

COMMUNICATION

Qu'attendons-nous pour vacciner contre l'hépatite E ?

MOTS-CLÉS : HÉPATITE E. VIRUS DE L'HÉPATITE E. VACCINS

What are we waiting for to vaccinate against hepatitis E?

KEY-WORDS: HEPATITIS E. HEPATITIS E VIRUS. VACCINES

Yves BUISSON *

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

RÉSUMÉ

Le virus de l'hépatite E (VHE) est la première cause d'hépatite virale aiguë dans le monde. C'est un virus à ARN transmis par voie féco-orale qui ne comporte qu'un seul sérotype mais quatre géotypes. Les VHE de géotypes 1 et 2 sont humains et prédominent dans les pays en développement où ils causent d'importantes épidémies hydriques. Les VHE de géotypes 3 et 4 sont zoonotiques et transmis de façon sporadique dans les pays développés par des aliments contaminés. L'infection par le VHE provoque une hépatite spontanément résolutive en 3 à 6 semaines, mais elle peut évoluer vers une forme fulminante chez les nourrissons, les patients atteints de maladie chronique du foie, et surtout chez les femmes enceintes. Dans les pays développés, le géotype 3 est à l'origine d'hépatites chroniques sur terrain immunodéprimé ainsi que d'atteintes extra-hépatiques. L'infection par le VHE protège contre les réinfections mais cette immunité est incomplète et peu durable. De nombreuses tentatives ont été faites pour obtenir un vaccin capable de conférer ou de renforcer durablement l'immunité contre le VHE, utilisant des protéines recombinantes dérivées du gène de la capsid. Deux candidats vaccins ont été évalués avec succès dans les essais de phase III/III : le rHEV exprimé dans le baculovirus, qui n'a pas eu de développement commercial, et le HEV 239 exprimé dans E. coli, mis sur le marché en Chine en 2012 sous l'appellation Hecolin® pour une utilisation chez l'adulte. Mais ce premier vaccin contre l'hépatite E n'est pas encore homologué pour une utilisation dans les autres pays en raison du manque de données sur son efficacité, son immunogénicité et son innocuité dans les populations à risque

* Membre de l'Académie nationale de médecine

Tirés à part : Professeur Yves BUISSON, même adresse

Article reçu le 2 mai 2017, accepté le 15 mai 2017

ciblées par la vaccination. La réalisation d'essais cliniques complémentaires et l'évaluation du rapport coût-efficacité de schémas vaccinaux simplifiés contre l'hépatite E devraient lever les obstacles économiques qui retardent l'immunisation des personnes à haut risque, tant dans les pays en développement que dans les pays industrialisés.

SUMMARY

Hepatitis E virus (HEV) is the leading cause of acute viral hepatitis in the world. It is a RNA virus, enterically transmitted, with only one serotype but four genotypes. Genotypes 1 and 2 of HEV are human, predominant in developing countries where they cause large waterborne epidemics. Genotypes 3 and 4 are zoonotic agents sporadically transmitted by contaminated foods in developed countries. HEV infection causes acute hepatitis, self-limiting within 3 to 6 weeks, but may evolve to an acute hepatic failure in young children, patients with chronic liver disease, and especially in pregnant women. In developed countries, genotype 3 infection may lead to a chronic hepatitis in immunocompromised patients and to extra-hepatic conditions. HEV infection leaves a protection against reinfection, but this immunity is scanty and not lifelong. Numerous attempts have been made to obtain a vaccine eliciting or durably reinforcing this protective immunity, using recombinant proteins derived from the HEV capsid gene. Two candidate vaccines were successfully evaluated in Phase II / III trials: rHEV expressed in baculovirus, that has not been commercially developed, and HEV 239, expressed in E. coli, marketed in China in 2012 as Hecolin® for use in adults. However, this first hepatitis E vaccine is not yet registered for use in other countries due to lack of data on its efficacy, immunogenicity and safety in the populations at risk targeted by vaccination against HEV. Further clinical trials and cost-effectiveness evaluation of shorter vaccination schedules should remove the economic barriers to immunization of high-risk people in both developing and industrialized countries.

