

# THÈSE

## POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE SPECIALITÉ BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue  
publiquement par

**Bastien BARATS**

Le 29 Avril 2021

### ETUDE DES CYTOKINES CHEZ DES PATIENTS INFECTÉS CHRONIQUEMENT PAR LE VIRUS DE L'HÉPATITE E TRAITÉS PAR RIBAVIRINE

Directeur de thèse : Dr Florence ABRAVANEL

#### JURY :

**Monsieur le Professeur Jacques IZOPET**

**Président**

**Madame le Docteur Florence ABRAVANEL**

**Assesseur**

**Madame le Docteur Bénédicte PUISSANT**

**Assesseur**

**Monsieur le Docteur Olivier MARION**

**Assesseur**



FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : D. CARRIE

P.U. - P.H.		P.U. - P.H.	
Classe Exceptionnelle et 1ère classe		2ème classe	
M. AMAR Jacques	Thérapeutique	Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie	M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. AVET-LOISEAU Hervé	Hématologie, transfusion	Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine Interne	M. CAVIGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
M. BLANCHER Antoine (C.E)	Immunologie (option Biologique)	M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. BOSSAVY Jean-Pierre (C.E)	Chirurgie Vasculaire	M. LA ROCHE Michel	Rhumatologie
M. BRASSAT David	Neurologie	M. LOPEZ Raphael	Anatomie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul	M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. BUREAU Christophe	Hépatogastro-entérologie	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. CALVAS Patrick (C.E)	Génétique	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	Mme PASQUET Marlène	Pédiatrie
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
Mme CHARPENTIER Sandrine	Médecine d'urgence	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	M. SIZUN Jacques	Pédiatrie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	Mme TREMOLLIÈRES Florence	Biologie du développement
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.	Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie		
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique		
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie	<b>P.U. Médecine générale</b>	
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. MESTHÉ Pierre	
M. GAME Xavier	Urologie		
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	<b>Professeur Associé Médecine générale</b>	
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. ABITTEBOUL Yves	
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	M. POUTRAIN Jean-Christophe	
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition		
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'Urgence	<b>Professeur Associé en Bactériologie-Hygiène</b>	
M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale	Mme MALAVALD Sandra	
M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque		
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie		
M. MALAVALD Bernard	Urologie		
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique		
M. MARCHOU Bruno	Maladies Infectieuses		
M. MAS Emmanuel	Pédiatrie		
M. MAZIERES Julien	Pneumologie		
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique		
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie		
Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie		
Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie		
M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie		
M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique		
M. PARIENTE Jérémie	Neurologie		
M. PARINAUD Jean (C.E)	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie		
M. PAYOUX Pierre	Biophysique		
M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie		
M. PERON Jean-Marie	Hépatogastro-entérologie		
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie		
M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie		
M. RECHER Christian(C.E)	Hématologie		
M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie		
M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile		
M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie		
M. SANS Nicolas	Radiologie		
Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques		
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie		
M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale		
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépatogastro-entérologie		
<b>P.U. Médecine générale</b>			
M. OUSTRIC Stéphane (C.E)			
<b>Professeur Associé de Médecine Générale</b>			
Mme IRI-DELAHAYE Motoko			



**M.C.U. - P.H.**

M. APOIL Pol Andre	Immunologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie
Mme BELLIERES-FABRE Julie	Néphrologie
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion
M. BIETH Eric	Génétiq ue
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie
M. CONGY Nicolas	Immunologie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie
M. Curot Jonathan	Neurologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie
Mme de GLISEZENSKY Isabelle	Physiologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie
M. GANTET Pierre	Biophysique
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
M. HAMDJ Safouane	Biochimie
Mme HITZEL Anne	Biophysique
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme MASSIP Clémence	Bactériologie-virologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
Mme MOREAU Marion	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire
Mme PERROT Aurore	Hématologie
M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique
M. TREINER Emmanuel	Immunologie

**M.C.U. Médecine générale**

M. BRILLAC Thierry  
Mme DUPOUY Julie

**M.C.A. Médecine Générale**

Mme FREYENS Anne  
M. CHICOULAA Bruno  
Mme PUECH Marielle

**M.C.U. - P.H**

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
Mme BREHIN Camille	Pneumologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
M. CMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
M. CHASSAING Nicolas	Génétiq ue
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytotologie pathologiques
Mme CORRE Jill	Hématologie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytotologie
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
M. GASQ David	Physiologie
M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
M. GUERBY Paul	Gynécologie-Obstétrique
M. GUIBERT Nicolas	Pneumologie
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LEPAGE Benoit	Bio statistiques et Informatique médicale
Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
Mme NASR Nathalie	Neurologie
Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et médecine nucléaire
M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
Mme SIEGFRIED Aurore	Anatomie et cytotologie pathologiques
Mme VALLET Marion	Physiologie
M. VERGEZ François	Hématologie
Mme VIJA Lavinia	Biophysique et médecine nucléaire
M. YRONDI Antoine	Psychiatrie d'adultes

**M.C.U. Médecine générale**

M. BISMUTH Michel  
M. ESCOURROU Emile

**M.C.A. Médecine Générale**

M. BIREBENT Jordan  
Mme BOURGEOIS Odile  
Mme BOUSSIER Nathalie  
Mme LATROUS Leila

## **REMERCIEMENTS AUX MEMBRES DU JURY**

A Madame le docteur Florence Abravanel, je te remercie chaleureusement pour avoir accepté de m'encadrer sur ce sujet de thèse et pour le soutien et le temps que tu m'as consacré en dépit du contexte particulier de crise sanitaire.

A Madame le docteur Bénédicte Puissant, je vous remercie pour avoir gentiment accepté de faire partie de mon jury. Soyez assurée de mon profond respect.

A Monsieur le docteur Olivier Marion, je vous remercie pour avoir accepté de juger mon travail et d'y apporter votre regard de clinicien. Je vous prie d'accepter mes considérations respectueuses.

A Monsieur le professeur Jacques Izopet, je vous remercie pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider le jury et juger mon travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

## REMERCIEMENTS PERSONNELS

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail, merci pour votre aide, votre implication et votre gentillesse.

Je tiens à remercier très chaleureusement tous les biologistes, techniciens et cliniciens qui ont consacré de leur temps à ma formation pendant toutes ces années.

Aux équipes de biochimie, merci de m'avoir permis de découvrir le monde de la biologie. Cela m'a permis de réaliser à quel point la discipline peut-être vaste et intéressante.

Aux équipes d'hématologie, merci de m'avoir conforté dans le choix de cette belle spécialité qu'est la biologie médicale grâce à votre pédagogie et vos enseignements. Je n'oublierai pas tous les bons moments passés avec vous.

Aux équipes de parasitologie, merci pour la super ambiance qui règne dans votre secteur, j'ai passé un excellent semestre chez vous, je n'oublierai pas votre gentillesse.

Aux équipes de bactériovirologie, merci pour votre implication et votre sympathie, j'ai passé de très bons moments en votre compagnie.

Mention spéciale aux biologistes du CH d'Albi (Pascal, Carole, Laura et Cédric) ainsi qu'à toute l'équipe du labo pour leur accueil et leur bonne humeur. J'y ai passé un de mes meilleurs stages malgré le contexte sanitaire naissant à cette période.

Merci également à toute l'équipe de l'EFS de Toulouse pour ce dernier semestre particulièrement agréable, c'est un vrai plaisir de travailler dans une telle ambiance, ne changez rien !

J'adresse un grand merci à tous les internes avec qui j'ai passé ces 4 dernières années. La liste est trop grande pour que je prenne le risque de tous vous citer un par un sans en oublier, mais sachez que vous m'avez tous apporté quelque chose, et je suis heureux d'avoir pu travailler avec autant de personnes formidables.

Petite mention spéciale malgré tout pour Vuthy et Alizée avec qui j'ai passé les 2 premières années sans interruption, merci pour votre bonne humeur et votre disponibilité qui m'ont apporté un grand soutien, j'ai beaucoup apprécié mes semestres avec vous !

A mes amis, notamment Jérémy et Alexis, merci d'avoir traversé avec moi cette longue et difficile période que sont les études de médecine. Nos soirées et nos fou-rires resteront à jamais gravés dans ma mémoire et j'espère qu'on pourra très vite se retrouver dès que la situation sanitaire le permettra.

A ma famille :

A mon papa en or, qui a toujours été là pour m'apporter le coup de pouce (la « grinta ») dont j'avais besoin pour avancer, merci énormément pour tout ce que tu fais pour moi et pour toute la famille. Ton soutien a toujours été sans faille et je te dois quasiment tout aujourd'hui. Tu es clairement le pilier de la famille et je suis fier d'être ton fils.

A ma maman, partie beaucoup trop tôt, merci d'avoir toujours été là pour moi. Ton soutien infaillible et ta confiance inébranlable en moi m'ont toujours poussé à me dépasser et à donner le meilleur de moi-même. Je regrette infiniment que tu ne puisses assister ce soir à l'aboutissement de toutes ces années de travail et j'espère t'avoir rendue fière jusqu'au bout. Mes pensées vont toujours vers toi, je ne t'oublie pas maman.

A mon frère, un énorme merci pour tes précieux conseils (que je ne suis pas toujours à ton plus grand désespoir !) et tous ces bons moments passés ensemble. D'aussi loin que je me souviens, tu as toujours été mon idole et je ne serais certainement pas là où j'en suis aujourd'hui sans ton soutien. Merci pour tout.

A mes grands-parents d'Oloron, vous m'avez élevé en grande partie et je ne vous remercierai jamais assez pour toutes ces heures passées à vous occuper de moi. C'est grâce à votre dévouement que je suis ce que je suis, merci pour toutes ces années passées à vos côtés. J'espère que vous serez fiers de moi.

A mon grand-père de Ledeuix, je te dédicace également ce travail, merci pour toutes ces anecdotes qui égayaient mes visites à chaque fois.

A ma grand-mère de Ledeuix, je regrette que tu ne sois plus là aujourd'hui pour que l'on puisse fêter ensemble la fin de mes études.

A ma belle-sœur Cécile, merci pour ton aide ces dernières années, c'est un plaisir de t'avoir dans la famille, et encore félicitations pour ta thèse fraîchement passée.

A ma belle-famille : Sophie, Christophe et Simon, un énorme merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté, pour ces belles vacances passées ensemble et pour m'avoir fait naître une passion pour la détection de loisir. Vous êtes les plus géniaux des beaux-parents et beau-frère, merci pour tout et bon courage à Simon pour la suite de ses études.

Enfin, à ma très chère fiancée, Manon, merci d'avoir été là pour moi toutes ces années. Ta présence m'a tellement enrichi, je suis très heureux d'avoir pu partager tous ces moments avec toi. Ton humour, ta bonne humeur et ta joie de vivre m'auront permis de surmonter toutes les difficultés que j'ai pu rencontrer. Merci pour tout, je pense à toutes les belles choses qui nous attendent après tes ECN, courage c'est la dernière ligne droite !

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>10</b>
HISTORIQUE .....	10
DESCRIPTION DU VIRUS .....	11
EPIDEMIOLOGIE .....	14
1- Répartition géographique.....	14
2- Pays en développement.....	15
3- Pays industrialisés .....	16
PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VHE .....	18
CLINIQUE.....	20
1- Hépatite aiguë.....	20
2- Hépatite chronique .....	21
3- Manifestations extra-hépatiques.....	22
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE.....	23
1- Marqueurs non spécifiques d'atteinte hépatique .....	23
2- Sérologie.....	23
3- Diagnostic direct.....	24
4- Algorithme diagnostic .....	26
TRAITEMENTS .....	27
1- Formes aiguës .....	27
2- Formes chroniques .....	27
REPONSE IMMUNITAIRE ANTIVIRALE .....	33
1- Immunité innée.....	33
2- Immunité adaptative.....	36
<b>OBJECTIF</b> .....	<b>38</b>
<b>PATIENTS ET METHODES</b> .....	<b>38</b>
PATIENTS : .....	38
METHODES :.....	38
PRINCIPE DE LA METHODE :.....	39
PROTOCOLE.....	41
ANALYSES STATISTIQUES.....	41
<b>RESULTATS</b> .....	<b>42</b>
1- PROFIL TH1.....	45
2- PROFIL TH2.....	48
3- PROFIL TH17 .....	51
4- AUTRES CYTOKINES.....	54
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>57</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>62</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>63</b>

# INTRODUCTION

## Historique

Le virus de l'hépatite E (VHE) a longtemps été méconnu du fait d'un mode de transmission similaire au virus de l'hépatite A (VHA), si bien que ce dernier était considéré comme le seul virus hépatotrope à transmission hydrique jusque dans les années 1980. C'est en 1978 que l'existence d'un nouveau virus responsable d'hépatite transmissible par voie entérale fut suspectée pour la première fois lors de grandes épidémies liées aux conditions sanitaires au Cachemire en Inde (1).

Finalement, en 1983 au cours d'une autre épidémie en Afghanistan, les particules virales du VHE furent mises en évidence dans les selles d'un volontaire ayant ingéré des échantillons de selles contaminées appartenant à 9 patients atteints d'hépatite non-A non-B (2).

Son génome fut ensuite séquencé en 1990 à partir de la bile de macaques infectés expérimentalement (3). L'identification du VHE chez le porc en 1997 (4) souleva la question du risque zoonotique dans les pays développés.

Par la suite, des travaux datant de la fin des années 2000 ont mis en évidence des cas d'infections chroniques chez des patients immunodéprimés que ce soit dans le cadre d'une transplantation d'organes solides (5), d'hémopathies malignes (6, 7) ou encore d'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (8). Aujourd'hui la répartition mondiale de l'hépatite E est reconnue, avec cependant différents modes de transmission et formes cliniques selon le génotype viral et la zone géographique.

## Description du virus

Le VHE est un virus de la famille des *Hepeviridae*, lui-même divisé en deux genres : *Orthohepevirus* et *Piscihepevirus*. Le genre *Orthohepevirus* comporte 4 espèces : A, B, C et D. *Orthohepevirus A* était jusqu'à présent identifiée comme la seule espèce contenant les différents génotypes pouvant infecter l'homme. On en dénombre actuellement 8, lesquels présentent des spécificités d'hôtes (9).

Les génotypes 1 et 2 sont les seuls exclusivement présents chez l'humain. Les autres génotypes ont été pu être isolés chez différentes espèces dont l'humain et le cochon (HEV-3, 4 et 7), le sanglier (HEV-3 à 6), le lapin, les cervidés, la mangouste et le dauphin (HEV-3), et plus récemment les camélidés (HEV-7 et 8). Des cas de transmission zoonotiques à l'homme ont été rapportés pour les génotypes 3, 4 et 7 (9).

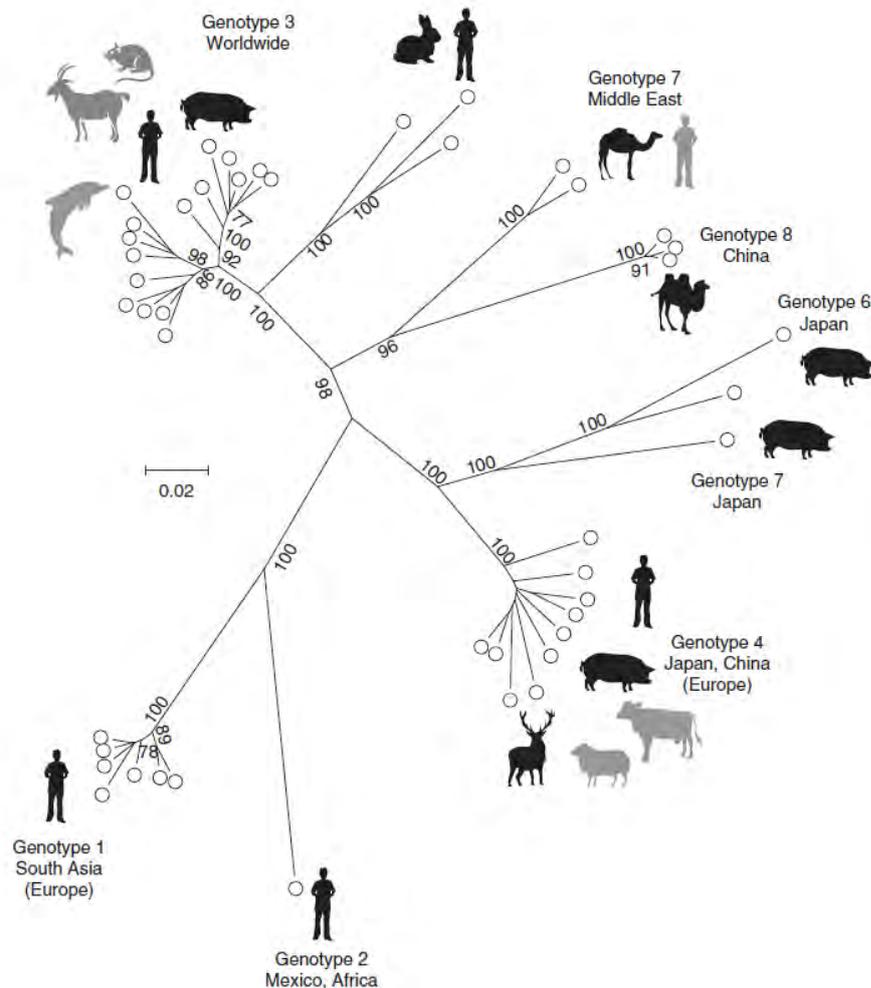


Figure 1. Arbre phylogénétique des génotypes au sein de l'espèce *Orthohepevirus A*. Adapté de Smith et al. 2018.

Malgré cette variété de génotypes, il n'existe qu'un seul sérotype englobant tous les virus de l'hépatite E infectant l'être humain.

Malgré la prédominance des *Orthohepevirus A.* chez l'homme, une étude récente a confirmé plusieurs cas d'infection par un virus appartenant à l'espèce des *Orthohepevirus C.* (10) Cette espèce infecte classiquement les rongeurs, mais également d'autres espèces carnivores telles que les ours, les furets et les putois. (11).

L'*Orthohepevirus B.* est responsable d'infections chez le poulet (12) mais peut également concerner les oiseaux sauvages (13). Une étude a montré une séroprévalence de 30% parmi la population de poulets des Etats-Unis (12).

L'*Orthohepevirus D.* quant à lui est responsable d'infections chez la chauve-souris. (14)

Le VHE est un virus à ARN monocaténaire de polarité positive, sphérique, de capsidie icosaédrique, et non enveloppé dans le milieu extérieur, de 27 à 34 nm de diamètre.

L'ARN génomique d'environ 7,2kb est encadré par une région 5' non codante coiffée par une 7-méthylguanosine d'une part, et par une région 3' non codante terminée par une queue polyadénylée d'autre part. Il comporte 3 cadres ouverts de lecture (Open Reading Frame : ORF) : ORF1, ORF2 et ORF3. Il est à noter qu'il existe un quatrième cadre de lecture décrit uniquement pour le génotype 1 : ORF4 (15).

L'ORF1 code pour une polyprotéine de 1 693 acides aminés possédant plusieurs domaines : une méthyltransférase, le domaine Y, une cystéine protéase, le domaine riche en proline (PPR) le domaine X, une hélicase et une ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp).

