Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of genotype 3 hepatitis-E virus infection after organ transplantation. *Transplantation.* 2010;89(3):353-60.
78. Dalton H, Bendall R, Keane F, Tedder R, Ijaz S. Persistent carriage of hepatitis E virus in patients with HIV infection. *N Engl J Med.* 2009;361(10):1025-7.
79. Ahmed G, Ijaz S, Rockwood N, Farnworth SP, Devitt E. Chronic Hepatitis E as a cause for cryptogenic cirrhosis in HIV. *J Infect.* 2013;66(1):103-6.
80. Dalton H, Kamar N, van Eijk J, Mclean B, Cintas P. Hepatitis E virus and neurological

injury. *Nat Rev Neurol*. 2016;12(2):77-85.

81. Sood A, Midha V, Sood N. Guillain-Barre syndrome with acute hepatitis E. *Am J Gastroenterology*. 2000;95(12):3667-8.
82. Kamar N, Bendall RP, Peron J-M, Cintas P, Prudhomme L, Mansuy J-M, et al. Hepatitis E Virus and Neurologic Disorders. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(2):173-9.
83. Woolson KL, Forbes A, Vine L, Beynon L, McElhinney L, Panayi V, et al. Extra-hepatic manifestations of autochthonous hepatitis E infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(11-12):1282-91.
84. Kamar N, Izopet J, Cintas P, Garrouste C, Uro-Coste E. Hepatitis E virus-induced neurological symptoms in a kidney-transplant patient with chronic hepatitis. *Am J Transplant*. 2010;10(5):1321-4.
85. Fourquet E, Mansuy JM, Bureau C, Recher C, Vinel JP, Izopet J, et al. Severe thrombocytopenia associated with acute autochthonous hepatitis E. *J Clin Virol*. 2010;48(1):73-4.
86. Shah SAR, Lal A, Idrees M, Hussain A, Jeet C, Malik FA, et al. Hepatitis E virus-associated aplastic anaemia: the first case of its kind. *J Clin Virol*. 2012;54(1):96-7.
87. Zylberman M, Turdó K, Odzak A, Arcondo F, Altabert N, Munné S. Hepatitis E virus-associated aplastic anemia. Report of a case. *Medicina (B Aires)*. 2015;75(3):175-7.
88. Fousekis F, Mitselos I, Christodoulou D. Extrahepatic manifestations of hepatitis E virus: An overview. *Clin Mol Hepatol*. janv 2020;26(1):16-23.
89. Kamar N, Weclawiak H, Guilbeau-Frugier C, Legrand-Abravanel F, Cointault O, Ribes D, et al. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. *Transplantation*. 2012;93(6):617-23.
90. Ali G, Kumar M, Bali S, Wadhwa W. Hepatitis E associated immune thrombocytopaenia and membranous glomerulonephritis. *Indian Journal of Nephrology*. 2001;11:70.
91. Guinault D, Ribes D, Delas A, Milongo D, Abravanel F. Hepatitis E Virus-Induced Cryoglobulinemic Glomerulonephritis in a Nonimmunocompromised Person. *Am J Kidney Dis*. 2016;67(4):660-3.
92. Del Bello A, Guilbeau-Frugier C, Josse A-G, Rostaing L, Izopet J, Kamar N. Successful treatment of hepatitis E virus-associated cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis with ribavirin. *Transpl Infect Dis*. 2015;17(2):279-83.
93. Agrawal P, Kumar V, Kumar A, Sachdeva MUS, Malhotra P. Monoclonal Gammopathy of Renal Significance Triggered by Viral E Hepatitis. *Indian J Nephrol*. 2019;29(1):50-2.
94. Deniel C, Coton T, Brardjanian S, Guisset M, Nicand E. Acute pancreatitis: A rare complication of acute hepatitis E. *Journal of Clinical Virology*. 2011;51(3):202-4.
95. Raj M, Kumar K, Ghoshal UC, Saraswat VA, Aggarwal R, Mohindra S. Acute Hepatitis E-Associated Acute Pancreatitis: A Single Center Experience and Literature Review. *Pancreas*. 2015;44(8):1320-2.
96. Dumoulin F, Liese H. Acute hepatitis E virus infection and autoimmune thyroiditis: yet another trigger? *BMJ Case Rep*. 23 avr 2012;2012. 2012;