INTRODUCTION

L'hépatite E est la première cause d'hépatite virale aiguë dans le monde avec plus de 20 millions de cas et 70 000 décès par an [1]. Longtemps classée par exclusion dans le cadre indéterminé des hépatites non A, non B, son importance s'est révélée lorsque sa transmissibilité par voie féco-orale a été démontrée par Balayan en 1983, puis après que le virus de l'hépatite E (VHE) ait été cloné et séquencé par Reyes en 1990. Le développement de tests sérologiques a permis d'établir que près du tiers de la population mondiale avait été infecté par le VHE, ce qui montre que l'hépatite E n'est pas une maladie émergente mais une maladie de connaissance récente [2].

Le VHE est un virus à ARN, classé dans le genre Hepevirus dont le génome comporte 3 cadres de lecture ouverts (ORF1 ORF2, ORF3). Il n'existe qu'un seul sérotype du VHE mais on distingue quatre génotypes sur la base d'un taux de divergence des séquences nucléotidiques supérieur à 15 %. Les génotypes 1 et 2, humains, circulent sur un mode endémo-épidémique dans les pays en développement où l'hygiène fécale et la fourniture d'eau potable ne sont pas maîtrisées et sont à l'origine de grandes épidémies, surtout en Asie et en Afrique. Les génotypes 3 et 4, zoonotiques, sont transmis accidentellement par consommation d'aliments d'ori-

gine animale (porcins, cervidés), le génotype 3 prédominant dans le monde occidental industrialisé et le génotype 4 en Extrême-Orient [3]. Ainsi, la distribution géographique des génotypes du VHE permet-elle d'opposer deux profils épidémiocliniques distincts, l'hépatite E épidémique due aux génotypes 1 et 2, et l'hépatite E sporadique " autochtone " due aux génotypes 3 et 4 [4].

Au cours des épidémies hydriques, 25 à 50 % des infections sont cliniquement apparentes, les taux d'attaque les plus élevés s'observant chez les adultes jeunes entre 15 à 35 ans et dans le sexe masculin. L'hépatite aiguë guérit spontanément en 3 à 6 semaines, mais peut s'aggraver dans certains cas jusqu'à l'hépatite fulminante mortelle. Le taux de létalité global est compris entre 1 et 3 %. Il est plus élevé chez les nourrissons et chez les femmes enceintes, atteignant 10 à 30 % lorsque l'infection VHE survient au cours du troisième trimestre de la grossesse [5]. Les infections à VHE de génotypes 3 et 4 acquises dans les pays industrialisés sont généralement inapparentes ou pauci-symptomatiques chez l'enfant et l'adulte jeune, exposant au risque de transmission transfusionnelle [6]. Les cas cliniques s'observent plus souvent chez les hommes d'âge mûr et les personnes âgées, avec des présentations particulières : défaillance hépatique rapide chez les patients porteurs d'une atteinte hépatique préexistante, manifestations extra-hépatiques (neurologiques, pancréatiques, rénales, hématologiques) et formes d'évolution chronique survenant presque exclusivement sur terrain d'immunodépression (transplantation d'organe solide, chimiothérapie anticancéreuse, infection VIH) [7].

Dans les régions endémiques, la prévention des infections par le VHE repose surtout sur des mesures d'hygiène fécale et d'assainissement dont l'application est souvent difficile à mettre en œuvre dans les pays en développement, notamment dans les camps de réfugiés. Dans les pays développés, la prévention est limitée par l'importance et la diversité du réservoir animal [8]. Ces réserves soulignent la nécessité d'une prophylaxie vaccinale de l'hépatite E.