L'ORF2 (p-ORF2) de 660 acides aminés constitue la capsidie virale. Ce cadre est divisé en trois domaines : S (shell), M (middle domain) et P (protruding domain). Il code pour une protéine existant sous deux formes : une glycosylée et une autre plus courte. La première est excrétée en grand nombre dans le sang et participe à l'échappement du virus au système immunitaire. La deuxième correspond à la capsidie virale servant à la constitution des nouveaux virions et est la cible d'anticorps neutralisants. (16)

L'ORF3 chevauche partiellement ORF2 et code pour une phosphoprotéine d'un poids moléculaire de 13 kDa qui est impliquée dans le bourgeonnement des virions.

L'ORF4 chevauche ORF1 et sa fonction n'a été que récemment étudiée. Dans des conditions de stress du réticulum endoplasmique, l'ORF4 stimulerait l'activité de la polymérase virale. (15)

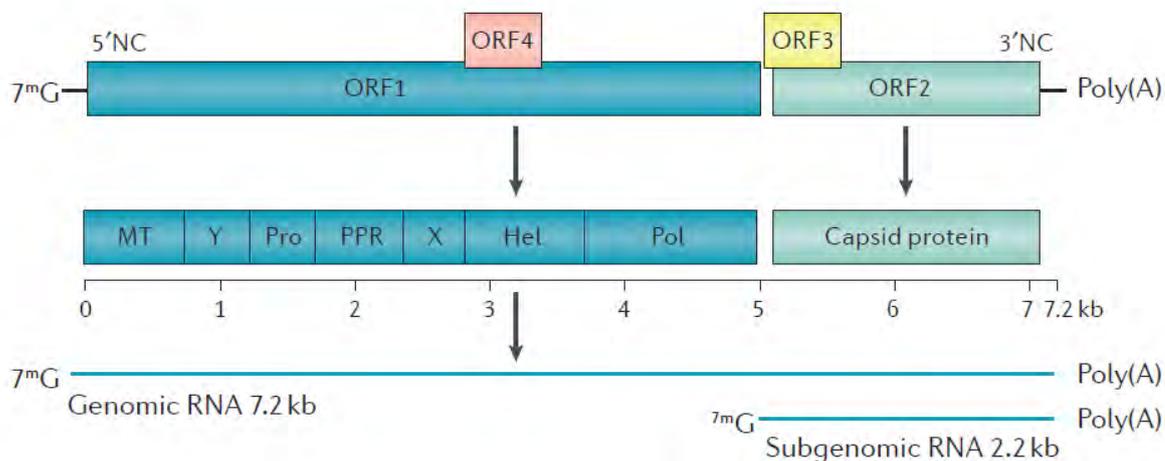


Figure 2. Génome du VHE. Adapté de Kamar et al., 2017.

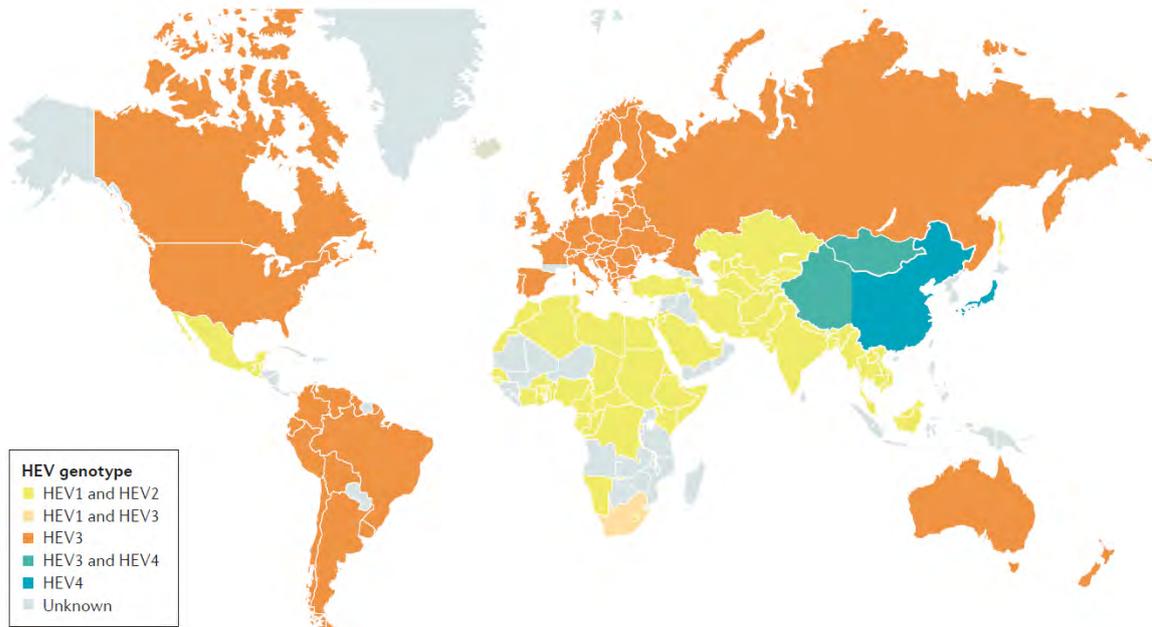
# Epidémiologie

D'après l'OMS, le VHE est la principale cause d'ictère dans le monde avec 20 millions d'infections chaque année soit 3,3 millions de cas symptomatiques. Elle a causé en 2015 environ 44000 décès, ce qui représente 3,3% de mortalité due à l'hépatite virale (17). Les infections à génotype 1 et 2 au cours de la grossesse sont responsables d'une surmortalité importante, avec jusqu'à 30 % de décès maternels au cours du 3e trimestre (18, 19). Elles sont associées à une transmission *in utero* dans 23,3 à 50 % des cas (20). Elles entraîneraient 3000 décès fœtaux chaque année (21).

## 1- Répartition géographique

Le VHE présente pour particularité d'avoir une répartition mondiale différente selon ses différents génotypes (voir **Figure 3.**). Cette distribution est essentiellement liée aux conditions sanitaires et au traitement des eaux usées mis en place dans les différents pays.

Ainsi, les génotypes 1 et 2 sont majoritairement présents dans les pays en développement en Asie, en Afrique et au Mexique. Le génotype 3 est présent dans les pays industrialisés. Le génotype 4 quant à lui semble surtout inféodé à l'Asie du Sud Est et notamment la Chine et le Japon, bien qu'il existe quelques cas en France. (22)



*Figure 3. Répartition mondiale de HEV en fonction des génotypes.*

*Adapté de Kamar et al., 2017.*

## **2- Pays en développement**

La maladie est courante dans les pays à niveau de revenus faible ou intermédiaire. Le mode de transmission est majoritairement hydrique (23). Les autres modes de contamination, bien qu'existants, sont représentés de manière plus anecdotique. Les génotypes principalement représentés sont le 1 et plus rarement le 2.

La grande fréquence de l'hépatite E est directement liée aux mauvaises conditions d'assainissement de l'eau et aux difficultés d'accès aux mesures d'hygiène collective. Dans ces zones, elle se manifeste sous forme de flambées épidémiques (24, 25) ou de cas sporadiques. Ces flambées surviennent lors de la contamination fécale des approvisionnements en eau de boisson et peuvent toucher des centaines voire des milliers de personnes.

Parmi les autres modes de transmission, sont retrouvées les contaminations par le biais des médicaments dérivés du sang et des produits sanguins labiles, et plus rarement par contact direct interhumain. Pour exemple, dans la région du Cachemire en Inde, 1 donneur de sang sur 27 est virémique (26) et des cas de transmission interhumaine directe ont été décrits en Ouganda (27).

### 3- Pays industrialisés

La transmission zoonotique est un vecteur majeur de contamination dans ces pays et prend plusieurs formes (28). Les principaux génotypes sont le 3 et le 4. La population symptomatique concernée est essentiellement représentée par les hommes d'âge moyen (23). La plupart des cas sont sporadiques et les larges épidémies ne semblent pas se produire. Il a en revanche été décrit des petits groupes de malades liés à une source de nourriture contaminée (29). Malgré tout, dans la majorité des cas l'origine de l'infection reste incertaine.

En premier lieu, la consommation de viande pas ou peu cuite apparaît comme le principal moyen de contamination (28). Les animaux concernés sont le porc (et notamment les abats dont le foie) (30), les gibiers tel que le sanglier ou le cerf (30, 31). Un cas d'infection à HEV-7 a été documenté suite à la consommation régulière de viande et de lait de chameau chez un patient transplanté d'organes (32).

En second lieu, les contacts directs avec les populations animales contaminées semblent être à l'origine de plusieurs cas. Ainsi, de fortes séroprévalences ont été retrouvées chez les vétérinaires et les éleveurs de porc en France (33) et aux Etats-Unis (34). De même, les chasseurs et agents des eaux et des forêts semblent plus exposés à ce risque de transmission (35).

Enfin, une transmission environnementale est également responsable d'un certain nombre de cas. Le virus a pu être mis en évidence dans les effluents de ferme (36) et dans l'eau d'irrigation de cultures (37). Il est également possible de se contaminer via des aliments ayant été au contact d'eaux souillées par le VHE, notamment les fruits ou légumes non pelés (38) et les fruits de mer (39).

La transmission par voie sanguine est à prendre en compte, étant donné que les transfusions concernent des patients parfois fragiles chez qui l'infection par le VHE peut avoir de graves conséquences. Des données récentes ont estimé cette même prévalence chez les donneurs de sang français à 1/744 (40). Une autre estimation basée sur la recherche d'anticorps a trouvé une séroprévalence générale en France de 22,4% (41).

Il est intéressant de noter une variation en fonction de l'emplacement géographique, en effet une autre étude a relevé une séroprévalence à 52,5 % dans le sud-ouest de la France (42).

Le dépistage systématique de l'ARN du VHE chez tous les donneurs de sang n'est pas implémenté à l'heure actuelle en France.

La transmission suite à une transplantation d'organe solide infecté a également été décrite. La greffe d'un foie contaminé a entraîné une cirrhose suivie d'un décès chez un receveur (43). La transplantation de deux reins issus d'un même donneur a été responsable de cas d'infections au VHE chez les deux receveurs (44).

Bien que la transmission hydrique ne soit pas majoritaire dans ces pays, une plus faible séroprévalence chez les consommateurs d'eau en bouteille suggèrerait qu'elle soit possible (41).

# Physiopathologie de l'infection par le VHE

Dès lors que le virus est présent dans l'organisme de l'hôte, ce dernier va d'abord infecter les entérocytes (45) avant de rejoindre le foie.

Une fois fixé sur les hépatocytes grâce au protéoglycane d'héparane sulfate présent sur leur membrane, il interagit avec les hépatocytes via un récepteur, non connu actuellement, situé à la surface de la cellule. (46)

L'internalisation se fait par un processus clathrine dépendant qui fait perdre au VHE la couche lipidique qui l'entourait. L'ARN viral est alors libéré dans le cytoplasme hépatocytaire et peut être traduit en la polyprotéine non structurale codée par ORF1. (46)

L'ARN polymérase virale ainsi produite va à son tour synthétiser un brin d'ARN négatif à partir du génome viral initial, qui servira de matrice à la synthèse de nouvelles copies du génome et d'un autre ARN subgénomique de 2,2 kb qui code pour les protéines ORF2 et 3. (46)

La synthèse protéique emprunte la voie du réticulum endoplasmique. L'assemblage des nouveaux virions se fait alors dans le cytoplasme cellulaire en associant l'ARN génomique aux protéines structurales codées par ORF2. Une partie de ces protéines est glycosylée et est alors excrétée sous forme libre dans la circulation sanguine. (46, 16)

Enfin, la protéine codée par ORF3 permet le bourgeonnement des virions par détournement de la voie exosomale. Les virus nouvellement libérés dans le sang sont alors associés à une couche lipidique et cette même protéine. (46)

Le virus circule dans le sang protégé des anticorps neutralisant par une couche lipidique provenant des exosomes cellulaires. (47, 48)

Le VHE est sécrété pour une part dans sang et pour autre part dans les canalicules biliaires où l'action de la bile conjuguée aux protéases intestinales va faire perdre l'enveloppe au virus. C'est ce qui explique cette appellation de virus « quasi-enveloppé ».

Outre le foie qui représente le lieu de réplication majoritaire, d'autres sites sont suspectés et pourraient expliquer les différences de présentation clinique : le rein (49), le système nerveux central (50) et le placenta (51).

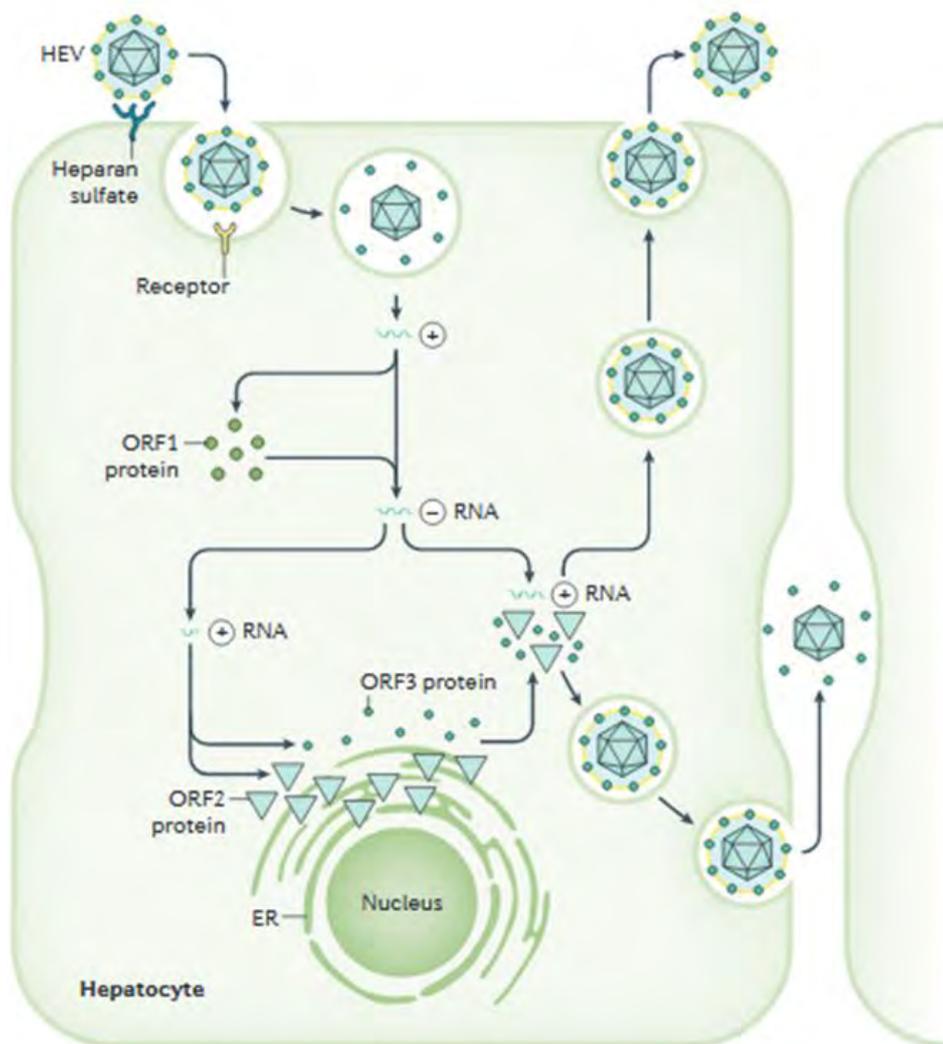


Figure 4. Cycle de réplication du virus intra-hépatocytaire. Adapté de Kamar et al., 2017.

# Clinique

L'hépatite E peut schématiquement se présenter sous deux formes : aiguë et chronique.

L'hépatite aiguë survient après un temps d'incubation variable de 2 à 6 semaines (22). Elle concerne aussi bien les immunocompétents que les immunodéprimés.

La forme chronique se développe a priori quasi-uniquement pour le génotype 3 (22) et semble ne toucher que les personnes présentant une diminution de leur immunité. De rares cas existent pour les génotypes 4 et 7 (52, 32).

Enfin, il existe également des manifestations extra-hépatiques décrites suite à l'infection par le VHE.

## 1- Hépatite aiguë

L'infection est d'expression clinique variable, mais la majorité des cas sont asymptomatiques ou pauci symptomatiques, avec résolution spontanée chez les immunocompétents.

Le symptôme le plus fréquent est l'ictère, présent dans 75 % des cas (22, 53). Les autres symptômes retrouvés communément sont de la fièvre, des nausées, des douleurs abdominales, des vomissements, une anorexie, des malaises et une hépatomégalie (22).

Plus rarement, dans 0,5 à 4% des cas environ, l'infection peut se manifester sous la forme d'une hépatite fulminante, conduisant à des tableaux sévères d'encéphalopathie hépatique (22).

Les patients porteurs d'hépatopathie chronique font des formes plus sévères, qui occasionnent alors une surmortalité et des morbidités importantes (54, 55).

A noter enfin le cas particulier de l'infection des femmes enceintes au 3<sup>ème</sup> trimestre par les génotypes 1 ou 2 du VHE. Ces patientes sont à risque important, de l'ordre de 30%, de faire des complications graves telles qu'une hépatite fulminante, une hémorragie ou encore une éclampsie. Le virus est également à l'origine dans ces situations d'une mortalité infantile non négligeable allant de 10 à 15% (56).

## 2- Hépatite chronique

La forme chronique de l'hépatite E est définie par la persistance du virus au-delà de 3 mois, ce dernier étant détecté par biologie moléculaire dans le sang ou dans les selles (57). Elle se caractérise par des formes le plus souvent pauci-symptomatiques, mais pouvant avoir de graves conséquences.

Le principal facteur de risque de passage à une forme chronique est l'immunodépression qui peut être observée lors de :

- la transplantation d'organes solides (5).
- les hémopathies malignes, incluant les patients greffés de cellules souches (6, 7)
- l'infection par le VIH, notamment avec un taux de lymphocytes CD4 bas (58).
- les traitements immunosuppresseurs chez les patients atteints de maladie inflammatoire chronique (59).

Parmi la population de patients transplantés d'organes solides, une étude rétrospective multicentrique a permis d'estimer le taux de chronicité à 66% des cas environ (60). D'autres études qui se sont focalisées sur les taux de séroconversion ont quant à elles rapporté un taux de passage à la chronicité entre 21 et 50% (61). Cela représente un risque majeur chez cette population étant donné les complications qu'une hépatite E chronique peut entraîner. Parmi celles-ci, on retrouve notamment une évolution rapide vers une cirrhose, dans les 2 ans suivant l'infection chez environ 10% des transplantés (60).

Le choix du traitement immunosuppresseur influence également l'évolution de la maladie. En effet, l'utilisation du tacrolimus semble être un facteur associé à la persistance supérieure à 3 mois lorsqu'on le compare à la ciclosporine A (60). A l'opposé, l'acide mycophénolique est associé à une plus faible prédisposition à la forme chronique (62).

Enfin, il est important de souligner l'importance de la réponse immunitaire de l'hôte face au virus. Effectivement, deux études ont mis en avant chez les patients évoluant vers la chronicité une baisse des taux de lymphocytes CD4, une diminution de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 et du récepteur soluble de l'IL-2 ainsi qu'une hausse des chimiokines impliquées dans le recrutement leucocytaire au niveau hépatique (63, 64).

### **3- Manifestations extra-hépatiques**

En dehors de la classique atteinte hépatique, ont été décrites plusieurs formes de manifestation de l'infection par le VHE.

La pancréatite en fait partie, elle a été décrite dans le cadre d'infections aiguës par le génotype 1 chez des patients ayant voyagé en Inde (65) ainsi que lors d'infections par le génotype 3. (66)

Les autres types de symptômes peuvent se manifester aussi bien en cas d'infection aiguë que chronique.