97. Premkumar M, Rangegowda D, Vashishtha C, Bhatia V, Khumuckham JS, Kumar B. Acute Viral Hepatitis E Is Associated with the Development of Myocarditis. *Case Reports in Hepatology*. 2015;2015:1-6.
98. Izopet J, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy J-M, Abravanel F. Le virus de l'hépatite E dévoile progressivement ses secrets. *Feuillets de biologie*. 2016;(N° 331).
99. Aggarwal R, Kini D, Sofat S, Naik SR, Krawczynski K. Duration of viraemia and faecal viral excretion in acute hepatitis E. *Lancet*. 2000;356(9235):1081-2.
100. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Miedougé M, Peron J-M, Alric L, et al. Performance of anti-HEV assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. *Journal of Clinical Virology*. 2013;58(4):624-8.
101. Baylis SA, Hanschmann K-M, Blümel J, Nübling C. 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*. 2011;49(4):1234-9.
102. Abravanel F, Sandres-Saune K, Lhomme S, Dubois M, Mansuy J-M. Genotype 3 diversity and quantification of hepatitis E virus RNA. *J Clin Microbiol*. 2012;50(3):897-902.
103. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy J-M, Boineau J, Sauné K, et al. A fully automated system using transcription-mediated amplification for the molecular diagnosis of hepatitis E virus in human blood and faeces. *Journal of Clinical Virology*. 2018;105:109-11.
104. Aggarwal R. Diagnosis of hepatitis E. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(1):24-33.
105. Lan X, Yang B, Li BY, Yin XP, Li XR, Liu JX. Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of Hepatitis E Virus. *J Clin Microbiol*. 2009;47(7):2304-6.
106. Chen Q, Yuan L, Wan J, Chen Y, Du C. Colorimetric detection of hepatitis E virus based on reverse transcription loop mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay. *J Virol Methods*. 2014;197:29-33.
107. Zhang F, Li X, Li Z, Harrison TJ, Chong H, Qiao S, et al. Detection of HEV antigen as a novel marker for the diagnosis of hepatitis E. *Journal of Medical Virology*. 2006;78(11):1441-8.
108. Aggarwal R, Goel A. Advances in hepatitis E - I: virology, pathogenesis and diagnosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;10(9):1053-63.
109. Marion O, Capelli N, Lhomme S, Dubois M, Pucelle M, Abravanel F, et al. Hepatitis E virus genotype 3 and capsid protein in the blood and urine of immunocompromised patients. *Journal of Infection*. 2019;78(3):232-40.
110. Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, Suzuki K, Fujimura K, Masuko K, et al. Simultaneous Detection of Immunoglobulin A (IgA) and IgM Antibodies against Hepatitis E Virus (HEV) Is Highly Specific for Diagnosis of Acute HEV Infection. *J Clin Microbiol*. 2005;43(1):49-56.
111. Shrestha AC, Flower RLP, Seed CR, Stramer SL, Faddy HM. A Comparative Study of Assay Performance of Commercial Hepatitis E Virus Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits in Australian Blood Donor Samples. *Journal of Blood Transfusion*. 2016;2016:1-6.