Réponse immunitaire contre le virus de l'hépatite E

Après une période d'incubation de 2 à 6 semaines, la réponse immunitaire à l'infection par le VHE se manifeste par une brève élévation des anticorps de classe IgM suivie par celle, plus durable, des anticorps de classe IgG. Les essais de transfert passif d'immunité chez le macaque ont démontré l'effet protecteur de ces anticorps contre la réinfection ou contre l'atteinte hépatique ; de plus, les animaux immunisés avec une protéine de capsidie recombinante du VHE étaient complètement protégés [9]. Lors des épidémies, il est apparu que les personnes antérieurement infectées par le VHE bénéficiaient d'une protection relative liée à la présence d'anticorps IgG anti-VHE. Mais à la différence de ce que l'on observe après infection par le virus de l'hépatite A, ces anticorps ne persistent pas toute la vie, leur titre diminuant plus ou moins rapidement dans les années qui suivent l'infection. Dans la littérature, les estimations sur la persistance des anticorps anti-VHE s'étendent de quelques semaines à plus de 14 ans, cette variabilité étant imputée à de nombreux facteurs :

la souche virale, l'état immunitaire de l'hôte, le mode d'exposition et sa fréquence, et surtout les performances inégales des techniques sérologiques utilisées [10]. En effet, la plupart des tests commercialisés ont été validés pour confirmer une infection récente avec des seuils s'échelonnant entre 0,25 et 2,5 unités OMS/ml et beaucoup d'entre eux sont incapables de détecter des concentrations d'anticorps résiduelles à distance de l'épisode infectieux, d'où une sous-estimation des taux de prévalence affectant la plupart des enquêtes séro-épidémiologiques. Bien que la concentration minimum d'anticorps pour prévenir l'infection VHE n'ait pas été formellement définie, il semble que le seuil de protection soit proche de 2,5 unités OMS/ml [5]. Une étude menée dans une province rurale de la Chine où le génotype 4 du VHE est endémique montre que plus de 97 % des infections sont asymptomatiques, qu'elles induisent une réponse anticorps faible ne conférant qu'une protection relative, de l'ordre de 75 %, à une minorité de la population, donc insuffisante pour empêcher la circulation du virus [11]. Au total, une immunité protectrice anti-VHE peut être induite par la vaccination en suscitant une réponse anticorps dirigée contre les épitopes de la protéine de capsidie communs aux quatre génotypes, à condition d'obtenir des titres plus élevés et plus durables que ceux observés après une infection naturelle [12].

Développement de vaccins contre l'hépatite E

À la surface du virion, la cible des anticorps neutralisants est une protéine de capsidie de 72 kilodaltons (kDa) codée par l'ORF2. Très immunogène, cette protéine a été utilisée comme antigène dans toutes les tentatives de développement d'un vaccin. Elle est composée de 660 acides aminés et comporte trois domaines structuraux. Un épitope de neutralisation de 150 acides aminés, localisé dans le domaine 3, semble impliqué dans la liaison du VHE à son récepteur cellulaire [13]. Le VHE étant très difficile à cultiver *in vitro*, le développement d'un vaccin entier, inactivé ou atténué, ne peut être envisagé. Les recherches se sont orientées vers la mise au point d'un vaccin recombinant en essayant différents systèmes cellulaires (bactéries, insectes, plantes, animaux) pour exprimer soit la totalité de la protéine de 72 kDa, soit des formes tronquées incluant l'épitope de neutralisation [14]. L'infection expérimentale chez le primate fournit un modèle fiable, reproductible et facilement disponible. L'inoculation de VHE au macaque rhésus, quel que soit le génotype, entraîne l'apparition d'une hépatite aiguë accompagnée des marqueurs biochimiques, sérologiques, histopathologiques et virologiques d'une infection par le VHE [15]. Ce modèle a permis de réaliser les essais précliniques pour évaluer l'immunogénicité et l'efficacité des vaccins expérimentaux [16].