Il s'agit majoritairement de troubles neurologiques, avec une forte association retrouvée entre le VHE et le syndrome de Guillain-Barré (67, 68), des douleurs neuropathiques, ainsi qu'avec l'amyotrophie névralgique, aussi connue sous le nom de syndrome de Parsonage-Turner (69, 70).

L'infection par le VHE peut également provoquer des atteintes rénales, à type de cryoglobulinémie ou encore de glomérulonéphrites (71).

Enfin, il peut exister une atteinte hématologique, notamment une anémie hémolytique auto-immune, une thrombopénie profonde et parfois même un syndrome d'activation macrophagique. (66)

# Diagnostic biologique

Le diagnostic de l'hépatite E repose sur des signes cliniques ou biologiques d'atteinte hépatique. Il n'existe pas de symptôme spécifique permettant de différencier les virus hépatotropes les uns des autres, c'est pourquoi une mise en évidence directe du virus ou à défaut d'anticorps spécifiques dirigés contre lui est indispensable.

## 1- Marqueurs non spécifiques d'atteinte hépatique

Il s'agit d'une augmentation des transaminases hépatiques, notamment l'Alanine amino-transférase (ALAT). Cette élévation est le signe d'une cytolyse et s'effectue après la période d'incubation, soit au bout de 2 à 6 semaines après la contamination. Elle peut être majeure et atteindre des taux très importants, jusqu'à plus de 1000 UI/L en cas d'atteinte hépatique (23), ou bien rester plus modérée en cas d'atteinte neurologique du fait de l'apparition des signes cliniques retardée par rapport au début de l'infection (72).

## 2- Sérologie

La sérologie consiste en la recherche d'anticorps spécifiques du VHE dans le sang du patient. Ces derniers correspondent à des IgM, marqueurs d'une infection aiguë, et des IgG.

Les IgM sont les premières immunoglobulines à apparaître suite à la contamination par le VHE. Leur augmentation est concomitante des signes cliniques en cas d'hépatite. Elles peuvent persister jusqu'à 6 mois. (73)

Les IgG apparaissent ensuite et restent plus longtemps détectables dans le sang. La persistance n'est pas encore bien définie mais il a été décrit une durée jusqu'à plus de 14 ans chez certains patients. (74)

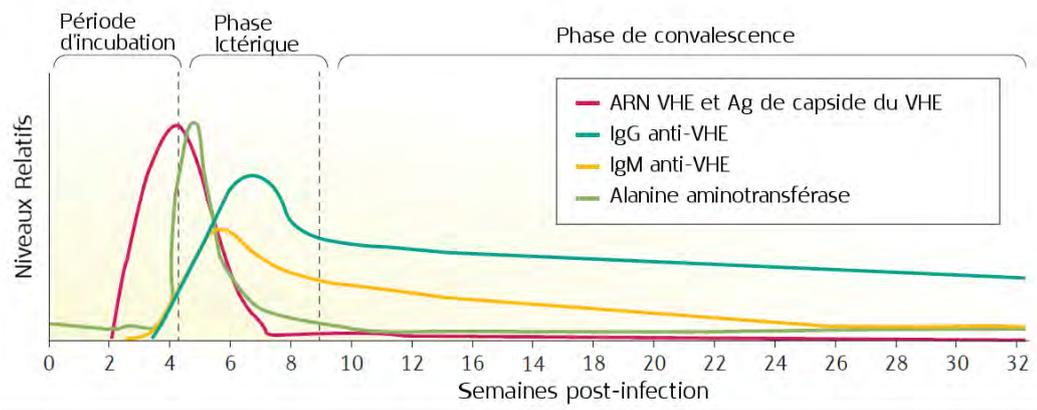


Figure 5. Cinétique des marqueurs biologiques au cours de l'infection par le VHE. Adapté de Kamar et al., 2017

Les principaux avantages de la sérologie sont son faible coût et sa fenêtre de détection, plus importante que pour les techniques de diagnostic direct.

La réalisation d'une sérologie à la recherche d'IgM sera souvent suffisante pour les patients immunocompétents de par sa sensibilité élevée à 97,5% (75). Au contraire, chez les patients immunodéprimés, la moins bonne sensibilité (85%) imposera la réalisation d'une technique de diagnostic direct afin d'écartier définitivement l'hypothèse d'une infection par le VHE en cas de négativité de la sérologie. (75)

### 3- Diagnostic direct

#### a. Antigène VHE

Il s'agit d'une technique de détection de l'antigène de capside (ORF2) du virus. Elle est réalisée par ELISA et permet de s'affranchir des contraintes logistiques de la biologie moléculaire, ce qui en fait une technique privilégiée dans les pays en voie de développement. Bien que très spécifique, cette méthode présente tout de même le défaut d'une moindre sensibilité par rapport à la PCR. (76)

#### b. Détection de l'ARN viral

Les techniques de biologie moléculaire font partie des méthodes les plus sensibles. Elles présentent deux intérêts majeurs. Premièrement, la fenêtre de positivité du test, bien que plus courte, est plus précoce que la sérologie. L'ARN viral apparaît dès 2 semaines post-contamination et persiste jusqu'à 6 à 8 semaines après le début des symptômes (22).

Deuxièmement, cette technique trouve son intérêt majeur dans la population des patients immunodéprimés chez qui la production d'immunoglobulines se trouve parfois prise en défaut, ainsi que chez les donneurs de sang qui peuvent présenter une virémie malgré une sérologie négative en cas d'infection récente.

Le diagnostic initial et le suivi pourront se faire indifféremment sur sang ou sur un prélèvement de selles. La durée d'excrétion du VHE est cependant plus longue dans ce type de prélèvement par rapport au sang. Une excrétion fécale prolongée sous ribavirine est un facteur prédictif de rechute (77).

Il existe actuellement trois méthodes de biologie moléculaire pour rechercher l'ARN du VHE.

- La première est le gold standard du diagnostic de l'hépatite E, à savoir la PCR en temps réel (RT-PCR). Il semblerait que les amorces ciblant la région ORF 3 soient les plus adaptées (78).
- La deuxième technique est la TMA, acronyme de *Transcription Mediated Assay*. Cette méthode basée sur la transcription en chaîne de l'ARN viral à l'aide d'enzymes (ARN polymérases) permet de s'affranchir des cycles de variations de températures présents dans toutes les techniques de PCR. (79)
- La troisième et dernière technique est la LAMP (amplification médiée par boucle isothermique), une méthode moins utilisée. (80)

## 4- Algorithme diagnostique

Considérant les sensibilités et spécificités des différents tests ainsi que la population testée, le centre national de référence de l'Hépatite E propose un algorithme mentionnant la place de chaque technique (voir **figure 6.**)

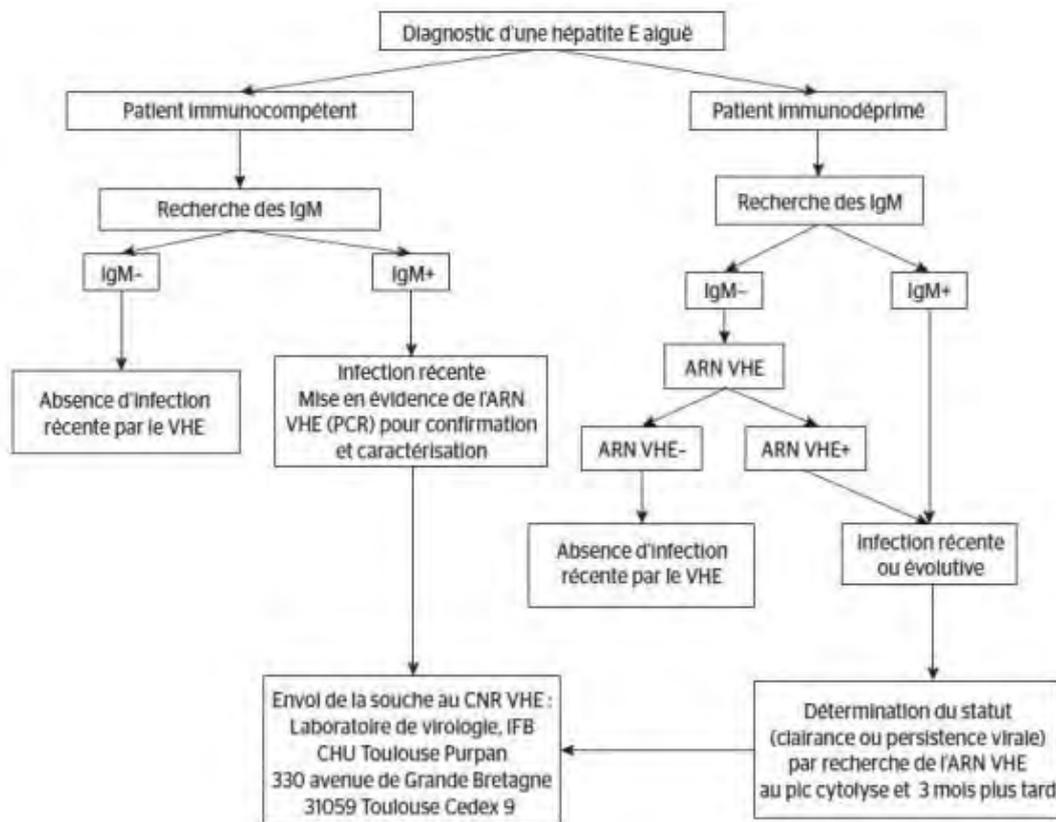


Figure 6. Algorithme diagnostique de l'hépatite E utilisé au Centre National de Référence

# Traitements

## 1- Formes aiguës

L'élimination du virus est majoritairement spontanée chez les patients immunocompétents. Il n'est donc pas nécessaire de traiter la plupart du temps. Cependant, dans certaines formes sévères de la maladie ou en cas de manifestations extra-hépatiques, la ribavirine peut être administrée. (71, 81, 82)

## 2- Formes chroniques

La rapidité d'évolution et la gravité potentielle de l'infection chronique par le VHE dans les populations à risque justifie la mise en place d'un traitement antiviral qui devra tenir compte des comorbidités du patient. En effet, il existe actuellement plusieurs stratégies pouvant conduire à une élimination du virus par des traitements aux profils d'effets indésirables très différents.

On retient à l'heure actuelle trois possibilités : la diminution du traitement immunosuppresseur chez les patients greffés, l'interféron pégylé et la ribavirine.

### a. Diminution de l'immunosuppression

Une étude a montré que cette mesure a permis d'obtenir une réponse virologique soutenue chez 30% des patients transplantés d'organes solides chez qui elle a été mis en place (60). Sa mise en œuvre n'est cependant pas toujours possible, il peut être alors nécessaire de recourir à un traitement antiviral.

### b. Interféron alpha-pégylé

C'est un antiviral aspécifique dont la demi-vie est allongée grâce au processus de pégylation. L'interféron est une molécule naturellement présente dans l'organisme, produite en réaction aux infections virales. Elle exerce une activité immunomodulatrice et induit la production de protéines antivirales. (83)

Associé ou non à la ribavirine, il a montré son efficacité dans les études qui l'ont testé. Il est indiqué chez les patients transplantés hépatiques, hémodialysés ou infectés par le VIH. En revanche, les patients transplantés d'organes solides autres que le foie ne peuvent en bénéficier du fait d'une augmentation du risque de rejet aigu du greffon. (84)

### c. Ribavirine

Il s'agit d'un analogue nucléosidique de synthèse qui a montré une certaine efficacité contre des virus à ADN ou ARN. Son mode d'action est aujourd'hui peu connu, bien que plusieurs hypothèses tentent de l'expliquer. Dans tous les cas, il semblerait que son efficacité repose sur plusieurs mécanismes résumés dans la **Figure 7.** (85).

Le premier consiste en une déplétion du pool cellulaire de guanosine triphosphate (GTP), nécessaire à la réplication virale, par inhibition de l'inositol monophosphate déshydrogénase (IMPDH). Cela a été démontré à la fois pour le VHE et pour d'autres virus (86, 87).

Le deuxième mécanisme serait une action de la ribavirine sur la structure du génome viral, en inhibant l'étape de coiffage de l'ARN par la 7-méthylguanosine en 5' (88, 89). Encore une fois, ce mode d'action semble controversé dans la littérature (90, 91). De plus, tous les virus contre lesquels la ribavirine est active ne possèdent pas cette coiffe. Quoi qu'il en soit, ce mécanisme ne suffirait pas à lui seul pour expliquer l'efficacité de ce traitement.

Un troisième mécanisme possible a été exploré, à savoir la possibilité que la ribavirine inhibe la polymérase virale avec pour effet une diminution de la réplication. (92, 93)

Le quatrième mode d'action est l'effet mutagène. Il s'agit de l'incorporation de la ribavirine dans le génome viral. En effet, le VHE étant un virus à ARN, sa polymérase réplique ce dernier avec un taux d'erreur proche d'un seuil critique par-delà lequel des mutations supplémentaires ont un effet délétère (94). La ribavirine permettrait d'atteindre ce fameux seuil d'erreur, au-delà duquel l'ARN viral devient non viable. (95, 96)

La cinquième hypothèse repose sur l'interaction de la ribavirine avec le système immunitaire du patient. Elle agirait sur la balance Th1/Th2 en favorisant une réponse de type Th1 (97, 98). Cette dernière correspond à la sécrétion par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> de certaines cytokines qui sont l'IL-2, le TNF- $\alpha$  et l'IFN  $\gamma$ . La réponse Th2 quant à elle promeut l'immunité humorale et est associée à une sécrétion d'IL-4, IL-5 et d'IL-10. Une étude a montré une modification des cytokines sécrétées in vitro (98). Il semblerait aussi qu'une réponse de type Th2 soit associée à un passage à la chronicité chez des patients infectés par le virus de l'hépatite C (HCV) (99). La ribavirine permettrait donc d'inhiber ou au moins de ralentir cette évolution.

Enfin, une sixième hypothèse, contestée dans la littérature, serait une stimulation des gènes stimulés par l'interféron. Ce mécanisme a été exploré avec des virus tels que le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus respiratoire syncytial (VRS). Selon une étude, la ribavirine agirait en réalité en diminuant le taux basal d'expression de ces gènes, rendant le foie plus sensible à l'action de l'interféron, ce qui expliquerait l'intérêt de l'association entre ces deux traitements. (100)

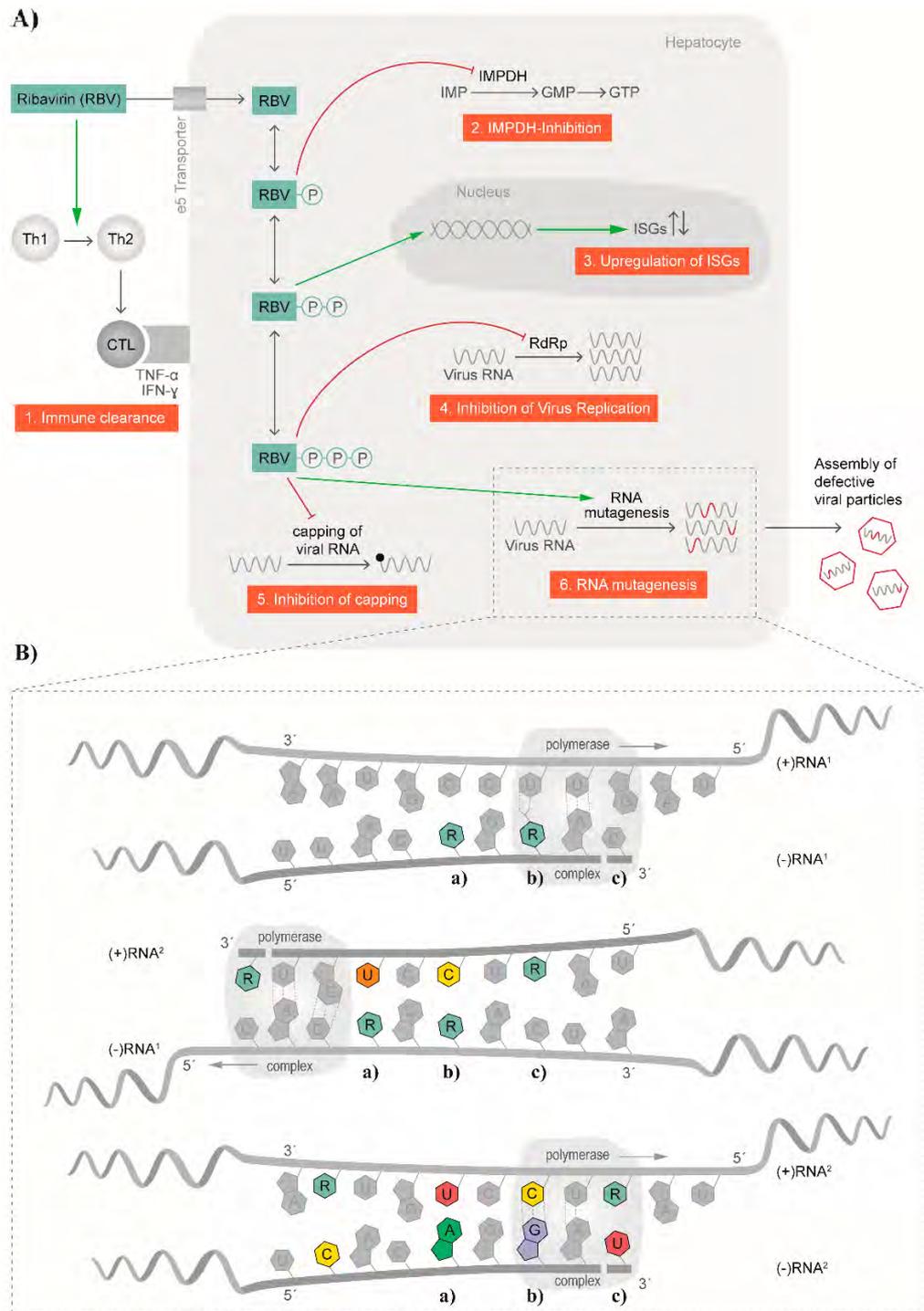


Figure 7. Illustration des différents mécanismes d'action possibles de la ribavirine. Adapté de Todt et al., 2016.

La ribavirine a démontré son efficacité en monothérapie pour le traitement de l'hépatite E chronique dans plusieurs études (84, 101, 102). Elle constitue le traitement de choix lorsque la diminution de l'immunosuppression est impossible ou inefficace.

Une étude réalisée en France sur plusieurs centres a estimé que la ribavirine était efficace dans 78% des cas pour éliminer le virus dans une population de patients transplantés d'organes solides. La médiane de traitement était de 3 mois avec une réponse virologique soutenue à 6 mois. (103)

Il est à noter toutefois l'existence d'échec thérapeutique sous ribavirine. Ces cas ont été étudiés dans la littérature et il a pu être mis en évidence des mutations de la polymérase virale. Il existe aujourd'hui plusieurs études qui ont permis d'identifier certaines de ces mutations, aboutissant soit à une augmentation de la réplication virale, soit à une augmentation de l'activité de la ribavirine.

La mutation G1634R fut la première découverte chez deux patients non répondeurs, dont un décédé d'une défaillance hépatique (104). Il a ensuite été montré qu'elle était présente dans les mêmes proportions chez des bons et mauvais répondeurs avant traitement par la ribavirine (105). Finalement, une étude a montré une émergence de cette mutation chez des patients traités par ribavirine avec pour explication proposée le fait que cette augmentation soit simplement liée à l'effet mutagène du traitement (96).