112. Avellon A, Morago L, Garcia-Galera del Carmen M, Munoz M, Echevarría J-M. Comparative sensitivity of commercial tests for hepatitis E genotype 3 virus antibody detection. *J Med Virol*. 2015;87(11):1934-9.
113. Ma H, Song X, Harrison TJ, Zhang H, Huang W, Wang Y. Hepatitis E virus ORF3 antigens derived from genotype 1 and 4 viruses are detected with varying efficiencies by an anti-HEV enzyme immunoassay. *J Med Virol*. 2011;83(5):827-32.
114. Ulanova TI, Obriadina AP, Talekar G, Burkov AN, Fields HA, Khudyakov YE. A new artificial antigen of the hepatitis E virus. *J Immunoassay Immunochem*. 2009;30(1):18-39.
115. Al-Sadeq D, Majdalawieh A, Mesleh A, Abdalla O, Nasrallah G. Laboratory challenges in the diagnosis of hepatitis E virus. *J Med Microbiol*. 2018;67(4):466-80.
116. Chen H, Lu Y, Howard T, Anderson D, Fong P. Comparison of a New Immunochromatographic Test to Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Rapid Detection of Immunoglobulin M Antibodies to Hepatitis E Virus in Human Sera. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12(5):593-8.
117. Smith DB, Simmonds P, Izopet J, Oliveira-Filho EF, Ulrich RG, Johne R, et al. Proposed reference sequences for hepatitis E virus subtypes. *J Gen Virol*. 2016;97(3):537-42.
118. Legrand-Abravanel F, Mansuy J-M, Dubois M, Kamar N, Peron J-M, Rostaing L, et al. Hepatitis E Virus Genotype 3 Diversity, France. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(1):110-4.
119. Nicot F, Jeanne N, Roulet A, Lefebvre C, Carcenac R, Manno M, et al. Diversity of hepatitis E virus genotype 3. *Rev Med Virol*. 2018;28(5):e1987.
120. Pischke S, Hardtke S, Bode U, Birkner S, Chatzikyrkou C, Kauffmann W, et al. Ribavirin treatment of acute and chronic hepatitis E: a single-centre experience. *Liver Int*. 2013;33(5):722-6.
121. Péron JM, Dalton H, Izopet J, Kamar N. Acute autochthonous hepatitis E in western patients with underlying chronic liver disease: a role for ribavirin? *J Hepatol*. 2011;54(6):1323-4; author reply 1324-1325.
122. Tavitian S, Peron J-M, Huguet F, Kamar N, Abravanel F, Beyne-Rauzy O, et al. Ribavirin for Chronic Hepatitis Prevention among Patients with Hematologic Malignancies. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(8):1466-9.
123. Dalton H, Keane F, Bendall R, Mathew J, Ijaz S. Treatment of chronic hepatitis E in a patient with HIV infection. *Ann Intern Med*. 2011;155(7):479-80.
124. Hajji H, Gérolami R, Aliouat-Denis C, Moreau J, Colson P. Chronic hepatitis E resolution in a human immunodeficiency virus (HIV)-infected patient treated with ribavirin. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41(6):595-7.
125. Debing Y, Emerson S, Wang Y, Pan Q, Balzarini J. Ribavirin inhibits in vitro hepatitis E virus replication through depletion of cellular GTP pools and is moderately synergistic with alpha interferon. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(1):267-73.
126. Todt D, Walter S, Brown R, Steinmann E. Mutagenic Effects of Ribavirin on Hepatitis E Virus—Viral Extinction versus Selection of Fitness-Enhancing Mutations. *Viruses*. 2016;8(10):283.

127. Kamar N, Izopet J, Tripon S, Bismuth M, Hillaire S, Dumortier J, et al. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients. *N Engl J Med*. 2014;370(12):1111-20.
128. Kamar N, Lhomme S, Abravanel F, Cointault O, Esposito L, Cardeau-Desangles I, et al. An Early Viral Response Predicts the Virological Response to Ribavirin in Hepatitis E Virus Organ Transplant Patients: Transplantation. 2015;99(10):2124-31.
129. Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Protracted Fecal Shedding of HEV During Ribavirin Therapy Predicts Treatment Relapse. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;60(1):96-9.
130. Kamar N, Abravanel F, Behrendt P, Hofmann J, Pageaux GP, Esposito L, et al. Ribavirin for Hepatitis E Virus Infection After Organ Transplantation: A Large European Retrospective Multicenter Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;ciz953.
131. Kamar N, Rostaing L, Abravanel F, Garrouste C, Lhomme S, Esposito L, et al. Ribavirin therapy inhibits viral replication on patients with chronic hepatitis e virus infection. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1612-8.
132. Debing Y, Gisa A, Dallmeier K, Pischke S, Bremer B. A Mutation in the Hepatitis E Virus RNA Polymerase Promotes Its Replication and Associates With Ribavirin Treatment Failure in Organ Transplant Recipients. *Gastroenterology*. 2014;147(5):1008-1011.e7.
133. Lhomme S, Kamar N, Nicot F, Ducos J, Bismuth M, Garrigue V, et al. Mutation in the Hepatitis E Virus Polymerase and Outcome of Ribavirin Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(3):1608-14.
134. Debing Y, Ramière C, Dallmeier K, Piorkowski G, Trabaud M-A. Hepatitis E virus mutations associated with ribavirin treatment failure result in altered viral fitness and ribavirin sensitivity. *J Hepatol*. 2016;65(3):499-508.
135. Todt D, Gisa A, Radonic A, Nitsche A, Behrendt P, Suneetha PV, et al. In vivo evidence for ribavirin-induced mutagenesis of the hepatitis E virus genome. *Gut*. 2016;65(10):1733-43.
136. Arnaud P. Les différents interférons : Pharmacologie, mécanismes d'action, tolérance et effets secondaires. *La Revue de Médecine Interne*. 2002;23:449S-458S.
137. Kamar N, Rostaing L, Abravanel F, Garrouste C, Esposito L, Cardeau-Desangles I, et al. Pegylated interferon-alpha for treating chronic hepatitis E virus infection after liver transplantation. *Clin Infect Dis*. 2010;50(5):e30-33.
138. Kamar N, Abravanel F, Garrouste C, Cardeau-Desangles I, Mansuy JM, Weclawiak H, et al. Three-month pegylated interferon-alpha-2a therapy for chronic hepatitis E virus infection in a haemodialysis patient. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(8):2792-5.
139. Zhu F-C, Zhang J, Zhang X-F, Zhou C, Wang Z-Z, Huang S-J, 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*. 2010;376(9744):895-902.
140. Zhang J, Zhang X-F, Huang S-J, Wu T, Hu Y-M, Wang Z-Z, et al. Long-Term Efficacy of a Hepatitis E Vaccine. *N Engl J Med*. 2015;372(10):914-22.
141. Zhang J, Zhang X-F, Huang S-J, Wu T, Hu Y-M, Wang Z-Z, et al. Long-Term Efficacy of a