De nombreuses approches ont été explorées : un antigène recombinant exprimé par des tomates transgéniques en vue d'une vaccination orale [17], un ADN plasmidique injectable contenant une séquence ORF2 complète [18], des particules pseudo-virales exprimées par baculovirus administrables *per os* [19], une protéine d'épitope recombinante encapsulée dans des liposomes [20], une protéine multiépitope capa-

ble d'induire des réponses spécifiques T helper de type 1 [21]. Parmi les nombreux candidats vaccins testés jusqu'à présent, seulement deux sont parvenus au stade des essais cliniques chez l'homme (tableau 1) :

TABLEAU 1. — Caractéristiques des deux vaccins contre l'hépatite E évalués par des essais cliniques

Vaccin recombinant	rHEV	HEV 239 — Hecolin®
Firme	GlaxoSmithKline	Xiamen Innovax Biotech
Nature	protéine tronquée p495 de 56 kDa (aa 112-607)	protéine recombinante p239 de 26 kDa (aa 368-606)
Origine	ORF2 d'une souche VHE Pakistan (génotype 1)	ORF2 d'une souche chinoise de VHE (génotype 1)
Système d'expression	Baculovirus	<i>Escherichia coli</i> (pseudo-particules virales)
Composition	20 µg d'antigène rHev + 0,5 mg d'hydroxyde d'aluminium dans 0,5 ml de tampon salin	30 µg d'antigène purifié + 0,8 mg d'hydroxyde d'aluminium dans 0,5 ml de tampon salin
Schéma vaccinal	3 doses : M0, M1, M6-12	3 doses : M0, M1, M6
Essais cliniques (phases II/III)	essai phase II contre placebo au Népal sur 2000 adultes de 18-45 ans ➤ suivi 2 ans → efficacité = 95,5 %	essai phase III randomisé sur 122.604 adultes de 16-65 ans ➤ suivi 13 mois → efficacité = 100 % ➤ suivi 54 mois → efficacité = 86,8 %
Commercialisation	pas de développement commercial	homologué en Chine en 2011, disponible depuis 2012

1. le vaccin rHEV développé aux États-Unis par le Walter Reed Army Institute of Research, puis par GlaxoSmithKline sous licence Genelabs, est une protéine ORF2 tronquée de 56 kDa provenant d'une souche pakistanaise de VHE génotype 1, exprimée en cellules d'insectes par un baculovirus recombinant. Son efficacité ayant été prouvée chez le singe cynomolgus [9], un essai de phase II randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo, a été réalisé au Népal chez de jeunes militaires en bonne santé, anti-VHE négatifs, âgés de 25 ans en moyenne. Au total, 1794 sujets ont reçu trois doses de 20 µg de vaccin (n=898) ou de placebo (n=896) à 0, 1 et 6 mois, et ont été suivis pendant une durée moyenne de 804 jours. La tolérance a été satisfaisante. Soixante-neuf cas d'hépatite E ont été observés, dont 66 dans le groupe placebo, soit un taux d'efficacité clinique de 95,5 % [22]. Pourtant, ce vaccin n'a pas fait l'objet d'un développement commercial en raison des incertitudes sur sa rentabilité future [13].
2. le vaccin recombinant HEV 239 développé par Xiamen Innovax Biotech (Xiamen, Chine) est une protéine ORF2 tronquée de 26 kDa provenant d'une souche chinoise de VHE génotype 1. Cette protéine est exprimée dans *Escherichia coli*, sous la forme d'homodimères aboutissant à des pseudo-particules virales de 23 nm de diamètre. Un essai de phase III à grande échelle, randomisé, en double

aveugle, contrôlé par placebo, a été réalisé dans l'est de la Chine chez des adultes en bonne santé des deux sexes, âgés de 16 à 65 ans. Au total, 112.604 sujets ont reçu trois injections intramusculaires de 30 µg d'antigène VHE purifié (n=56.302) ou de vaccin contre l'hépatite B en guise de placebo (n=56.302) à 0, 1 et 6 mois, et ont été suivis pendant 19 mois. La tolérance a été satisfaisante. Après 12 mois, 15 cas d'hépatite E ont été observés dans le groupe placebo et aucun dans le groupe vacciné, portant le taux d'efficacité clinique à 100 % [23]. Ce vaccin a été homologué par l'Administration chinoise des aliments et des médicaments en décembre 2011 et commercialisé en Chine sous le nom de Hecolin® depuis 2012. Son utilisation est recommandée chez les personnes à risque de plus de 16 ans, incluant les éleveurs, les manipulateurs de denrées alimentaires, les étudiants, les militaires, les femmes en âge de procréer et les voyageurs se rendant en zones d'endémie.