Parmi les mutations en faveur du virus, on retrouve G1634R, D1384G, K1398R, V1479I, Y1587F, et Y1320H (95, 96), semblant à l'origine d'une virémie plus élevée que d'autres souches non mutées chez de petites cohortes de patients. A contrario, la mutation K1383N a été décrite in-vitro comme diminuant la réplication du virus (95).

L'association de plusieurs mutations, notamment K1383N, Y1587F et G1634R a été décrite comme favorisant l'action de la ribavirine (96).

Une récente étude à large échelle réalisée sur 255 patients transplantés d'organe solide a cependant démontré une absence de lien entre les différentes mutations décrites et la réponse virologique soutenue. (106)

#### d. Algorithme thérapeutique

Le traitement de l'hépatite E chronique chez l'immunodéprimé suit actuellement un arbre décisionnel (voir **Figure 8.**) proposé par l'EASL (European Association for the Study of the Liver). L'association recommande dans la mesure du possible une diminution du traitement suppresseur. En cas d'impossibilité ou d'inefficacité, le traitement de choix est la ribavirine pendant 3 mois. Si la réponse virologique soutenue n'est toujours pas atteinte, un traitement prolongé de 6 mois sera proposé. La dernière possibilité en cas d'échec de la ribavirine sera alors l'interféron alpha-pégylé uniquement chez les patients transplantés hépatiques. Il n'existe actuellement pas d'autres alternatives thérapeutiques.

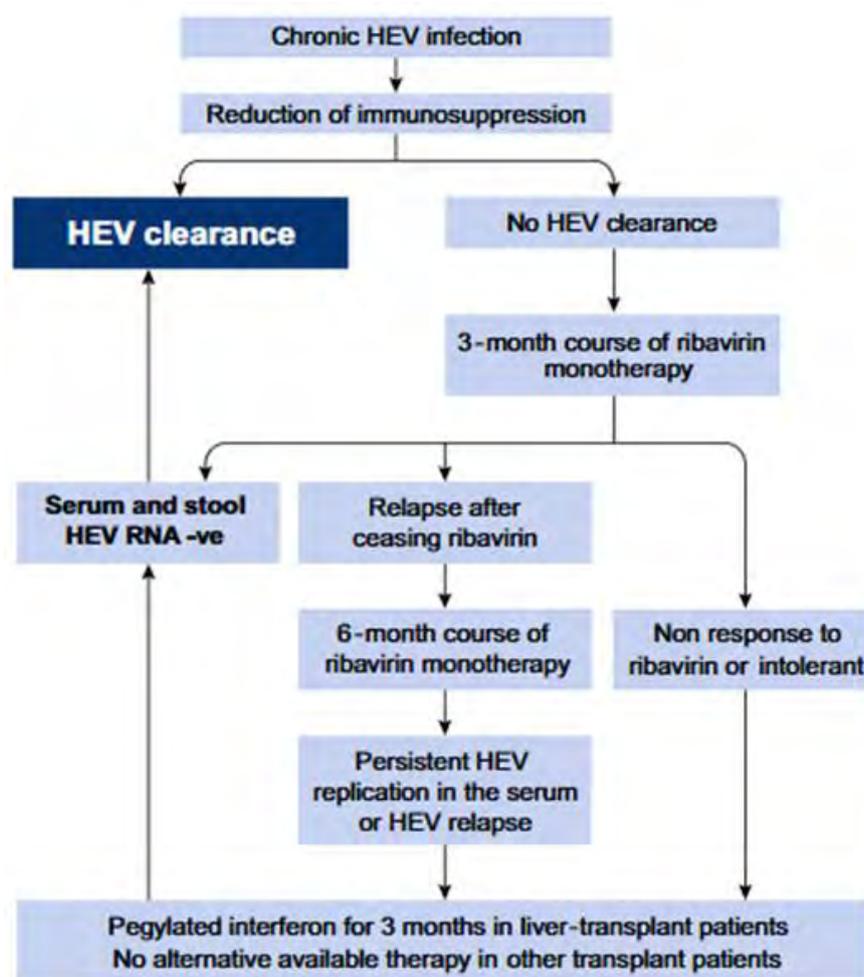


Figure 8. Algorithme thérapeutique de l'hépatite E proposé par l'EASL.

# Réponse immunitaire antivirale

L'organisme répond à l'infection par l'activation du système immunitaire, et notamment de ses deux composantes que sont l'immunité innée et adaptative.

## 1- Immunité innée

Les évènements précoces lors du premier contact avec le VHE sont dominés par l'immunité innée, plusieurs mécanismes vont alors se mettre en jeu.

Le premier mécanisme consiste en la production d'interféron (IFN) par les hépatocytes et les entérocytes, notamment d'IFN  $\alpha$  et  $\lambda$ . Les différents composants viraux sont reconnus par des récepteurs reconnaissant les pathogènes (*pathogen-recognition receptors* : PRRs) présents soit à la surface des cellules cibles du virus pour les *toll like receptors* (TLRs), soit dans le cytoplasme ou les endosomes pour les *RIG-1 like receptors* (RLRs) ou les *NOD like receptors* (NLRs). L'activation de ces récepteurs induit une cascade de signalisation aboutissant à la production d'IFN. Ce dernier va alors se lier à des récepteurs spécifiques et entraîner la stimulation de gènes dépendants de l'interféron (ISGs pour *IFN-stimulated genes*) qui codent pour des protéines aux propriétés antivirales. Des études ont montré la capacité de ces dernières à enrayer la progression de l'infection en inhibant la réplication du VHE, en provoquant la mort des cellules infectées et en recrutant les autres cellules immunitaires telles que les polynucléaires neutrophiles. (107,108)

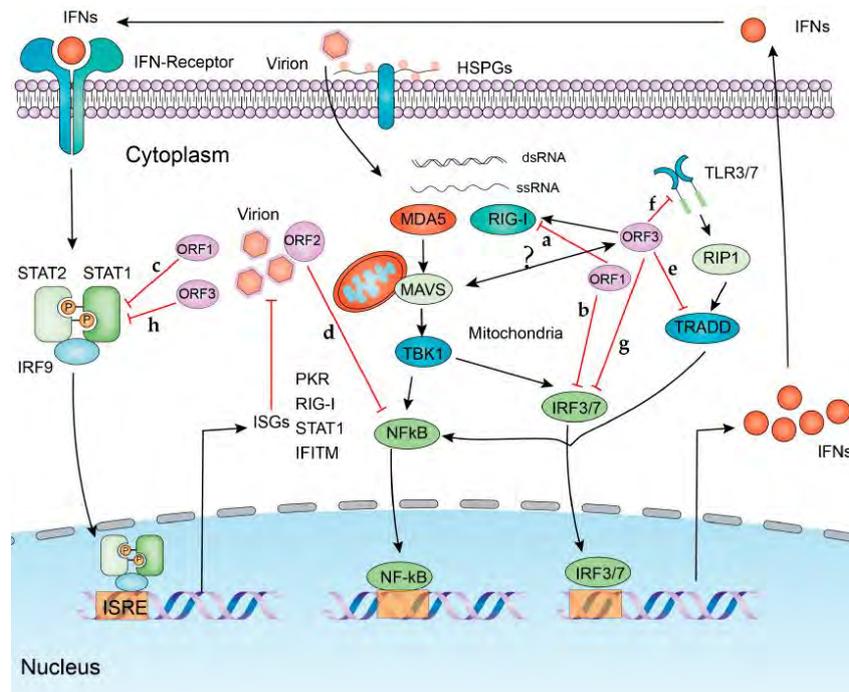


Figure 9. Interactions entre la signalisation de l'interféron et le VHE. Lors de l'infection, le VHE est reconnu par les PRRs de l'hôte, incluant MDA5, RIG-I, TLR3 et TLR7. Cela déclenche leur cascade de signalisation, incluant IRF3 et NF-κB, conduisant à la production d'IFNs. Par la suite, l'IFN se lie aux récepteurs, ce qui résulte en la phosphorylation de STAT1 et STAT2. STAT1 et STAT2 phosphorylés forment un complexe avec IRF9 (ISGF3). Ce complexe se transloque dans le noyau et se lie à l'ISRE (IFN-stimulated response element) pour induire la transcription des ISGs (IFN-stimulated genes) antiviraux. RIG-I et MDA5 ont été identifiés comme inhibant la réplication du VHE. De l'autre côté, le VHE a développé des stratégies pour échapper à la réponse IFN de l'hôte. ORF1 inhibe la phosphorylation de STAT1 et IRF3 aussi bien que la désubiquitination de RIG-I. ORF2 inhibe l'activation de NF-κB. ORF3 bloque la phosphorylation de STAT1 et IRF3, mais a paradoxalement aussi été démontré comme induisant la production d'IFN via une activation augmentée de RIG-I. a, b, c, d, e, f, g, and h indiquent les importantes interactions entre les protéines virales et les facteurs de l'hôte.

Adapté de Li et al., 2019.

Pour échapper au système immunitaire inné, le VHE a développé plusieurs stratégies. En premier lieu, ORF1 est capable de limiter la production d'IFN β en inhibant l'activation de RIG-I, TBK-1 et la phosphorylation de IRF3 (voir **Figure 9.**) d'une part, et bloque la translocation et phosphorylation de STAT1 d'autre part. Il semblerait qu'ORF1 ait également la capacité d'inhiber la production de ferritine, ce qui aurait pour effet d'atténuer la réponse immunitaire de l'hôte. (107)

En second lieu, ORF2 est responsable d'une inhibition de l'apoptose et de la voie NF-κB. Cette voie est impliquée dans la régulation de l'inflammation et exerce un rétrocontrôle négatif de l'apoptose suite à divers stimuli. (107)

Enfin, ORF3 agit sur le système immunitaire par de nombreux mécanismes, dont notamment l'inhibition de la phosphorylation et translocation de STAT1, la diminution de la production d'IFN  $\alpha$  et  $\beta$  endogènes par action négative sur l'expression de TLR3 et TLR7. Il empêche également l'activation des voies NF- $\kappa$ B, JAK-STAT et JNK-MAPK, induites respectivement par le TNF- $\alpha$ , l'IFN  $\gamma$  et l'anisomycine. Il est globalement admis qu'ORF3 façonne un environnement favorable à l'infection par le VHE. (107)

Le VHE possède également la capacité surprenante de survivre dans les cellules infectées malgré la présence d'IFN. En effet, tous les mécanismes décrits précédemment, bien que ralentissant la production de ce dernier, ne suffisent pas à la stopper complètement. Il semblerait que la réplication du VHE soit bien plus résistante aux IFN  $\alpha$  et  $\lambda$ , comme l'ont montrées des études faites sur des réplicons d'ARN subgénomique, estimant une concentration efficace médiane (CE50 : concentration d'un composé où 50% de l'effet maximal est observé) pour l'IFN  $\alpha$  plus de cent fois supérieure à celle d'autres virus responsables d'hépatite (109,110). (108)

Un autre mécanisme implique les cellules NK et NKT, des types particuliers de lymphocytes cytotoxiques. Des études ont montré une baisse significative du taux de lymphocytes NK dans le sang des patients présentant une hépatite E par rapport à des sujets sains, et a contrario une augmentation du pourcentage de ces cellules présentant des marqueurs d'activation (111, 112). Une autre étude a également montré une augmentation du nombre de lymphocytes NK activés retrouvés dans le foie de patients récemment décédés d'hépatite E (113). Tous ces résultats tendent à montrer une relocalisation de la population des lymphocytes NK activés vers le foie chez les patients infectés par le VHE. Ces derniers produisent des cytokines dont l'IFN  $\gamma$  et le TNF- $\alpha$  pour moduler la réponse antivirale. De manière intéressante, il semblerait que l'expression de CD69 (marqueur d'activation) par les NK soit augmentée chez les patients transplantés d'organes solides présentant une infection aiguë par le VHE (114). Cela suggère une action cytotoxique plus importante dans cette population de patients. Ce mécanisme permet une clairance du virus, mais est également responsables de lésions hépatiques.

## 2- Immunité adaptative

L'immunité adaptative se met en place de manière concomitante, avec la spécialisation des lymphocytes T et B au contact des antigènes. Elle se caractérise par deux types de réponses complémentaires :

- Humorale : il s'agit de la production d'anticorps anti-VHE par les lymphocytes B différenciés en plasmocytes. Lors de la primo-infection, la dégradation du virus par l'immunité innée va conduire à l'exposition de certains de ses antigènes qui, une fois présentés aux lymphocytes immatures par les cellules présentatrices d'antigènes, vont conduire à la production d'immunoglobulines spécifiques. On compte parmi elles par ordre d'apparition les IgA et IgM, puis les IgG. L'épitope considéré comme l'un des plus immunisants est une séquence d'acides aminés codée par ORF2. Il a d'ailleurs été utilisé pour la réalisation d'un vaccin disponible uniquement en Chine. (115)

L'efficacité de l'action des immunoglobulines sur l'élimination de l'infection est un sujet qui n'est pas encore élucidé dans son intégralité. En effet, le VHE est présent dans la circulation sanguine sous forme quasi-enveloppée, ce qui tend à le protéger de son élimination par les anticorps. Le moment le plus opportun pour agir serait donc lors de la dissolution de cette enveloppe dans les endolysosomes (116) ; Or, les IgM qui apparaissent les premières n'ont pas accès à ce compartiment.

Un autre mécanisme d'échappement a été décrit, impliquant la production de protéines de capsid ORF2 solubles qui servent de leurre aux immunoglobulines. Cette forme glycosylée de la protéine est excrétée en grand nombre dans le sang comparativement à la forme plus courte qui sert à la constitution des nouveaux virions (16). Autre fait important, elle n'entre pas en compétition avec ces derniers concernant les récepteurs d'entrée du virus dans la cellule. (115)

- Cellulaire : il s'agit de la destruction des cellules infectées par les lymphocytes T différenciés en T CD4<sup>+</sup> dits « helpers » et T CD8<sup>+</sup> dits « cytotoxiques ». Il est à noter que bien qu'importante, cette facette de l'immunité n'a été que relativement peu étudiée à ce jour en ce qui concerne le VHE. Plusieurs études (117, 118, 119, 120) ont montré une différence entre les patients contractant une infection aiguë résolutive et ceux développant une hépatite chronique.

Parmi la première population a été mise en avant une augmentation de cellules T circulantes spécifiques des différents ORFs en se basant sur la capacité de ces dernières à produire des cytokines telles que MIP-1 $\beta$ , IFN  $\gamma$  et TNF- $\alpha$ . Autre fait intéressant, certains lymphocytes T sélectionnés par la mise en contact avec le génotype 3 du virus ont pour cible une portion du génome conservée au moins dans le génotype 1, ce qui suggérerait une immunité croisée.

Les patients immunodéprimés quant à eux présentent souvent un nombre moindre de lymphocytes CD3<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup> circulants. De plus, les patients transplantés ont une diminution de la réponse cellulaire liée à un phénomène « d'épuisement » (exhaustion), du fait d'une exposition permanente du système immunitaire aux antigènes du greffon appartenant au non soi (121). L'infection chronique par le VHE chez ces personnes ne semble pas entraîner l'élévation attendue pour une efficacité antivirale optimale. De manière intéressante, l'adjonction d'anticorps anti-récepteurs de PD-1 à des cultures de cellules CD8<sup>+</sup> prélevées chez des patients infectés chroniquement a permis à celles-ci de retrouver leurs capacités antivirales. La protéine inhibitrice PD-1 est un facteur majeur d'épuisement lymphocytaire dans d'autres infections virales chroniques. (122)

## **Objectif**

L'objectif de cette thèse était d'étudier l'effet immunomodulateur de la ribavirine en déterminant le profil des cytokines plasmatiques à différents temps de traitement chez des transplantés rénaux porteurs chroniques du VHE sous traitement immunosuppresseur. Nous avons étudié les variations de 19 cytokines chez ces patients. Nous nous sommes intéressés à la relation existante ou non entre ces différents profils cytokiniques et l'obtention d'une réponse virologique soutenue (SVR) sous ribavirine.

## **Patients et méthodes**

### **Patients :**

Vingt patients sélectionnés à partir d'études antérieures sur la réponse à la ribavirine ont été étudiés. Il s'agit de patients transplantés rénaux sous immunosuppresseurs, traités 3 mois par ribavirine et suivis dans le service de Néphrologie et Transplantation d'organes du Pr Nassim KAMAR. La sélection s'est portée sur dix patients ayant bien répondu au traitement, aboutissant à une réponse virologique soutenue (SVR), et dix autres ayant été classés en échec de traitement (rechute virologique à l'arrêt). Le critère retenu pour définir une bonne réponse au traitement était la négativation des PCR HEV à la fin du traitement et son maintien 3 mois après l'arrêt.

### **Méthodes :**

Le dosage des cytokines circulantes a été réalisé au CHU de Toulouse au moyen de l'automate Luminex 100. Le panel utilisé était ProcartaPlex Multiplex immunoassay 19 cytokines.

## Principe de la méthode :

Le principe repose sur de la cytométrie de flux adaptée à la détection de billes magnétiques microscopiques. Chaque microbille contient un fluorochrome qui émet une fluorescence de longueur d'onde précise, différente de toutes les autres microbilles. Chacune est couplée à un anticorps spécifique d'un analyte. (voir **Figure 10.**)

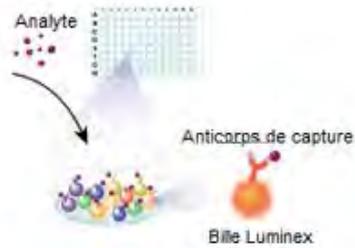
Ainsi, à partir d'un même réactif composé de centaines de microbilles, on peut détecter en même temps autant d'analytes qu'il existe de longueurs d'ondes dans le mélange de billes. Dans notre cas, 19 cytokines seront dosées.

Une fois les microbilles incubées avec le sérum du patient, des complexes immuns se forment entre les anticorps des microbilles et les cytokines à doser. S'ensuit une phase de lavage, permettant de ne conserver que les cytokines d'intérêt accrochées aux microbilles.

Ces billes sont alors placées en présence d'anticorps de détection biotinylés anti-complexe immun. Après incubation, une nouvelle phase d'élimination du surnageant puis lavage permet d'éliminer les anticorps de détection en surplus. On rajoute finalement un réactif composé de complexes de streptavidine conjuguée à la phycoérythrine (PE), cette dernière émettant une fluorescence de longueur d'onde différente de celles des billes. Ce complexe PE se lie aux anticorps biotinylés grâce à l'affinité de la streptavidine pour la biotine.

La détection se fait donc par la mesure de deux types de fluorescences. La première mesure correspond à la fluorescence de la bille, permettant d'indiquer la cytokine mesurée. La deuxième quantifie la fluorescence de la phycoérythrine couplée à l'anticorps de détection, dont l'intensité dépend directement du nombre de complexes immuns formés sur la bille, et donc de la quantité de cytokines présentes dans le sérum. Le passage de chaque bille l'une après l'autre devant le détecteur grâce au système fluide permet de garantir que la concentration obtenue est bien celle d'une seule bille et donc d'une cytokine. Pour garantir une mesure plus juste, ce sont plusieurs dizaines de billes spécifiques d'un analyte qui sont mesurées. La mesure retenue au final correspond à la moyenne de cent mesures effectuées pour chaque analyte.

### ETAPE 1



L'échantillon est ajouté à un mélange de billes, codées par couleur, pré recouvertes d'anticorps de capture spécifiques de l'analyte. Les anticorps se lient à l'analyte d'intérêt.