Hepatitis E Vaccine. *N Engl J Med*. 2015;372(10):914-22.

142. Anand R, Trojnar E, Filter M, Hofmann J. Thermal Stability of Hepatitis E Virus as Estimated by a Cell Culture Method. *Schaffner DW, éditeur. Appl Environ Microbiol*. 2016;82(14):4225-31.

143. Payne BAI, Medhi M, Ijaz S, Valappil M, Savage EJ, Gill ON, et al. Hepatitis E Virus Seroprevalence among Men Who Have Sex with Men, United Kingdom. *Emerg Infect Dis*. 2013;19(2):333-6.

144. D'Alteroche L, Uceda Renteria S, Guarneri D, Orlandi A, Zoccoli A, Benardon S, et al. HEV and HAV seroprevalence in men that have sex with men (MSM): An update from Milan, Italy. *J Med Virol*. 2018;90(8):1323-7.

145. Dauby N, Suin V, Jacques M, Abady M, Van Den Wijngaert S, Delforge M, et al. Hepatitis E virus (HEV): seroprevalence and HEV RNA detection in subjects attending a sexually transmitted infection clinic in Brussels, Belgium. *Epidemiol Infect*. 2017;145(16):3370-4.

146. Heil J, Hoebe C, JPA, Loo I, Cals J, van Liere G, Dukers-Muijers N. Hepatitis E prevalence in a sexual high-risk population compared to the general population. *Khudyakov Y, éditeur. PLoS ONE*. 2018;13(1):e0191798.

147. Miguères M, Ducours M, Dimeglio C, Trimoulet P, Abravanel F, Delobel P, et al. No evidence of sexual transmission of HEV among individuals using HIV pre-exposure prophylaxis. *J Viral Hepat*. 2020;jvh.13367.

148. Domanović D, Tedder R, Blümel J, Zaaijer H, Gallian P. Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: a shift to screening? *Euro Surveill*. 2017;22(16):30514.

149. Sanjuán R, Nebot MR, Chirico N, Mansky LM, Belshaw R. Viral Mutation Rates. *JVI*. 2010;84(19):9733-48.

150. Subissi L, Peeters M, Lamoral S, Klamer S, Suin V, Van Gucht S. Subtype-specific differences in the risk of hospitalisation among patients infected with hepatitis E virus genotype 3 in Belgium, 2010–2018. *Epidemiol Infect*. 2019;147:e224.

151. Abravanel F, Dimeglio C, Castanier M, Péron J-M, Kamar N, Lhomme S, et al. Does HEV-3 subtype play a role in the severity of acute hepatitis E? *Liver Int*. 2020;40(2):333-7.

152. Wang Y, Zhang H, Ling R, Li H, Harrison TJ. The complete sequence of hepatitis E virus genotype 4 reveals an alternative strategy for translation of open reading frames 2 and 3. *Journal of General Virology*. 2000;81(7):1675-86.