Performances et limites du vaccin Hecolin®

Premier vaccin contre l'hépatite E parvenu au stade de la commercialisation, le vaccin Hecolin® n'est actuellement pas homologué hors de Chine, un grand nombre de questions restant sans réponse, concernant son immunogénicité, son efficacité, la durée de protection qu'il confère et son innocuité.

L'immunogénicité a été démontrée uniquement chez des adultes en bonne santé après 2 ou 3 doses de vaccin, mais n'a pas été évaluée chez les enfants, les personnes âgées ou exposées à un risque accru de forme grave, notamment en cas d'immuno-dépression ou d'hépatopathie chronique sous-jacente. Seule, une étude rétrospective, effectuée sur un échantillon de 14.065 participants à l'essai de phase III, dont 5,9 % étaient porteurs chroniques de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), a montré que l'immunogénicité et la tolérance du vaccin Hecolin® étaient comparables chez les adultes porteurs ou non de l'Ag HBs [24].

L'efficacité, évaluée sur la réduction du risque d'infection symptomatique dans l'essai de phase III, a été démontrée pour le génotype 4 qui est prédominant en Chine, accessoirement pour le génotype 1 dont provient la protéine recombinante de 26 kDa, mais pas vis-à-vis des génotypes 2 et 3. Il semble toutefois que le vaccin offre une protection croisée pangénotypique. En effet, un anticorps monoclonal (8G12) qui peut se lier à un épitope présent dans les 4 génotypes s'avère capable de neutraliser l'infection *in vitro* [25].

La durée de protection post-vaccinale n'a pas encore été déterminée. Une prolongation du suivi jusqu'à 4,5 ans après l'essai de phase III a relevé 60 cas d'hépatite E, dont 7 dans le groupe vacciné et 53 dans le groupe témoin, permettant d'évaluer l'efficacité protectrice globale à 93,3 % en analyse selon le protocole [26]. Par modélisation mathématique, réalisée à partir d'une population de 1200 adultes vaccinés suivie pendant 5 ans, il semble que les anticorps IgG anti-VHE devraient persister au minimum 8 ans après la vaccination et peut-être toute la vie [27].

L'innocuité apparaît satisfaisante chez les adultes en bonne santé, les effets indésirables attribuables au vaccin Hecolin[®] relevés dans l'essai de phase III étant rares et modérés, mais on manque toujours de données sur la sécurité du vaccin chez les femmes enceintes, les enfants, les personnes âgées, les immunodéprimés, les patients ayant reçu une greffe d'organe ou porteurs d'une affection chronique du foie. Une analyse rétrospective des dossiers de cet essai clinique a identifié 68 femmes enceintes vaccinées par inadvertance, dont 37 par le HEV 239 et 31 contre l'hépatite B (groupe placebo). Les taux de réactions indésirables à l'un ou l'autre des deux vaccins étaient semblables à ceux des femmes non enceintes appariées, aucun événement grave n'ayant été signalé. Ces données suggèrent que le vaccin Hecolin[®] est sûr, aussi bien pour la mère que pour le fœtus [28]. Il reste encore à évaluer son innocuité et son immunogénicité lorsqu'il est administré de façon concomitante avec d'autres vaccins.

Bien qu'il soit actuellement le seul vaccin commercialisé contre l'hépatite E, ces nombreuses incertitudes retardent l'utilisation de Hecolin[®] au profit des populations à risque vivant en dehors de la Chine.