### ETAPE 2



Les anticorps de détection biotinylés spécifiques de l'analyte d'intérêt sont ajoutés et forment un complexe anticorps-antigène. La Phycoérythrine (PE)-conjuguée à la streptavidine est ajoutée. Elle se lie aux anticorps de détection biotinylés.

### ETAPE 3



Les billes sont lues sur un instrument basé sur un flux avec détection par deux laser, tel que Luminex 100. Un laser classe la bille et détermine l'analyte détecté. Le deuxième laser détermine l'intensité du signal dérivé de la phycoérythrine, qui est directement proportionnel à la quantité de l'analyte lié.

Figure 10. Schéma du principe de fonctionnement de l'automate Luminex 100. Adapté de R&Dsystems.com, section Ressources>Technical Information>Luminex Assay Principle.

# Protocole

Le suivi du profil des cytokines a été réalisé à partir de sérums congelés prélevés à 3 moments au cours du traitement par la ribavirine : avant traitement (J0), après un mois de traitement (M1), et enfin 3 mois après la fin de traitement, c'est-à-dire 6 mois après le début (M6).

Chaque sérum a été testé en duplicate grâce à 2 manipulations indépendantes, réalisées à plusieurs jours d'intervalle. La moyenne des deux déterminations a été analysée.

Les cytokines dosées étaient : INF Lambda ; IL-27 ; IL-1beta ; IL-2 ; IL-4 ; IL-5 ; IL-6 ; IL-10 ; IL-12p70 ; IL-13 ; IL-17A ; IFN Gamma ; GM-CSF ; TNF-alpha ; IL-9 ; IL-23 ; IL-18 ; IL-21 ; IL-22

## Analyses statistiques

La comparaison entre les deux groupes de patients a été réalisée en utilisant le test de Mann & Whitney pour les variables quantitatives et le test du Chi<sup>2</sup> ( $\chi^2$ ) pour les variables qualitatives.

Pour évaluer les variations entre les profils de cytokines en fonction du temps, nous avons réalisé plusieurs tests statistiques :

- Test des rangs signés de Wilcoxon pour échantillons appariés :
  - o Variations dans les concentrations de cytokines entre J0 et M1, entre J0 et M6 puis entre M1 et M6 chez les patients répondeurs (SVR).
  - o Variations dans les concentrations de cytokines entre J0 et M1, entre J0 et M6, puis entre M1 et M6 chez les patients rechuteurs (non SVR).
  
- Test de Mann & Whitney :
  - o Taux de cytokines à J0, M1 et M6 chez les répondeurs VS chez les rechuteurs
  - o Variations des concentrations de cytokines entre J0 et M1, entre M1 et M6, puis entre J0 et M6 chez les répondeurs VS chez les rechuteurs

Les calculs ont été réalisés sur le site BiostaTGV. Le seuil de significativité  $p < 0.05$  a été retenu.

## Résultats

Tous les patients sont des transplantés rénaux. Un des patients appartenant au groupe des rechuteurs a également bénéficié d'une transplantation pancréatique.

Les patients de l'étude ont été divisés en 2 catégories, les répondeurs au traitement et les rechuteurs. La population des répondeurs a une médiane de 48 ans contre 52,5 ans chez les rechuteurs. Le sexe ratio est le même dans les deux groupes, soit de 7 hommes pour 3 femmes.

Les caractéristiques des deux populations sont résumées dans le **Tableau 1**.

Les patients du groupe répondeurs étaient tous sous tacrolimus plus ou moins associé à des corticoïdes (90% des cas) et du mycophénolate mofétil (80% des cas).

Les patients rechuteurs étaient en majorité sous tacrolimus (70% des cas), associé à des corticoïdes (80% des cas), des inhibiteurs de mTor (40% des cas) ou du mycophénolate mofétil (60% des cas).

La virémie HEV réalisée à J0 de traitement retrouvait respectivement une médiane à 5,8 et 6,6 LogUI/mL chez les répondeurs et les rechuteurs.

Tableau 1. Résumé des caractéristiques de la population de l'étude.

Caractéristiques	Population de l'étude		p-value
	Répondeurs (n=10)	Rechuteurs (n=10)	
<b>Sexe ratio H/F</b>	7/3	7/3	1
<b>Age : médiane (range) (années)</b>	48 (32 -60)	52,5 (42 - 83)	0,21
<b>Traitement immunosuppresseur</b>			
Tacrolimus	10 (100%)	7 (70%)	1
Mycophénolate mofétil	8 (80%)	6 (60%)	0,62
Inhibiteur de mTor	0 (0%)	4 (40%)	0,08
Corticoïdes	9 (90%)	8 (80%)	1
<b>Profil sérologique</b>			
IgM anti-VHE positives à J0 de traitement	8 (80%)	9 (90%)	1
IgM anti-VHE positives après 6 mois de traitement	8 (80%)	7 (70%)	1
IgG anti-VHE positives à J0 de traitement	8 (80%)	7 (70%)	1
IgG anti-VHE positives après 6 mois de traitement	8 (80%)	9 (90%)	1
<b>CV sang à J0 : médiane (range) (LogUI/mL)</b>	5,8 (3,6 - 6,4)	6,6 (4,8 - 7,5)	0,018
<b>Transaminases hépatiques à J0 de traitement</b>			
ASAT (TGO) : médiane (range) (UI/L)	64 (28 - 237)	84 (25 -304)	0,57
ALAT (TGP) : médiane (range) (UI/L)	93 (42 - 196)	126 (53 - 627)	0,17
<b>Profil des lymphocytes en immunophénotypage à J0 de traitement</b>			
Lymphocytes totaux : médiane (range) (/mm <sup>3</sup> )	1535 (783 - 3959)	1146 (429 - 2289)	0,09
CD3 : médiane (range) (%)	81 (73 - 95)	76 (56 -96)	0,42
CD3 : médiane (range) (/mm <sup>3</sup> )	1145 (558 -2942)	899 (254 - 1305)	0,063
CD4 : médiane (range) (%)	49 (30 - 68)	32 (17 - 68)	0,075
CD4 : médiane (range) (/mm <sup>3</sup> )	868 (267 - 2304)	376 (82 -942)	0,035
CD8 : médiane (range) (%)	29 (10 - 39)	34 (12 -58)	0,38
CD8 : médiane (range) (/mm <sup>3</sup> )	469 (164 - 1227)	411 (82 - 651)	0,35
CD19 : médiane (range) (%)	9 (0 - 32)	6 (0 - 18)	0,38
CD19 : médiane (range) (/mm <sup>3</sup> )	112 (0 - 1267)	66 (0 -412)	0,23
NK : médiane (range) (%)	8 (4 - 28)	17 (3 - 27)	0,081
NK : médiane (range) (/mm <sup>3</sup> )	119 (57 - 263)	160 (26 - 549)	0,63
Patients avec lymphopénie (lymphocytes totaux < 1200/mm <sup>3</sup> )	4 (40%)	6 (60%)	0,66

Concernant la sérologie de ces patients immunodéprimés, 8 des 10 patients répondeurs présentaient des IgM VHE positives au début du traitement, contre 9 des 10 patients rechuteurs.

Le profil sérologique des IgG montrait une absence de détection chez deux patients chez les répondeurs contre trois chez les rechuteurs au début du traitement. Après 6 mois de ribavirine, ce profil est resté inchangé chez les répondeurs tandis que deux patients rechuteurs initialement douteux et négatif sont devenus IgG VHE positifs.

Au début du traitement, la médiane des ASAT et des ALAT était respectivement de 64 UI/L et 93 UI/L chez les répondeurs contre 84 UI/L et 126 UI/L chez les rechuteurs. Le nombre de patients présentant des ASAT normales était relativement faible dans les deux populations, 30% chez les répondeurs et 20% chez les rechuteurs. Aucun n'avait des ALAT dans les normes.

La charge virale sanguine avant traitement a montré une différence statistiquement significative entre les deux groupes ( $p=0.018$ ) avec une médiane plus faible à 5,8 LogUI/mL chez les répondeurs contre 6,6 LogUI/mL chez les rechuteurs.

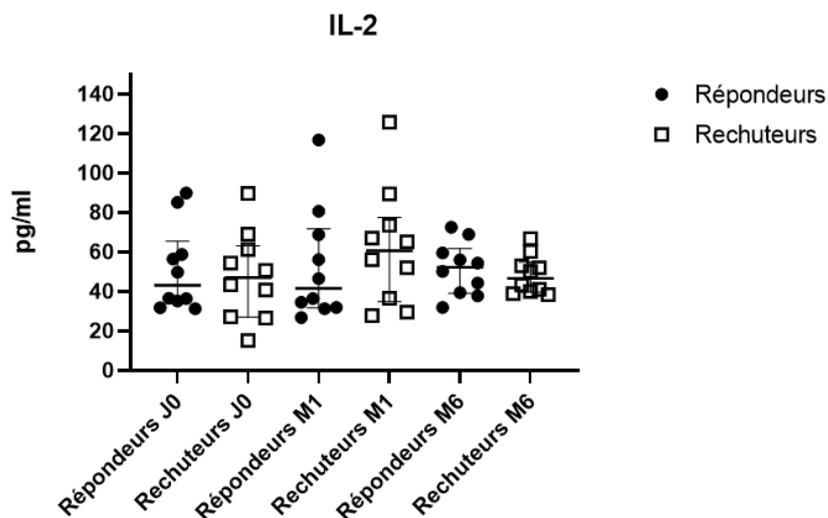
L'analyse des immunophénotypages lymphocytaires avant traitement n'a pas montré de différence significative concernant le taux de lymphocytes totaux ( $p=0.09$ ).

Le nombre de lymphocytes CD4+ est plus élevé chez les répondeurs quand on prend en compte la valeur absolue ( $p=0.035$ ), mais pas lorsqu'on regarde la proportion CD4+/CD3+ ( $p=0.075$ ).

# 1-Profil Th1

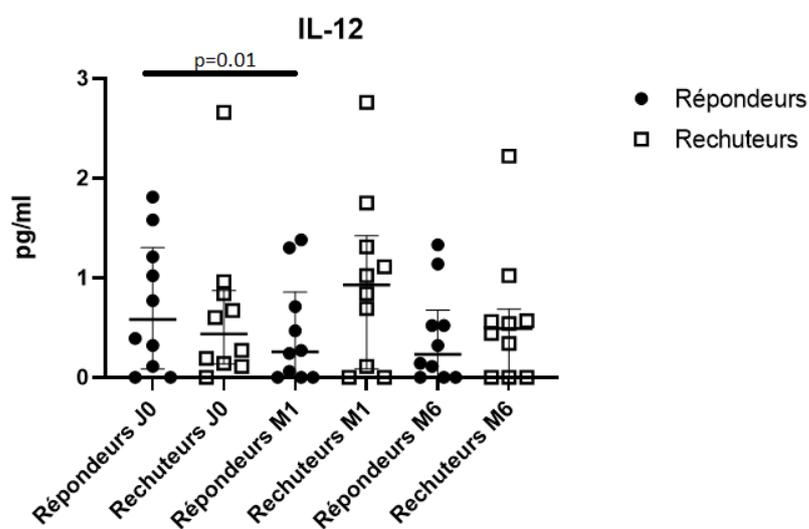
Les cytokines correspondant à ce profil sont l'IL-2, IL-12p70, IL-18, TNF-alpha ainsi que l'IFN gamma. Les différentes valeurs des cytokines sont représentées dans les graphiques ci-dessous.

## IL-2



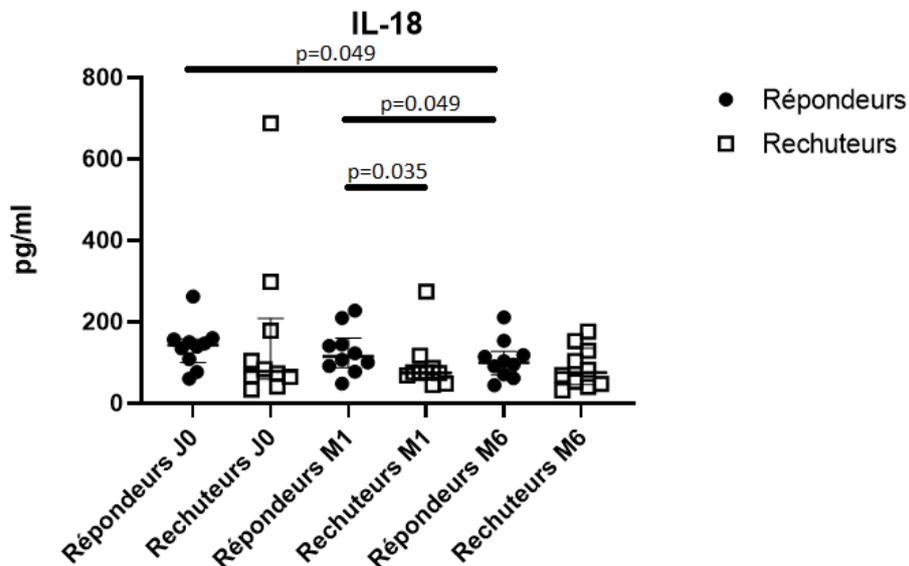
L'ensemble des résultats n'a montré aucune différence statistiquement significative pour cette cytokine entre les deux groupes de patients.

## IL-12



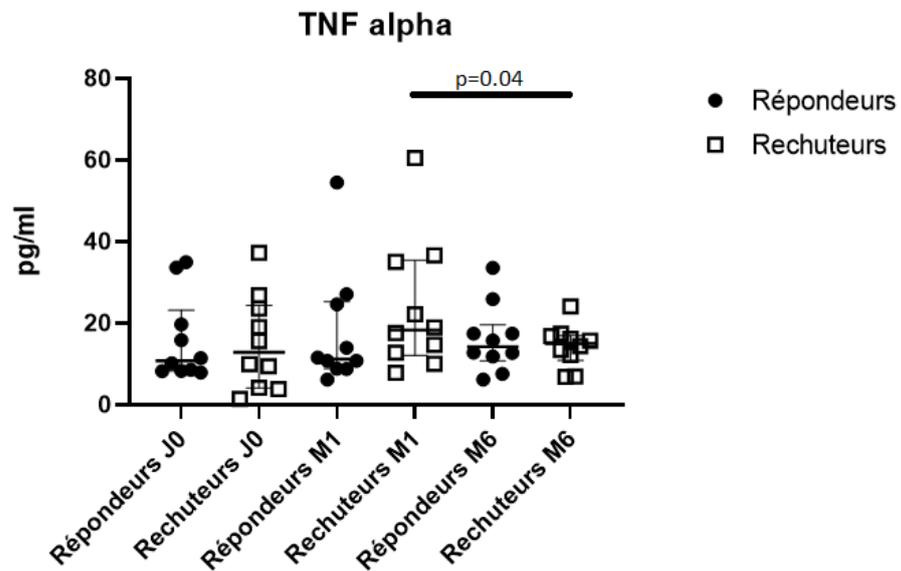
On note une concentration plus basse du taux de l'IL-12 entre J0 et M1 chez les patients répondeurs ( $p=0.01$ ), contrairement aux patient rechuteurs, pour qui la variation n'est pas significative. La variation médiane de la concentration d'IL-12 entre J0 et M1 chez les répondeurs est de -0.29 contre +0.49 chez les rechuteurs. Le delta entre ces deux variations est significatif ( $p=0.019$ ).

### IL-18



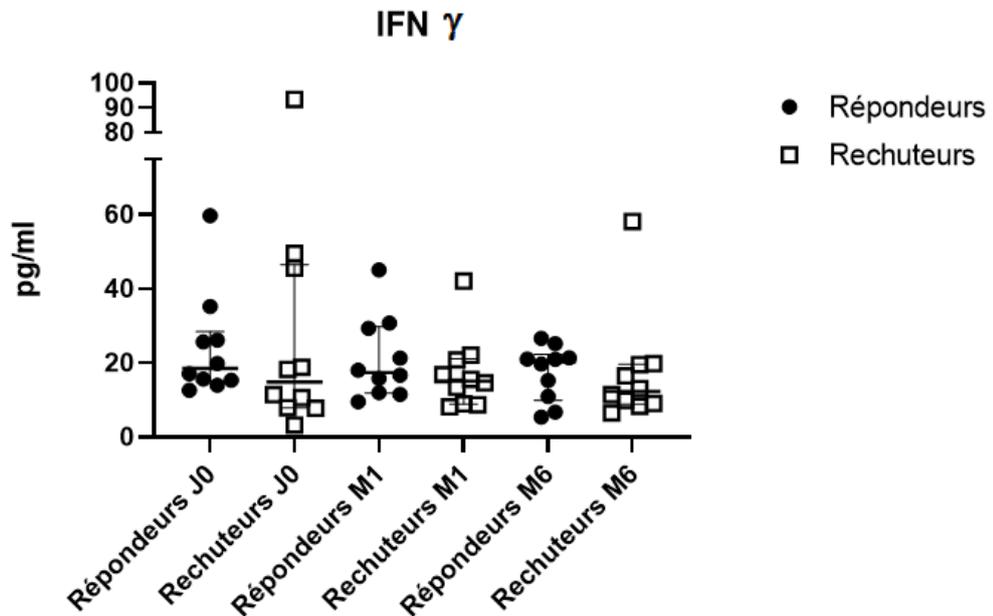
Les taux d'IL-18 étaient plus élevés à M1 chez les répondeurs que chez les rechuteurs ( $p=0.035$ ). Chez les patients répondeurs, ces taux étaient plus élevés à J0 par rapport à M6 ( $p=0.049$ ), ainsi qu'à M1 par rapport à M6 ( $p=0.049$ ).

## TNF-alpha



Seule la comparaison des taux entre M1 et M6 chez les rechuteurs a montré un résultat significatif, à savoir une diminution ( $p=0.04$ ).