153. Takahashi K, Kang J-H, Ohnishi S, Hino K, Miyakawa H, Miyakawa Y, et al. Full-Length Sequences of Six Hepatitis E Virus Isolates of Genotypes III and IV from Patients with Sporadic Acute or Fulminant Hepatitis in Japan. *Intervirology*. 2003;46(5):308-18.

154. Inoue J, Nishizawa T, Takahashi M, Aikawa T, Mizuo H, Suzuki K, 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. *Journal of Medical Virology*. 2006;78(4):476-84.

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances
- 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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession
- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens
- De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date

Signature de l'étudiant et du Président du jury

Version validée par la conférence des Doyens de facultés de Pharmacie le 7 février 2018

Résumé en français :

Les génotypes 3 et 4 de l'hépatite E sont les principaux agents responsables d'hépatites aiguës dans les pays industrialisés. Alors que le génotype 3 est principalement retrouvé en Europe et en Amérique, le génotype 4 prédomine quant à lui en Asie. Dans la littérature, plusieurs études japonaises suggèrent que le VHE-4 pourrait être plus virulent que le VHE-3. Dans cette étude, nous avons analysé les paramètres clinico-biologiques de 27 patients immunocompétents français et belges présentant une hépatite E aiguë de génotype 4. Chacun d'entre eux a été apparié sur l'âge (+/- 5ans) et sur le sexe à deux patients infectés par le génotype 3 de l'hépatite E. L'analyse bivariée a en effet retrouvé des taux d'ALAT (2067 vs 1566 UI/L; p= 0.016), d'ASAT (1581 vs 657 UI/L; p=0.003) et de bilirubine totale (92.4 vs 47 µmol/L; p=0.046) plus élevés chez les patients infectés par le génotype 4 que chez les patients infectés par le génotype 3 au moment du diagnostic. En revanche, les patients infectés par le génotype 3 rapportaient de manière plus fréquente une coloration foncée des urines (71% vs 39%, p=0.02) et de l'asthénie (89% vs 58%, p<0.01). Cependant, l'analyse multivariée n'a montré qu'une augmentation plus importante des ALAT ainsi qu'une fièvre moins fréquente (OR = 0.1244; 95% IC: 0,01887-0,82020) chez les patients infectés par le génotype 4.

Des études supplémentaires seront nécessaires afin d'élucider les facteurs virologiques et immunologiques pouvant expliquer les caractéristiques clinico-biologiques du génotype 4.

Titre et résumé en Anglais : HEV genotype 4 severity in Europe

Hepatitis E virus genotype 3 (HEV-3) and genotype 4 (HEV-4) are major etiologic agents of acute hepatitis in industrialized countries. While genotype 3 is mainly found in Europe and America, genotype 4 is predominantly found in Asia. Several Japanese studies have suggested that HEV-4 may be more virulent than HEV-3. We have analysed the clinical and biological parameters from 27 French and Belgian immunocompetent patients with an HEV genotype 4 infection. Each HEV-4 infected patients was matched for age (+/- 5 years) and sex with 2 HEV-3 infected patients. Bivariate analysis indicated that HEV-4 infected patients had significantly higher ALT activities (2067 vs 1566 IU/L; p= 0.016), AST activities (1581 vs 657 IU/L; p=0.003) and total bilirubin levels (92.4 vs 47 µmol/L; p=0.046) than patients infected with HEV-3 at the time of diagnosis. By contrast, HEV-3 infected patients reported more frequently dark urine (71% vs 39%, p=0.02) and asthenia (89% vs 58%, p<0.01) than HEV-4 infected patients. Finally, stepwise regression analysis only retained a greater increase in ALT (OR: 1.0005, 95%CI: 1.00012-1.00084) and less fever (OR = 0.1244; 95% IC: 0,01887-0,82020) in patients infected with HEV-4.

The virological and immunological factors that may explain the clinical and biological features of HEV-4 patients deserves further studies.

DISCIPLINE administrative : Virologie

MOTS-CLES : Virus de l'hépatite E, pathogénicité, génotype

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Service de Virologie

Institut fédératif de biologie – CHU Toulouse Purpan

330 Avenue de Grande Bretagne, 31300 Toulouse

Directeur de thèse : Dr Abravanel Florence