Perspectives vaccinales contre l'hépatite E

Lorsqu'un vaccin contre l'hépatite E sera universellement disponible, ses indications prioritaires et ses conditions d'emploi seront très différentes suivant le contexte épidémiologique. En effet, il est nécessaire de disposer de données de surveillance virologique dans chaque pays où circule le VHE afin d'élaborer une politique vaccinale adaptée. Or, les informations se limitent généralement aux données recueillies lors d'épidémies ou d'enquêtes de séroprévalence.

1. dans les pays en développement où la circulation du VHE est endémo-épidémique, la vaccination devra s'étendre à l'ensemble des personnes à risque, à commencer par les femmes enceintes et les femmes en âge de procréer, mais aussi aux enfants de moins de 2 ans et aux personnes âgées. À partir des données de surveillance recueillies de 2001 à 2007 dans les régions rurales du Bangladesh, l'hépatite E serait responsable de près de 10 % des décès liés à la grossesse. Si ces chiffres sont représentatifs de l'Asie du Sud, la vaccination contre l'hépatite E permettrait d'éviter jusqu'à 10.500 décès maternels chaque année dans cette région [29]. Un arbre décisionnel comparant trois stratégies (vaccination universelle — dépistage sérologique et vaccination des femmes séronégatives — pas de vaccination) chez les femmes enceintes en Chine a conclu que la vaccination après dépistage était la stratégie la plus coût-efficace dans les régions épidémiques [30]. Le coût étant l'un des principaux facteurs limitant l'utilisation d'un nouveau vaccin en campagnes de masse, il serait souhaitable d'évaluer l'efficacité de protocoles vaccinaux réduits à deux doses ou de schémas accélérés en contexte épidémique [26].
2. dans les pays industrialisés où l'hépatite E, importée ou autochtone, se manifeste sur un mode sporadique, la vaccination devra cibler en priorité les individus les

plus exposés tels que les voyageurs se rendant en région endémique et appelés à y séjourner, en particulier les militaires et les volontaires des missions humanitaires, mais aussi les personnes les plus à risque de développer une forme sévère ou chronique d'hépatite E, c'est-à-dire les personnes immunodéprimées, en attente de greffe et les patients atteints d'hépatopathie chronique. Mais une intégration dans le calendrier national des vaccinations ne peut être envisagée tant que l'immunogénicité, l'efficacité et l'innocuité du vaccin n'auront pas été évaluées dans chacune de ces populations, condition nécessaire pour obtenir une préqualification de l'OMS. De plus, son efficacité devra être confirmée vis-à-vis des souches de VHE du génotype 3 qui prédominent largement dans le monde développé.

La position de l'OMS a été définie par le Groupe stratégique consultatif d'experts sur la vaccination (SAGE). Après avoir appliqué la méthodologie GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*) pour évaluer de manière systématique la qualité des informations disponibles sur l'immunogénicité et l'efficacité du vaccin, le comité SAGE considère que les données disponibles sont encore insuffisantes pour recommander son introduction dans les programmes nationaux des pays affectés par l'hépatite E, notamment chez les personnes les plus exposées telles que les femmes enceintes, les enfants, les personnes atteintes d'hépatopathie chronique, les patients en attente de transplantation et les voyageurs [31]. Il recommande aussi d'évaluer l'immunogénicité et l'efficacité d'un schéma de vaccination accéléré qui pourrait être utilisé chez les personnes à très haut risque ou pour protéger une population exposée dans un contexte épidémique [32]. En particulier, les redoutables épidémies d'hépatite E qui affectent les camps de réfugiés constituent un risque mortel permanent pour les populations déplacées, surtout parmi les femmes enceintes, rendant souhaitable l'utilisation du vaccin sans attendre sa préqualification [33]. Au final, le choix de respecter ou non des recommandations de l'OMS incombe toujours aux États souverains, les autorités nationales pouvant décider de l'utilisation du vaccin en fonction de l'épidémiologie locale [34].