## IFN Gamma

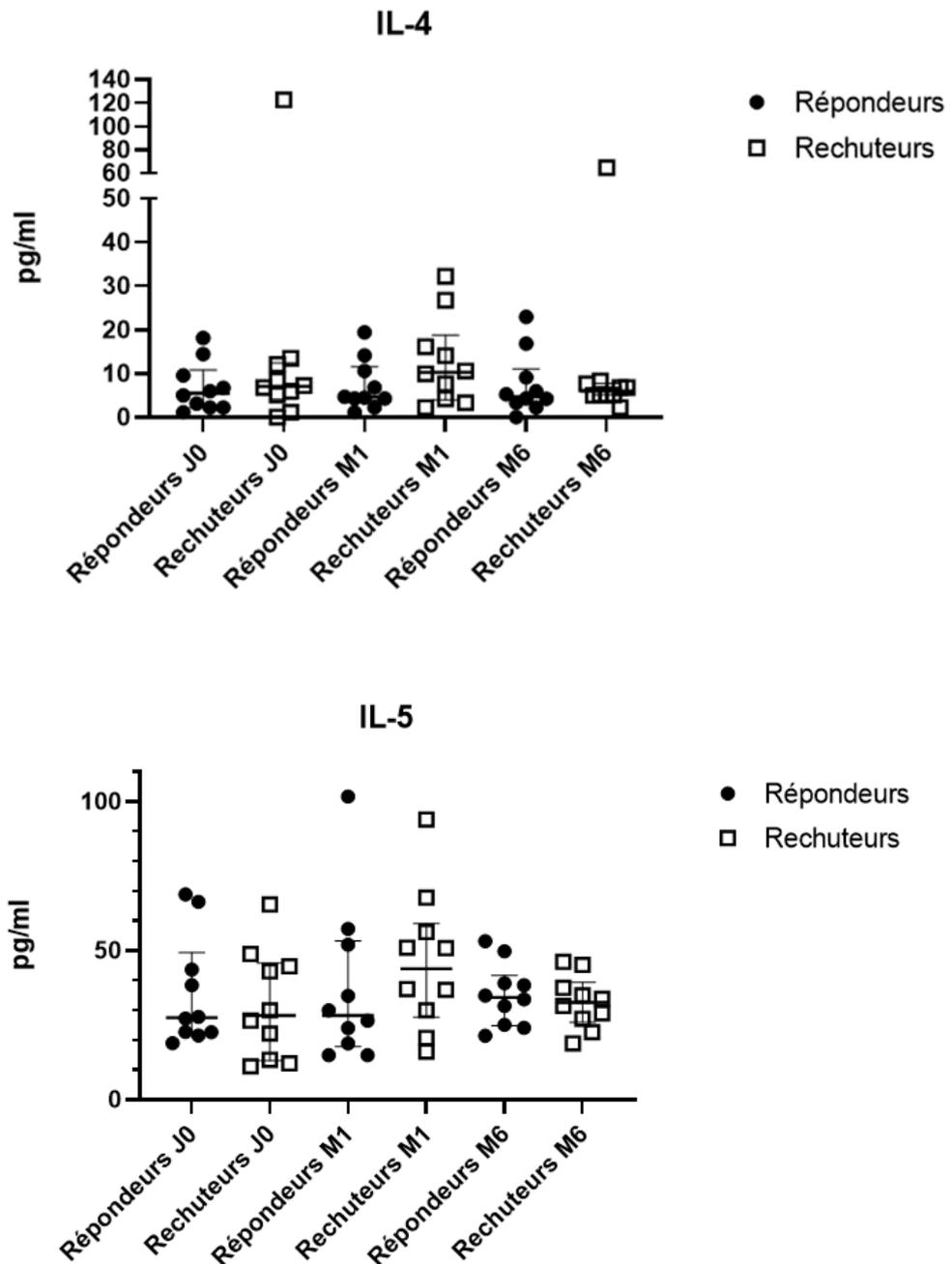


Aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée, que ce soit dans la population des répondeurs ou dans celle des rechuteurs.

## 2-Profil Th2

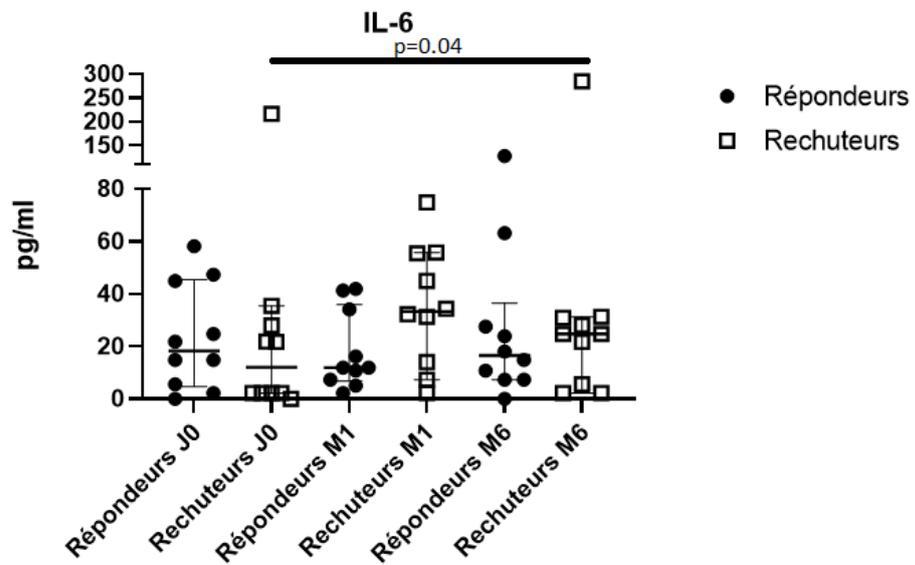
Les cytokines correspondant plutôt au profil Th2 sont IL-4, IL-5, IL-6 et IL-13. Les taux mesurés pour chacune sont représentés dans les graphiques ci-dessous.

### IL-4, IL-5



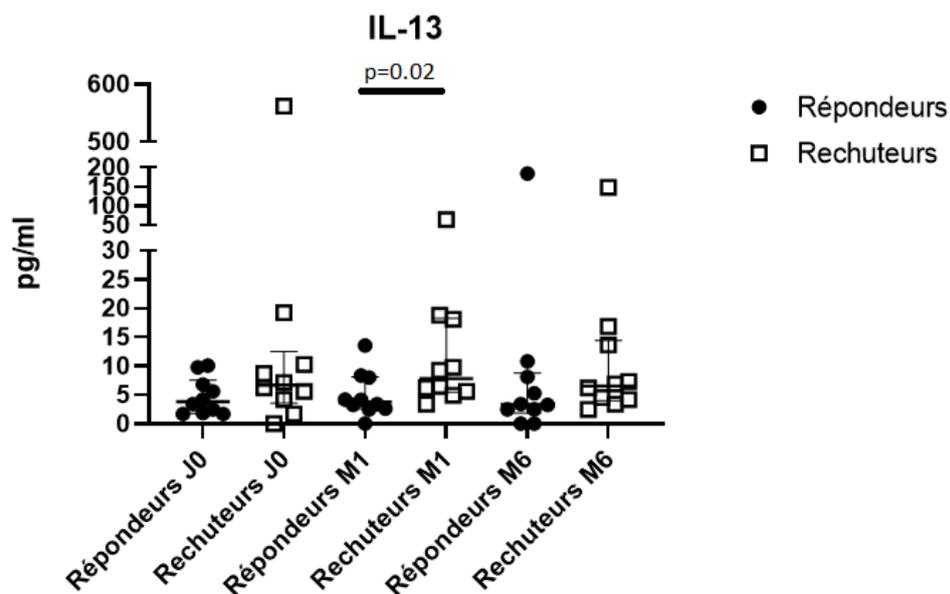
L'ensemble des résultats n'a montré aucune différence statistiquement significative pour ces deux cytokines.

## IL-6



Les taux d'IL-6 étaient augmentés entre J0 et M6 chez les patients rechuteurs ( $p=0.04$ ). La variation médiane de concentration d'IL-6 entre le début et le premier mois de traitement était de  $-6.99$  chez les répondeurs contre  $+24.74$  chez les rechuteurs. De même, la variation médiane entre le début et trois mois après arrêt du traitement était de  $+5.69$  chez les répondeurs contre  $-8.97$  chez les rechuteurs. Les deltas entre les variations des deux groupes étaient significatifs sur les deux périodes (respectivement  $p=0.019$  et  $p=0.049$ ).

## IL-13

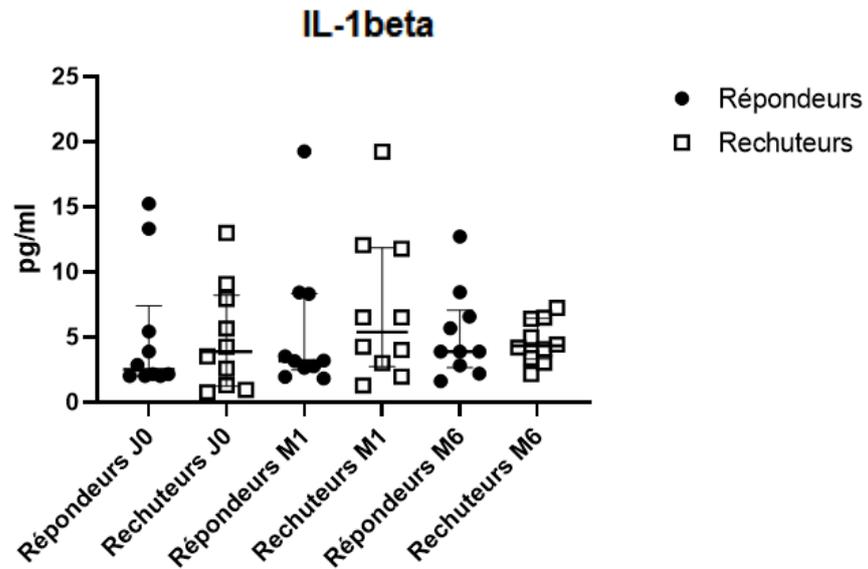


Les taux d'IL-13 étaient significativement plus élevés à M1 chez les sujets non répondeurs par rapport aux répondeurs ( $p=0.02$ ).

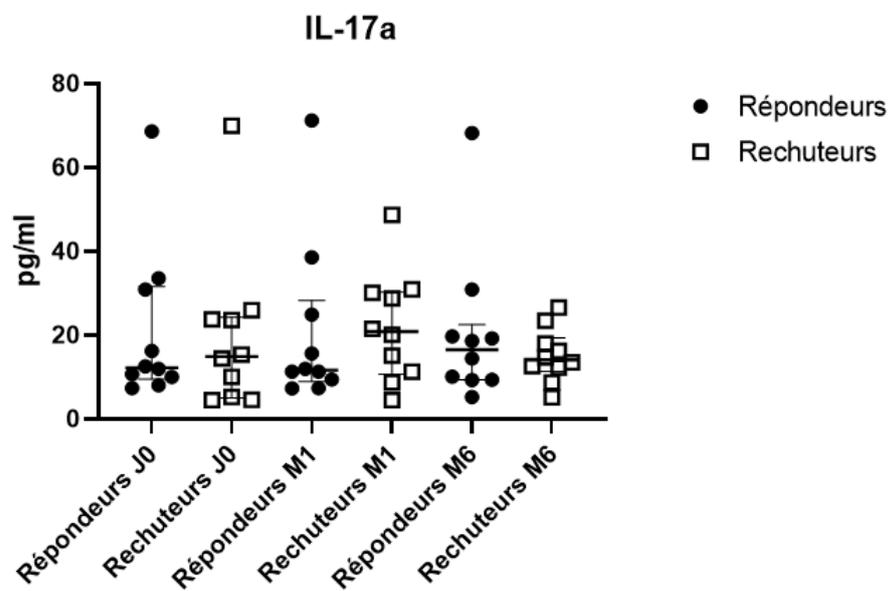
### 3-Profil Th17

Les cytokines constituant le profil Th17 sont IL-1beta, IL-17, IL-21, IL-22 et IL-23. Les résultats des dosages sont résumés dans les graphiques ci-dessous.

#### IL-1beta

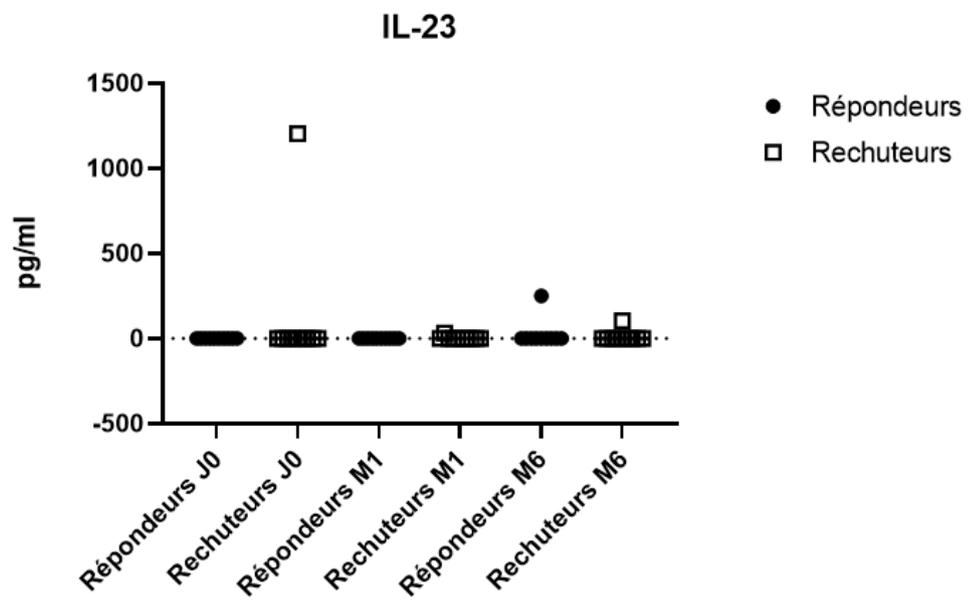


#### IL-17a





## IL-23

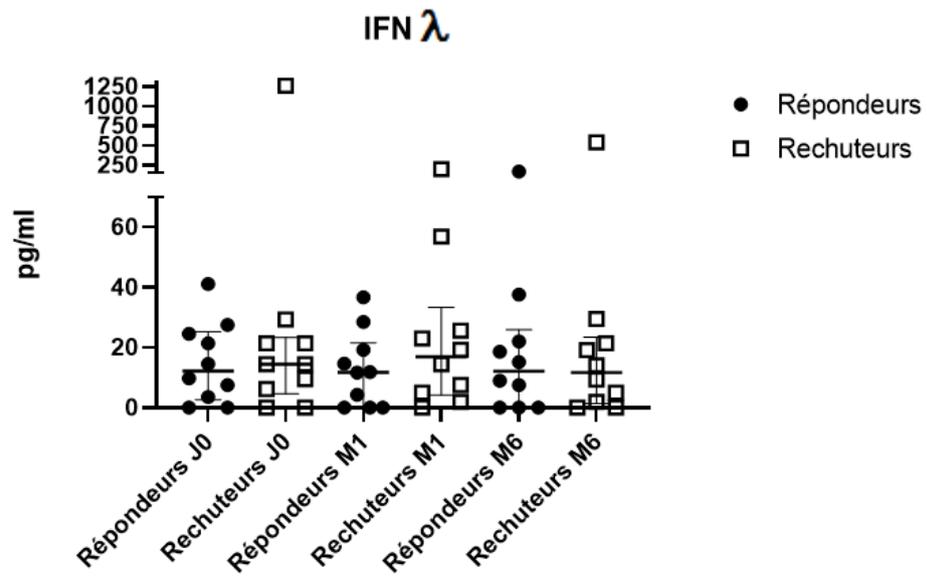


Cette cytokine n'a que très rarement été détectée chez les patients.

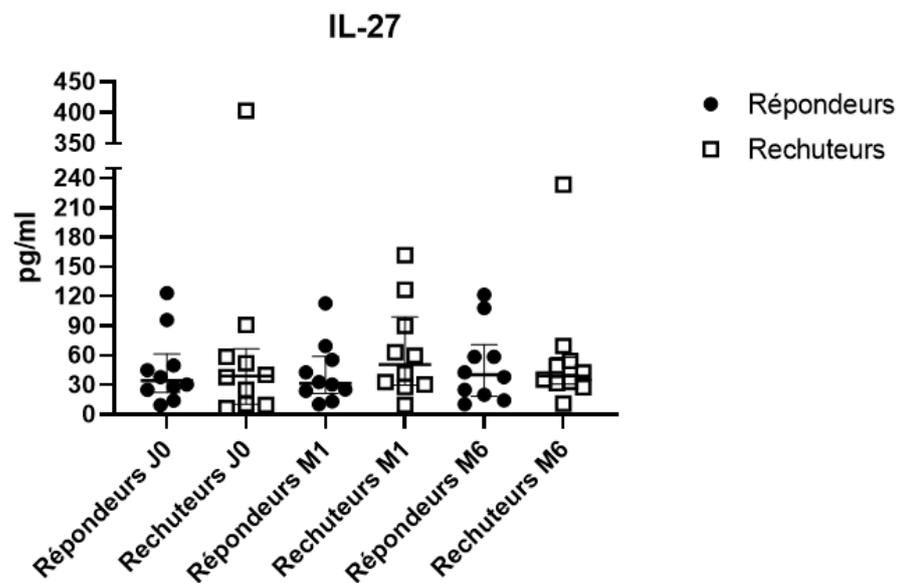
## 4-Autres cytokines

Les autres cytokines dosées appartiennent à des profils divers (Immunité innée, Th9, Treg, etc...). Les résultats sont regroupés sur les graphiques ci-dessous.

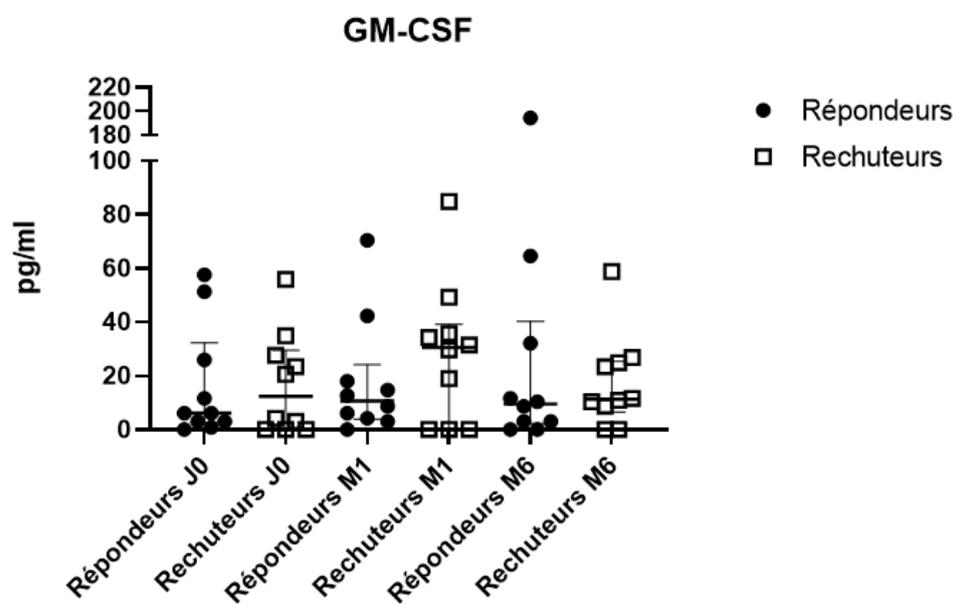
### IFN $\lambda$



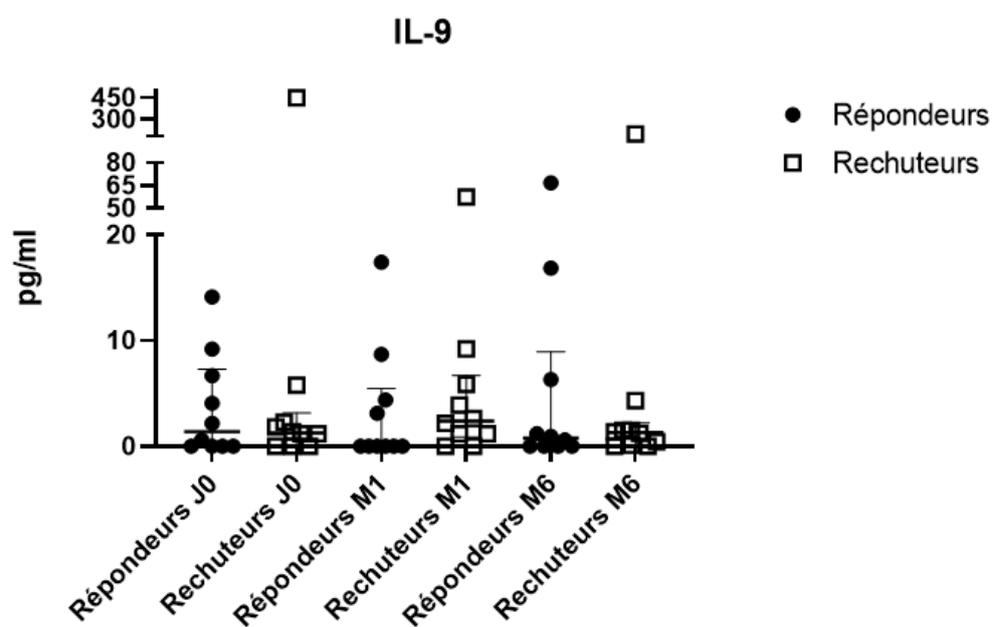
### IL-27



## GM-CSF

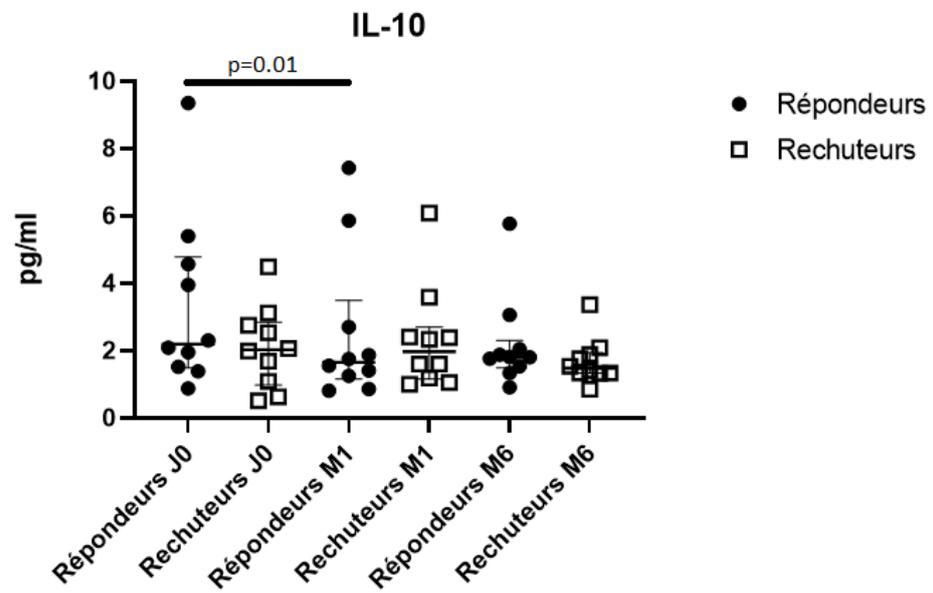


## IL-9



Les calculs statistiques n'ont mis en évidence aucune différence entre les groupes et selon le temps de traitement pour l'IFN  $\lambda$ , l'IL-27, le GM-CSF, l'IL-9.

## IL-10



Les analyses ont montré une concentration plus faible à M1 comparée à J0 ( $p=0.01$ ) dans le groupe des répondeurs.

## Discussion

Cette étude préliminaire s'est intéressée aux variations de profils cytokiniques chez des patients transplantés rénaux infectés de manière chronique par le VHE, ayant tous reçu de la ribavirine pendant 3 mois. Elle s'inscrit dans le cadre d'un projet plus global visant à étudier la réponse immune adaptative chez des patients transplantés d'organes solides traités par immunosuppresseurs lors de traitement par ribavirine.

Nous nous sommes plus précisément penchés sur l'analyse de la réponse immunitaire cellulaire à travers la mesure des cytokines présentes dans le sang périphérique de ces patients.

Pour rappel, les lymphocytes T-CD4 peuvent être classés en différents sous-types dont le développement est contrôlé par divers facteurs de transcription : Th1, Th2, Th17, Th9, Treg. Ces sous-types sont spécialisés et se différencient par le type de cytokines qu'ils produisent. (123)

Les lymphocytes appartenant au sous-type Th1 sont classiquement impliqués dans la lutte contre les infections à germes intracellulaires, englobant les bactéries et les virus. Ils agissent en promouvant la réponse cellulaire via l'activation des lymphocytes T cytotoxiques et des macrophages. (123)

Les lymphocytes appartenant au sous-type Th2 sont quant à eux orientés contre les pathogènes extracellulaires et sont impliqués dans les réactions allergiques du fait de leur capacité à augmenter la production d'IgE. (123)

La différenciation en l'un ou l'autre de ces sous-types dépend essentiellement des cellules présentatrices d'antigènes qui exprimeront différentes cytokines en fonction du pathogène rencontré. Ainsi, l'IL-12 est essentielle pour la différenciation en lymphocytes Th1, alors que l'IL-4 sera à l'origine des cellules Th2. (123)

Il est à noter que les deux profils s'inhibent l'un l'autre et s'auto-amplifient, d'où la notion de balance classiquement décrite.

Le sous-type Th17, décrit pour la première fois en 2005, est impliqué dans la lutte contre les bactéries extracellulaires ainsi que contre les infections fongiques. Il est caractérisé par la production d'une cytokine pro-inflammatoire, IL-17. La différenciation des lymphocytes naïfs vers ce sous-type se fait lorsque l'environnement cytokinique est riche en TGF-beta et en IL-6 (124).

Les lymphocytes appartenant au sous-type Treg sécrètent quant à eux des cytokines immunomodulatrices, avec notamment l'IL-10. Leur rôle sera essentiellement de réguler la réponse immunitaire afin de limiter les effets délétères de cette dernière sur l'organisme. Un environnement cytokinique riche en TGF-beta et sans IL-6 orientera les lymphocytes naïfs vers ce sous-type (124).

Enfin, le sous-type Th9 se caractérise par l'expression de la cytokine Th9 et une faible expression des cytokines marqueurs des autres profils, à savoir IFN  $\gamma$ , IL-4 et IL-17. Les lymphocytes appartenant à ce sous-type sont considérés comme inflammatoires et sont impliqués dans les maladies atopiques, auto-immune et la défense anti-parasitaire. La différenciation des lymphocytes naïfs vers ce sous-type se fait dans un environnement riche en IL-4 et TGF-beta. (125)

L'analyse de l'ensemble des données concernant les cytokines tend à indiquer que la balance Th1/Th2 est en faveur d'une réponse immunitaire Th1 chez les répondeurs et Th2 chez les non répondeurs.

En effet, les mesures effectuées sur l'IL-18 montrent des taux significativement plus élevés chez les répondeurs après un mois de traitement par rapport aux rechuteurs. L'IL-18 est une cytokine pro-inflammatoire qui module l'activation des lymphocytes T et NK et participe à la différenciation des lymphocytes T-CD4 en Th1 (126). La baisse significative de ces taux chez les répondeurs au cours du traitement pourrait correspondre à une contremesure de l'organisme une fois l'infection par le VHE résolue, afin d'éviter un emballement du système immunitaire qui serait délétère sur le long terme.

D'autre part, les mesures de l'IL-12 ont montré une diminution significative entre le début et le premier mois de traitement chez les répondeurs, ce qui va théoriquement à l'encontre des résultats obtenus pour l'IL-18. Il est toutefois important de souligner les taux mesurés particulièrement faibles, bien en dessous de ceux retrouvés habituellement en contexte d'hépatite (127, 128, 129), rendant toute variation difficilement interprétable. L'IL-12 est la cytokine pro-inflammatoire principale induisant le processus de différenciation des lymphocytes T-CD4 en Th1. (123)

On constate enfin une diminution du TNF-alpha chez les rechuteurs entre le premier et le troisième mois après arrêt du traitement. Cette cytokine apparaît comme essentielle au développement des lymphocytes Th1 (130) et cette baisse de TNF-alpha pourrait contribuer à la rechute.

L'analyse des données concernant les cytokines de profil Th2 a mis en évidence une prédominance de ces dernières chez les patients rechuteurs par rapport aux répondeurs.

En premier lieu, la variation du taux d'IL-6 est significativement plus élevée chez les rechuteurs par rapport aux répondeurs. De même, la concentration d'IL-6 au temps M6 est significativement augmenté par rapport au début du traitement dans le seul groupe des rechuteurs. L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire produite par divers types de cellules présentatrices d'antigènes telles que les macrophages ou les cellules dendritiques. Elle participe directement à la régulation de la balance Th1/Th2 en favorisant le profil Th2 et en inhibant le profil Th1 grâce à deux mécanismes moléculaires. D'une part, elle active un facteur de transcription, NFAT (*nuclear factor of activated T cells*), conduisant à une production d'IL-4 par les lymphocytes T naïfs, ce qui induit leur différenciation en cellules de type Th2. D'autre part, elle inhibe la différenciation en type Th1 de manière indépendante de l'IL-4 et de NFAT, via la stimulation de SOCS-1 (*suppressor of cytokine signaling*) qui interfère avec la voie de l'IFN  $\gamma$  et empêche donc son action polarisatrice. (131)

En second lieu, les résultats d'analyses montrent un taux d'IL-10 significativement diminué après un mois de traitement comparativement au début, dans le groupe des répondeurs. L'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire et immunomodulatrice produite par des cellules variées telles que les monocytes, macrophages, mastocytes, éosinophiles, kératinocytes et enfin par les lymphocytes

aussi bien Th1 que Th2 (132). Sa sécrétion est cependant stimulée par la présence d'IL-4, appartenant exclusivement au phénotype Th2. Elle agit sur la différenciation Th1/Th2 en inhibant la production des cytokines pro-inflammatoires comme IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12 et GM-CSF et en favorisant d'autres cytokines, notamment IL-4.

La somme de ces effets conduit à une diminution du profil Th1 au profit du Th2 (133). La diminution de cette cytokine après un mois de traitement renforce l'hypothèse de la prédominance Th1 chez les répondeurs par rapport aux rechuteurs chez qui l'IL-10 n'a pas montré de variation significative.

Enfin, les résultats obtenus pour l'IL-13 ont montré des taux supérieurs de cette dernière chez les patients rechuteurs par rapport aux répondeurs après un mois de traitement. L'IL-13 est une cytokine dont l'action se rapproche de l'IL-4 appartenant au profil Th2. En effet, elle a la capacité de se lier aux mêmes récepteurs et d'induire des effets similaires (134). Ces deux cytokines sont, avec l'IL-5, les principaux acteurs de la différenciation des lymphocytes naïfs vers la voie Th2. (135)

L'analyse des cytokines appartenant aux profils Th17 et Th9 n'a montré aucun résultat significatif, semblant indiquer une absence de participation de ces deux voies dans la réponse immunitaire antivirale lors d'une infection par le VHE.

En définitive, l'ensemble des résultats obtenus semble indiquer une prédominance Th1 chez les répondeurs et Th2 chez les rechuteurs. Il convient de préciser certaines limites à cette étude, entre autres le nombre restreint de patients inclus dans chaque groupe. L'analyse est également rendue plus complexe du fait du terrain des patients, avec notamment les traitements immunosuppresseurs qui diminuent de manière attendue la réponse immunitaire, et donc les taux de cytokines. Cependant, il est à noter que malgré une charge virale et des taux de CD4 significativement différents entre les groupes avant le début du traitement, l'étude n'a pas montré de différence concernant les taux de cytokines à baseline. Enfin, le choix de la mesure des cytokines sur des prélèvements de sang périphérique présente aussi ses limites dans le sens où les taux mesurés peuvent ne pas correspondre à ceux retrouvés au niveau des sites d'infection.

Il s'agit là d'une étude préliminaire s'inscrivant dans un plus grand projet qui vise à caractériser la réponse immune des patients infectés chroniquement par le VHE et traités par ribavirine. La suite de ce travail va notamment se concentrer sur l'étude plus précise des différentes voies métaboliques des lymphocytes T chez ces patients. Il s'agira de mieux comprendre pourquoi les rechuteurs présentent un déséquilibre vers la voie Th2 et déterminer quelles voies métaboliques pourraient être impliquées.

Afin d'y parvenir, plusieurs approches seront réalisées, à travers notamment l'étude phénotypique des lymphocytes par technique de cytométrie en flux, l'étude de la réponse T spécifique du VHE stimulée par des peptides par ELISPOT et enfin l'analyse en elle-même des voies métaboliques des lymphocytes T, avec notamment la glycolyse, la phosphorylation oxydative et l'activité mitochondriale, et enfin la bêta-oxydation des acides gras.

Des premiers résultats obtenus par ELISPOT montrent une tendance à une production augmentée d'IFN  $\gamma$  chez les répondeurs par rapport aux rechuteurs lorsqu'on étudie les lymphocytes T prélevés après un mois de traitement. Cela conforte dans l'idée d'une prédominance du profil Th1 chez les répondeurs.

# Conclusion

Le virus de l'hépatite E est un virus conduisant à une expression clinique très variée en fonction de son génotype et du terrain du patient, allant de simples formes asymptomatiques à des formes chroniques plus sévères.

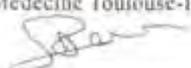
Les progrès thérapeutiques modernes ont permis à de plus en plus de patients de bénéficier de transplantations d'organes solides, augmentant l'espérance de vie au prix de traitements immunosuppresseurs au long cours pouvant entraîner des complications infectieuses, et notamment le développement d'une forme chronique de l'hépatite E. La ribavirine pendant une durée de trois mois est le traitement de référence du VHE chez l'immunodéprimé.

Ce travail préliminaire a permis de mettre en évidence des modifications dans la production périphérique des cytokines au cours du traitement par ribavirine, avec notamment une tendance à une réponse de type Th1 chez les répondeurs et de type Th2 chez les rechuteurs. Il s'agira par la suite de caractériser les voies métaboliques lymphocytaires impactées par le traitement afin pouvoir éventuellement les moduler et favoriser la guérison sous ribavirine.

Toulouse, le 08.04.2021

Vu permis d'imprimer  
Le Doyen de la Faculté  
de Médecine Purpan  
D.CARRIE

Le Doyen de la Faculté  
de Médecine Toulouse-Purpan

  
Didier CARRIÉ

Professeur Jacques IZOPET  
Chef de Service de Virologie  
Hôpital de la Pitié-Salpêtrière  
330, Avenue de Grande-Bretagne  
TSA 4003 - 31057 TOULOUSE Cedex 9  
Tél. 05 67 69 04 22 - Fax 05 67 69 04 25

le 07/04/21

## **Bibliographie**

1. 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):818-824.
2. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*. 1983;20(1):23-31.
3. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1990;247(4948):1335-1339.
4. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94(18):9860-9865.
5. Kamar N, Selves J, Mansuy J-M, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2008;358(8):811-817.
6. Ollier L, Tieulie N, Sanderson F, et al. Chronic hepatitis after hepatitis E virus infection in a patient with non-Hodgkin lymphoma taking rituximab. *Ann Intern Med*. 2009;150(6):430-431.
7. Tavitian S, Péron J-M, Huynh A, et al. Hepatitis E virus excretion can be prolonged in patients with hematological malignancies. *J Clin Virol*. 2010;49(2):141-144.
8. Colson P, Dhiver C, Gérolami R. Hepatitis E virus as a newly identified cause of acute viral hepatitis during human immunodeficiency virus infection. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(12):1176-1180.
9. Smith DB, Simmonds P. Classification and Genomic Diversity of Enterically Transmitted Hepatitis Viruses. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(9).
10. Sridhar S, Yip CC-Y, Wu S, et al. Transmission of Rat Hepatitis E Virus Infection to Humans in Hong Kong: A Clinical and Epidemiological Analysis. *Hepatology*. Published online January 20, 2020.
11. Wang B, Harms D, Yang X-L, Bock C-T. Orthohepevirus C: An Expanding Species of Emerging Hepatitis E Virus Variants. *Pathogens*. 2020;9(3):154.
12. Huang FF, Haqshenas G, Shivaprasad HL, et al. Heterogeneity and seroprevalence of a newly identified avian hepatitis e virus from chickens in the United States. *J Clin Microbiol*. 2002;40(11):4197-4202.
13. Zhang X, Bilic I, Troxler S, Hess M. Evidence of genotypes 1 and 3 of avian hepatitis E virus in wild birds. *Virus Res*. 2017;228:75-78.

14. Drexler JF, Seelen A, Corman VM, et al. Bats worldwide carry hepatitis E virus-related viruses that form a putative novel genus within the family Hepeviridae. *J Virol.* 2012;86(17):9134-9147.
15. Nair VP, Anang S, Subramani C, 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.
16. Montpellier C, Wychowski C, Sayed IM, et al. Hepatitis E Virus Lifecycle and Identification of 3 Forms of the ORF2 Capsid Protein. *Gastroenterology.* 2018;154(1):211-223.e8.
17. World Health Organization, World Health Organization, Global Hepatitis Programme. Global hepatitis report, 2017. 2017. 83 p.
18. Kumar A, Beniwal M, Kar P, Sharma JB, Murthy NS. Hepatitis E in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 2004;85(3):240-244.
19. Navaneethan U, Mohajer MA, Shata MT. Hepatitis E and Pregnancy- Understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008;28(9):1190-1199.
20. Kumar RM, Uduman S, Rana S, Kochiyil JK, Usmani A, Thomas L. Sero-prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;100(1):9-15.
21. Krain LJ, Atwell JE, Nelson KE, Labrique AB. Fetal and neonatal health consequences of vertically transmitted hepatitis E virus infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;90(2):365-370.
22. Kamar N, Izopet J, Pavio N, et al. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17086.
23. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(1):116-138.
24. Viswanathan R. Epidemiology. *Indian J Med Res.* 1957;45(Suppl.):1-29.
25. Naik SR, Aggarwal R, Salunke PN, Mehrotra NN. A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur, India. *Bull World Health Organ.* 1992;70(5):597-604.
26. Khuroo MS, Khuroo MS. Hepatitis E: an emerging global disease - from discovery towards control and cure. *J Viral Hepat.* 2016;23(2):68-79.
27. Howard CM, Handzel T, Hill VR, et al. Novel risk factors associated with hepatitis E virus infection in a large outbreak in northern Uganda: results from a case-control study and environmental analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(5):1170-1173.

28. Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses*. 2016;8(10).
29. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003;362(9381):371-373.
30. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008;198(12):1732-1741.
31. Zoonotic Transmission of Hepatitis E Virus From Deer to Human Beings - PubMed. Accessed June 30, 2020.
32. Lee G-H, Tan B-H, Teo EC-Y, 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.
33. Chaussade H, Rigaud E, Allix A, et al. Hepatitis E virus seroprevalence and risk factors for individuals in working contact with animals. *J Clin Virol*. 2013;58(3):504-508.
34. Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J Clin Microbiol*. 2002;40(1):117-122.
35. Carpentier A, Chaussade H, Rigaud E, et al. High hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France. *J Clin Microbiol*. 2012;50(9):2888-2893.
36. La Rosa G, Della Libera S, Brambilla M, et al. Hepatitis E Virus (Genotype 3) in Slurry Samples from Swine Farming Activities in Italy. *Food Environ Virol*. 2017;9(2):219-229.
37. Kokkinos P, Kozyra I, Lazic S, et al. Virological Quality of Irrigation Water in Leafy Green Vegetables and Berry Fruits Production Chains. *Food Environ Virol*. 2017;9(1):72-78.
38. Abravanel F, Pique J, Couturier E, et al. Acute hepatitis E in French patients and neurological manifestations. *J Infect*. 2018;77(3):220-226.
39. Said B, Ijaz S, Kafatos G, et al. Hepatitis E Outbreak on Cruise Ship. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(11):1738-1744.
40. Gallian P, Couchouron A, Dupont I, et al. Comparison of hepatitis E virus nucleic acid test screening platforms and RNA prevalence in French blood donors. *Transfusion*. 2017;57(1):223-224.