CONCLUSION

Qu'attendons-nous pour vacciner contre l'hépatite E ? La question se pose avec une légitime insistance en raison du fardeau considérable que représente l'hépatite E dans le monde, et surtout dans le tiers-monde où les populations les plus déshéritées, victimes de famines, de guerres, d'exodes et de regroupements dans des camps de réfugiés forment un terreau privilégié pour les épidémies.

Curieusement, les principaux obstacles à la mise à disposition d'un vaccin efficace n'ont pas concerné le développement préclinique du vaccin, les progrès du génie génétique et de la biotechnologie permettant de mettre au point des vaccins recombinants très immunogènes et l'existence d'un seul sérotype de VHE autorisant la conception d'un vaccin pangénotypique. En revanche, c'est un enjeu de rentabilité

qui s'est imposé au devenir des deux seuls candidats vaccins ayant atteint le stade des essais cliniques. Le vaccin américain rHEV, malgré les résultats prometteurs de l'essai de phase II réalisé au Népal, n'a pas bénéficié d'un développement commercial en raison de sa probable incapacité à générer des revenus suffisants. *A contrario*, le vaccin chinois HEV 239, ayant fait preuve de performances au moins équivalentes lors du vaste essai de phase III conduit en Chine, a été rapidement homologué dans ce pays où l'hépatite E est endémo-épidémique.

L'identification récente des risques autochtones liés au VHE de génotype 3 dans les pays industrialisés suscite un regain d'intérêt pour la prévention vaccinale et devrait inciter à conduire les essais cliniques nécessaires pour qualifier le vaccin existant ainsi que d'autres candidats vaccins en développement préclinique afin de promouvoir leur utilisation au Nord comme au Sud.

RÉFÉRENCES

- [1] Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology*. 2012;55(4):988.
- [2] Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E: an emerging awareness of an old disease. *J Hepatol*. 2008;48(3):494-503.
- [3] Pérez-Gracia MT, Suay B, Mateos-Lindemann ML. Hepatitis E: an emerging disease. *Infect Genet Evol*. 2014 Mar;22:40-59.
- [4] Hoofnagle JH, Nelson KE, Purcell RH. Hepatitis E. *N Engl J Med*. 2012; 367(13):1237-44.
- [5] Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):116-38.
- [6] Gallian P, Lhomme S, Piquet Y, Sauné K, Abravanel F, Assal A et al. Hepatitis E virus infections in blood donors, France. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20(11):1914-7.
- [7] Arends JE, Ghisetti V, Irving W, Dalton HR, Izopet J, Hoepelman AI et al. Hepatitis E: An emerging infection in high income countries. *J Clin Virol*. 2014;59(2):81-8.
- [8] Park WJ, Park BJ, Ahn HS, Lee JB, Park SY, Song CS et al. Hepatitis E virus as an emerging zoonotic pathogen. *J Vet Sci*. 2016;17(1):1-11.
- [9] Tsarev SA, Tsareva TS, Emerson SU, Govindarajan S, Shapiro M, Gerin JL et al. Successful passive and active immunization of cynomolgus monkeys against hepatitis E. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(21):10198-202.
- [10] Krain LJ, Nelson KE, Labrique AB. Host immune status and response to hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):139-65.
- [11] Huang SJ, Liu XH, Zhang J, Ng MH. Protective immunity against HEV. *Curr Opin Virol*. 2014;5:1-6.
- [12] Aggarwal R, Jameel S. Hepatitis E vaccine. *Hepatol Int*. 2008;2(3):308-15.
- [13] Haffar S, Bazerbachi F, Lake JR. Making the case for the development of a vaccination against hepatitis E virus. *Liver Int*. 2015;35(2):311-6.
- [14] Kamili S. Toward the development of a hepatitis E vaccine. *Virus Res*. 2011;161(1):93-100.
- [15] Krawczynski K, Meng XJ, Rybczynska J. Pathogenetic elements of hepatitis E and animal models of HEV infection. *Virus Res*. 2011;161(1):78-83.