41. Mansuy JM, Gallian P, Dimeglio C, et al. A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors. *Hepatology*. 2016;63(4):1145-1154.
42. Mansuy J-M, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E Virus Antibodies in Blood Donors, France. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(12):2309-2312.
43. Schlosser B, Stein A, Neuhaus R, et al. Liver transplant from a donor with occult HEV infection induced chronic hepatitis and cirrhosis in the recipient. *J Hepatol*. 2012;56(2):500-502.
44. Pourbaix A, Ouali N, Soussan P, et al. Evidence of hepatitis E virus transmission by renal graft. *Transpl Infect Dis*. 2017;19(1).
45. Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, et al. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerging Infect Dis*. 2012;18(8):1274-1281.
46. Kenney SP, Meng X-J. Hepatitis E Virus Genome Structure and Replication Strategy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2019;9(1).
47. Takahashi M, Tanaka T, Takahashi H, et al. Hepatitis E Virus (HEV) strains in serum samples can replicate efficiently in cultured cells despite the coexistence of HEV antibodies: characterization of HEV virions in blood circulation. *J Clin Microbiol*. 2010;48(4):1112-1125.
48. Chapuy-Regaud S, Dubois M, Plisson-Chastang C, et al. Characterization of the lipid envelope of exosome encapsulated HEV particles protected from the immune response. *Biochimie*. 2017;141:70-79.
49. Geng Y, Zhao C, Huang W, et al. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J Hepatol*. 2016;64(1):37-43.
50. Drave SA, Debing Y, Walter S, et al. Extra-hepatic replication and infection of hepatitis E virus in neuronal-derived cells. *J Viral Hepat*. 2016;23(7):512-521.
51. Xia J, Liu L, Wang L, et al. Experimental infection of pregnant rabbits with hepatitis E virus demonstrating high mortality and vertical transmission. *J Viral Hepat*. 2015;22(10):850-857.
52. Geng Y, Zhang H, Huang W, et al. Persistent hepatitis e virus genotype 4 infection in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Hepat Mon*. 2014;14(1):e15618.
53. Labrique AB, Kuniholm MH, Nelson KE. The Global Impact of Hepatitis E: New Horizons for an Emerging Virus. In: *Emerging Infections 9*. John Wiley & Sons, Ltd; 2014:53-93.
54. Hamid SS, Atiq M, Shehzad F, et al. Hepatitis E virus superinfection in patients with chronic liver disease. *Hepatology*. 2002;36(2):474-478.

55. Péron JM, Bureau C, Poirson H, 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.
56. Pérez-Gracia MT, Suay-García B, Mateos-Lindemann ML. Hepatitis E and pregnancy: current state. *Rev Med Virol.* 2017;27(3):e1929.
57. Kamar N, Rostaing L, Legrand-Abravanel F, Izopet J. How should hepatitis E virus infection be defined in organ-transplant recipients? *Am J Transplant.* 2013;13(7):1935-1936.
58. Dalton HR, Bendall RP, Keane FE, Tedder RS, Ijaz S. Persistent carriage of hepatitis E virus in patients with HIV infection. *N Engl J Med.* 2009;361(10):1025-1027.
59. Charre C, Ramière C, Dumortier J, et al. Chronic Genotype 3 Hepatitis E in Pregnant Woman Receiving Infliximab and Azathioprine. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(5):941-943.
60. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology.* 2011;140(5):1481-1489.
61. Legrand-Abravanel F, Kamar N, Sandres-Saune K, et al. Hepatitis E virus infection without reactivation in solid-organ transplant recipients, France. *Emerging Infect Dis.* 2011;17(1):30-37.
62. Pischke S, Stiefel P, Franz B, et al. Chronic Hepatitis E in Heart Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation.* 2012;12(11):3128-3133.
63. Lhomme S, Abravanel F, Dubois M, et al. Hepatitis E virus quasispecies and the outcome of acute hepatitis E in solid-organ transplant patients. *J Virol.* 2012;86(18):10006-10014.
64. Kamar N, Mansuy J-M, Cointault O, et al. Hepatitis E virus-related cirrhosis in kidney- and kidney-pancreas-transplant recipients. *Am J Transplant.* 2008;8(8):1744-1748.
65. Kamar N, Marion O, Abravanel F, Izopet J, Dalton HR. Extrahepatic manifestations of hepatitis E virus. *Liver Int.* 2016;36(4):467-472.
66. Karlsson M, Norder H, Bergström M, et al. Hepatitis E virus genotype 3 is associated with gallstone-related disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 2019;54(10):1269-1273.
67. Sood A, Midha V, Sood N. Guillain-Barré syndrome with acute hepatitis E. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(12):3667-3668.

68. Van den Berg B, van der Eijk AA, Pas SD, et al. Guillain-Barré syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection. *Neurology*. 2014;82(6):491-497.
69. Darteviel A, Colombe B, Bosseray A, et al. Hepatitis E and neuralgic amyotrophy: Five cases and review of literature. *Journal of Clinical Virology*. 2015;69:156-164.
70. Van Eijk JJJ, Madden RG, van der Eijk AA, et al. Neuralgic amyotrophy and hepatitis E virus infection. *Neurology*. 2014;82(6):498-503.
71. Guinault D, Ribes D, Delas A, et al. Hepatitis E Virus–Induced Cryoglobulinemic Glomerulonephritis in a Nonimmunocompromised Person. *American Journal of Kidney Diseases*. 2016;67(4):660-663.
72. Dalton HR, van Eijk JJJ, Cintas P, et al. Hepatitis E virus infection and acute non-traumatic neurological injury: A prospective multicentre study. *J Hepatol*. 2017;67(5):925-932.
73. Huang S, Zhang X, Jiang H, et al. Profile of acute infectious markers in sporadic hepatitis E. *PLoS ONE*. 2010;5(10):e13560.
74. Schemmerer M, Rauh C, Jilg W, Wenzel JJ. Time course of hepatitis E-specific antibodies in adults. *J Viral Hepat*. 2017;24(1):75-79.
75. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, et al. Performance of anti-HEV assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. *J Clin Virol*. 2013;58(4):624-628.
76. Trémeaux P, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Peron J-M, Alric L, Kamar N, et al. Performance of an antigen assay for diagnosing acute hepatitis E virus genotype 3 infection. *J Clin Virol*. 2016;79:1-5.
77. Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Protracted Fecal Shedding of HEV During Ribavirin Therapy Predicts Treatment Relapse. *Clin Infect Dis*. 2015;60(1):96-99.
78. 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.
79. Abravanel, Florence, Sébastien Lhomme, Sabine Chapuy-Regaud, Jean-Michel Mansuy, Jérôme Boineau, Karine Sauné, et Jacques Izopet. « 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: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 105 (août 2018): 109-11.

80. Al-Sadeq, Duaa W., Amin F. Majdalawieh, Areej G. Mesleh, Omnya M. Abdalla, et Gheyath K. Nasrallah. « Laboratory Challenges in the Diagnosis of Hepatitis E Virus ». *Journal of Medical Microbiology* 67, n° 4 (avril 2018): 466-80.
81. 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):1323-1324; author reply 1324-1325.
82. 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):279-283.
83. Dianoux L, Bougrini JE, Galisson F, Percherancier Y, Chelbi-Alix MK. Les mécanismes de l'action antivirale des interférons : la voie PML. *Virologie.* 2008;12(1):39-52.
84. Kamar N, Lhomme S, Abravanel F, et al. Treatment of HEV Infection in Patients with a Solid-Organ Transplant and Chronic Hepatitis. *Viruses.* 2016;8(8).
85. Todt D, Walter S, Brown RJP, Steinmann E. Mutagenic Effects of Ribavirin on Hepatitis E Virus—Viral Extinction versus Selection of Fitness-Enhancing Mutations. *Viruses.* 2016;8(10).
86. Debing Y, Emerson SU, Wang Y, et al. 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):267-273.
87. Paeshuyse J, Dallmeier K, Neyts J. Ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C virus infection: a review of the proposed mechanisms of action. *Curr Opin Virol.* 2011;1(6):590-598.
88. Bougie I, Bisailon M. The broad spectrum antiviral nucleoside ribavirin as a substrate for a viral RNA capping enzyme. *J Biol Chem.* 2004;279(21):22124-22130.
89. Goswami, B.B.; Borek, E.; Sharma, O.K.; Fujitaki, J.; Smith, R.A. The broad spectrum antiviral agent ribavirin inhibits capping of mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1979, 89, 830–836.
90. Yan Y, Svitkin Y, Lee JM, Bisailon M, Pelletier J. Ribavirin is not a functional mimic of the 7-methyl guanosine mRNA cap. *RNA.* 2005;11(8):1238-1244.

91. Westman B, Beeren L, Grudzien E, et al. The antiviral drug ribavirin does not mimic the 7-methylguanosine moiety of the mRNA cap structure in vitro. *RNA*. 2005;11(10):1505-1513.
92. Thomas E, Ghany MG, Liang TJ. The application and mechanism of action of ribavirin in therapy of hepatitis C. *Antivir Chem Chemother*. 2012;23(1):1-12.
93. Eriksson B, Helgstrand E, Johansson NG, et al. Inhibition of influenza virus ribonucleic acid polymerase by ribavirin triphosphate. *Antimicrob Agents Chemother*. 1977;11(6):946-951.
94. Domingo E, Holland JJ. RNA virus mutations and fitness for survival. *Annu Rev Microbiol*. 1997;51:151-178.
95. Debing Y, Ramière C, Dallmeier K, et al. Hepatitis E virus mutations associated with ribavirin treatment failure result in altered viral fitness and ribavirin sensitivity. *J Hepatol*. 2016;65(3):499-508.
96. Todt D, Gisa A, Radonic A, et al. In vivo evidence for ribavirin-induced mutagenesis of the hepatitis E virus genome. *Gut*. 2016;65(10):1733-1743.
97. Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev Med Virol*. 2006;16(1):37-48.
98. Hultgren C, Milich DR, Weiland O, Söllberg M. The antiviral compound ribavirin modulates the T helper (Th) 1/Th2 subset balance in hepatitis B and C virus-specific immune responses. *Journal of General Virology*. 1998;79(10):2381-2391.
99. Tsai S, Liaw Y, Chen M, Huang C, Kuo G. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: Implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology*. 1997;25(2):449-458.
100. Testoni B, Durantel D, Lebossé F, et al. Ribavirin restores IFN $\alpha$  responsiveness in HCV-infected livers by epigenetic remodelling at interferon stimulated genes. *Gut*. 2016;65(4):672-682.
101. Kamar N, Rostaing L, Abravanel F, et al. Ribavirin therapy inhibits viral replication on patients with chronic hepatitis e virus infection. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1612-1618.
102. Pischke S, Hardtke S, Bode U, et al. Ribavirin treatment of acute and chronic hepatitis E: a single-centre experience. *Liver Int*. 2013;33(5):722-726.
103. Kamar N, Izopet J, Tripon S, et al. Ribavirin for Chronic Hepatitis E Virus Infection in Transplant Recipients. *N Engl J Med*. 2014;370(12):1111-1120.

104. Debing Y, Gisa A, Dallmeier K, et al. 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; quiz e15-16.
105. Lhomme S, Garrouste C, Kamar N, et al. Influence of Polyproline Region and Macro Domain Genetic Heterogeneity on HEV Persistence in Immunocompromised Patients. *J Infect Dis*. 2014;209(2):300-303.
106. Kamar, Nassim, Florence Abravanel, Patrick Behrendt, Jörg Hofmann, Georges Phillippe Pageaux, Christelle Barbet, Valérie Moal, et al. « Ribavirin for Hepatitis E Virus Infection After Organ Transplantation: A Large European Retrospective Multicenter Study ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 3 décembre 2019.
107. Li Y, Qu C, Yu P, Ou X, Pan Q, Wang W. The Interplay between Host Innate Immunity and Hepatitis E Virus. *Viruses*. 2019;11(6):541.
108. Feng Z, Lemon SM. Innate Immunity to Enteric Hepatitis Viruses. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2019;9(3):a033464.
109. Todt D, François C, Anggakusuma, et al. Antiviral Activities of Different Interferon Types and Subtypes against Hepatitis E Virus Replication. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(4):2132-2139.
110. Wang W, Xu L, Brandsma JH, et al. Convergent Transcription of Interferon-stimulated Genes by TNF- $\alpha$  and IFN- $\alpha$  Augments Antiviral Activity against HCV and HEV. *Sci Rep*. 2016;6.
111. Srivastava R, Aggarwal R, Bhagat MR, Chowdhury A, Naik S. Alterations in natural killer cells and natural killer T cells during acute viral hepatitis E. *J Viral Hepat*. 2008;15(12):910-916.
112. Srivastava R, Aggarwal R, Jameel S, et al. Cellular immune responses in acute hepatitis E virus infection to the viral open reading frame 2 protein. *Viral Immunol*. 2007;20(1):56-65.
113. Prabhu SB, Gupta P, Durgapal H, et al. Study of cellular immune response against Hepatitis E Virus (HEV). *Journal of Viral Hepatitis*. 2011;18(8):587-594.
114. Abravanel F, Barragué H, Dörr G, et al. Conventional and innate lymphocytes response at the acute phase of HEV infection in transplanted patients. *Journal of Infection*. 2016;72(6):723-730.

115. Walker CM. Adaptive Immune Responses in Hepatitis A Virus and Hepatitis E Virus Infections. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019;9(9).
116. Yin X, Ambardekar C, Lu Y, Feng Z. Distinct Entry Mechanisms for Nonenveloped and Quasi-Enveloped Hepatitis E Viruses. *J Virol.* 2016;90(8):4232-4242.
117. Suneetha PV, Pischke S, Schlaphoff V, et al. Hepatitis E virus (HEV)-specific T-cell responses are associated with control of HEV infection. *Hepatology.* 2012;55(3):695-708.
118. Brown A, Halliday JS, Swadling L, et al. Characterization of the Specificity, Functionality, and Durability of Host T-Cell Responses Against the Full-Length Hepatitis E Virus. *Hepatology.* 2016;64(6):1934-1950.
119. Gisa A, Suneetha PV, Behrendt P, et al. Cross-genotype-specific T-cell responses in acute hepatitis E virus (HEV) infection. *J Viral Hepat.* 2016;23(4):305-315.
120. Al-Ayoubi J, Behrendt P, Bremer B, et al. Hepatitis E virus ORF 1 induces proliferative and functional T-cell responses in patients with ongoing and resolved hepatitis E. *Liver Int.* 2018;38(2):266-277.
121. Sanchez-Fueyo A, Markmann JF. Immune Exhaustion and Transplantation. *Am J Transplant.* 2016;16(7):1953-1957.
122. Lee J, Ahn E, Kissick HT, Ahmed R. Reinvigorating Exhausted T Cells by Blockade of the PD-1 Pathway. *For Immunopathol Dis Therap.* 2015;6(1-2):7-17.
123. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Annals of Allergy, Asthma & Immunology.* 2000;85(1):9-21.
124. Samson M, Lakomy D, Audia S, Bonnotte B. Les lymphocytes TH17 : différenciation, phénotype, fonctions, et implications en pathologie et thérapeutique humaine. *La Revue de Médecine Interne.* 2011;32(5):292-301.
125. Kaplan MH, Hufford MM, Olson MR. The Development and in vivo function of TH9 cells. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(5):295-307.
126. Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Front Immunol.* 2013;4:289.
127. He D, Yan G, Wang Y. Serum levels of interleukin-12 in various clinical states with hepatitis B virus infection. *Cellular immunology.* 2011;272:162-165.

128. Wu J, Wu T, Chen C, et al. Serum Levels of Interleukin-10 and Interleukin-12 Predict Early, Spontaneous Hepatitis B Virus e Antigen Seroconversion. *Gastroenterology*. 2010;138(1):165-172.e3.
129. Serum Cytokine of IL-10 and IL-12 in Chronic Liver Disease: The Immune and Inflammatory Response. Accessed March 9, 2021.
130. Shibuya K, Robinson D, Zonin F, et al. IL-1 $\alpha$  and TNF- $\alpha$  Are Required for IL-12-Induced Development of Th1 Cells Producing High Levels of IFN- $\gamma$  in BALB/c But Not C57BL/6 Mice. *The Journal of Immunology*. 1998;160(4):1708-1716.
131. Diehl S, Rincón M. The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation. *Mol Immunol*. 2002;39(9):531-536.
132. Trinchieri G. Interleukin-10 production by effector T cells: Th1 cells show self control. *J Exp Med*. 2007;204(2):239-243.
133. Laouini D, Alenius H, Bryce P, Oettgen H, Tsitsikov E, Geha RS. IL-10 is critical for Th2 responses in a murine model of allergic dermatitis. *J Clin Invest*. 2003;112(7):1058-1066.
134. Gadani SP, Cronk JC, Norris GT, Kipnis J. Interleukin-4: A Cytokine to Remember. *J Immunol*. 2012;189(9):4213-4219.
135. Zhu J. T helper 2 (Th2) cell differentiation, type 2 innate lymphoid cell (ILC2) development and regulation of interleukin-4 (IL-4) and IL-13 production. *Cytokine*. 2015;75(1):14-24.

AUTEUR : Bastien BARATS

TITRE : Etude des cytokines chez des patients infectés chroniquement par le virus de l'hépatite E traités par ribavirine

DIRECTEUR DE THÈSE : Dr Florence ABRAVANEL

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : Toulouse, le 29 Avril 2021

---

#### Résumé

Chez les patients transplantés d'organe solide, l'hépatite E peut entraîner une infection chronique. La ribavirine est le traitement de référence mais ne suffit pas toujours à éliminer l'infection. L'objectif de l'étude est de caractériser les réponses cytokiniques de 10 répondeurs et 10 rechuteurs au cours du traitement par ribavirine. Pour cela, nous avons analysé les concentrations de cytokines dans le sang périphérique par technique Luminex. Les répondeurs ont présenté à un mois de traitement des taux d'IL-18 plus élevés que les rechuteurs et une diminution de l'IL-10 par rapport au début du traitement. Les rechuteurs ont présentés un taux d'IL-13 plus important que les répondeurs après un mois de traitement ainsi qu'un taux plus élevé d'IL-6 trois mois après traitement par rapport au début. L'ensemble des résultats suggère une réponse immunitaire de type Th1 chez les répondeurs et de type Th2 chez les rechuteurs. Il s'agira de caractériser par la suite les phénotypes et voies métaboliques des lymphocytes afin de pouvoir éventuellement les moduler et favoriser la guérison sous ribavirine.

---

#### Abstract

In solid organ transplant patients, hepatitis E can lead to chronic infection. Ribavirin is the reference treatment but is not always enough to eliminate the infection. The objective of the study is to characterize the cytokinetic responses of 10 responders and 10 relapsing patients during ribavirin treatment. For this, we analyzed cytokine concentrations in peripheral blood by Luminex technique. Responders reported rates of IL-18 at one month of treatment higher than the relapsing patients and a decrease in IL-10 compared to the start of treatment. The relapsing patients reported a higher rate of IL-13 than the responders after one month of treatment and a higher rate of IL-6 three months after treatment compared to the beginning. All the results suggest an immune response of type Th1 in responders and type Th2 in relapsing patients. It will then be necessary to characterize the phenotypes and metabolic pathways of lymphocytes to be able to modulate them and promote healing under ribavirin.

---

**Mots-Clés : HEV, Ribavirine, Cytokines**

---

**Discipline administrative : BIOLOGIE MEDICALE**

---

Faculté de Médecine Rangueil – 133 route de Narbonne – 31062 TOULOUSE Cedex 04 - France