- [16] Purcell RH, Nguyen H, Shapiro M, Engle RE, Govindarajan S, Blackwelder WC, Wong DC, Prieels JP, Emerson SU. Pre-clinical immunogenicity and efficacy trial of a recombinant hepatitis E vaccine. *Vaccine*. 2003;21(19-20):2607-15.
- [17] Ma Y, Lin SQ, Gao Y, Li M, Luo WX, Zhang J et al. Expression of ORF2 partial gene of hepatitis E virus in tomatoes and immunoactivity of expression products. *World J Gastroenterol*. 2003;9(10):2211-5.
- [18] Kamili S, Spelbring J, Carson D, Krawczynski K. Protective efficacy of hepatitis E virus DNA vaccine administered by gene gun in the cynomolgus macaque model of infection. *J Infect Dis*. 2004;189(2):258-64.
- [19] Li TC, Suzaki Y, Ami Y, Dhole TN, Miyamura T, Takeda N. Protection of cynomolgus monkeys against HEV infection by oral administration of recombinant hepatitis E virus-like particles. *Vaccine*. 2004;22(3-4):370-7.
- [20] Joshi SS, Arankalle VA. Enhanced humoral response in pregnant mice immunized with liposome encapsulated recombinant neutralizing epitope protein of Hepatitis- E virus. *Virol J*. 2015;12:70.
- [21] Taherkhani R, Farshadpour F, Makvandi M. Design and production of a multiepitope construct derived from hepatitis E virus capsid protein. *J Med Virol*. 2015; 87(7):1225-34.
- [22] Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP Jr, Thapa GB, Thapa N et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N Engl J Med*. 2007; 356(9):895-903.
- [23] Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9744):895-902.
- [24] Wu T, Huang SJ, Zhu FC, Zhang XF, Ai X, Yan Q et al. Immunogenicity and safety of hepatitis E vaccine in healthy hepatitis B surface antigen positive adults. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(11):2474-9.
- [25] Gu Y, Tang X, Zhang X, Song C, Zheng M, Wang K et al. Structural basis for the neutralization of hepatitis E virus by a cross-genotype antibody. *Cell Res*. 2015;25(5):604-20.
- [26] Zhang J, Shih JW, Xia NS. Long-term efficacy of a hepatitis E vaccine. *N Engl J Med*. 2015;372(23):2265-6.
- [27] Chen S, Zhou Z, Wei FX, Huang SJ, Tan Z, Fang Y et al. Modeling the long-term antibody response of a hepatitis E vaccine. *Vaccine*. 2015;33(33):4124-9.
- [28] Wu T, Zhu FC, Huang SJ, Zhang XF, Wang ZZ, Zhang J, Xia NS. Safety of the hepatitis E vaccine for pregnant women: a preliminary analysis. *Hepatology*. 2012;55(6):2038.
- [29] Labrique AB, Sikder SS, Krain LJ, West KP Jr, Christian P, Rashid M et al. Hepatitis E, a vaccine-preventable cause of maternal deaths. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(9):1401-4.
- [30] Zhao Y, Zhang X, Zhu F, Jin H, Wang B. A preliminary cost-effectiveness analysis of hepatitis E vaccination among pregnant women in epidemic regions. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(8):2003-9.
- [31] WHO. Hepatitis E vaccine: WHO position paper. May 2015. *Wkly Epidemiol Rec*. 2015;90(18):185-200.
- [32] Ogholikhan S, Schwarz KB. Hepatitis Vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2016; 4(1). pii: E6.
- [33] Ahmed JA, Moturi E, Spiegel P, Schilperoord M, Burton W, Kassim NH et al. Hepatitis E outbreak, Dadaab refugee camp, Kenya, 2012. *Emerg Infect Dis*. 2013;19(6):1010-2.
- [34] Harmanci H, Duclos P, Rodriguez Hernandez CA, Meek A, Balakrishnan MR, Kumar Arora N et al. World health organization approaches to evaluating the potential use and quality of hepatitis E vaccine. *Open Forum Infect Dis*. 2014;1(3):ofu099.