

COMMUNICATION

Réservoirs animaux du Virus de l'Hépatite E et transmissions zoonotiques

MOTS CLÉS : VIRUS DE L'HÉPATITE E. ZOONOSE. RÉSERVOIRS ANIMAUX. SUIDÉS. TRANSMISSIONS ALIMENTAIRES

Nicole PAVIO^{1, 2, 3}, Eugénie BAGDASSARIAN^{1, 2, 3}, Marie PELLERIN^{1, 2, 3}, Virginie DOCEUL^{1, 2, 3}

RÉSUMÉ

Le virus de l'hépatite E (VHE) est responsable d'hépatites entéro-transmissibles aiguës chez l'homme. L'infection est le plus souvent asymptomatique mais elle peut évoluer vers des formes chroniques ou sévères avec des insuffisances hépatiques majeures pouvant nécessiter une transplantation hépatique. Alors que dans les zones tropicales et subtropicales, les infections par le VHE sont associées à d'importantes épidémies causées par de l'eau contaminée, dans les pays du Nord, les infections à VHE autochtones sont sporadiques et ont une origine animale. Au cours des quinze dernières années, il est apparu que certains génotypes de VHE sont très répandus dans d'autres espèces animales comme les suidés. Les transmissions zoonotiques du virus peuvent se produire par contact direct avec les porcs infectés, les sangliers ou par la consommation de viande contaminée peu cuite. L'hépatite virale E peut donc être une zoonose alimentaire. Cette revue décrit les connaissances actuelles sur les réservoirs animaux du VHE ainsi que sur les différentes voies de transmissions zoonotiques du VHE identifiées à ce jour

Le virus de l'hépatite E (VHE) est un virus à ARN monocaténaire de polarité positive appartenant à la famille des *Hepeviridae*. Son génome a une longueur de 7,2 Kb et code pour 3 cadres de lecture ouverte (ORF). L'ORF1 code pour une polyprotéine ayant des motifs non-structuraux, l'ORF2 pour la capsidie et l'ORF3 pour une petite phosphoprotéine ayant à la fois des fonctions structurales et non structurales nécessaires à l'infectiosité du VHE *in vivo*.

1. ANSES, Animal Health Laboratory, UMR 1161 Virology, Maisons-Alfort, France

2. INRA, UMR 1161 Virology, Maisons-Alfort, France

3. PRES University Paris 12, National Veterinary School, UMR 1161 Virology, Maisons-Alfort, France

Tirés à part : Professeur Nicole PAVIO, ANSES Laboratoire de Santé Animale, UMR 1161 Virologie INRA, ANSES, ENVA ; 14 rue Pierre et Marie Curie ; 94701 Maisons-Alfort Cedex

Article reçu et accepté le 8 septembre 2017

I. — Classification des virus de l'hépatite E

Depuis la fin des années 1990, plusieurs agents apparentés au VHE ont été identifiés dans une grande variété d'espèces animales, allant de la truite fardée, aux poulet, furet, rat, chauve-souris, chameau, élan, renard, mangouste, sanglier, cerf ou lapin. Suite à l'identification de ces nombreuses souches une nouvelle classification de la famille *Hepeviridae* a été proposée. Cette famille est divisée en 2 grands genres: *Orthohepevirus* et *Piscihepevirus* [1]. La plupart des souches de VHE identifiées chez les aviaires et les mammifères appartiennent au genre *Orthohepevirus*, lui-même divisé en 4 espèces: Orthohepevirus A, B, C et D. Dans cette famille, les quatre génotypes majeurs (VHE-1 à -4) responsables d'hépatites aiguës chez l'homme appartiennent au genre *Orthohepevirus*, espèce Orthohepevirus A (Figure 1). Les génotypes 1 et 2 (VHE-1 et VHE-2) infectent uniquement l'homme et sont associés aux grandes épidémies d'origine hydrique dans les zones tropicales et subtropicales. Les génotypes 3 et 4 (VHE-3 et VHE-4) ont été identifiés chez l'homme, dans des cas autochtones sporadiques ou groupés, dans les pays industrialisés. Les génotypes VHE-3 et VHE-4 sont aussi présents chez plusieurs espèces animales comme les suidés, les cervidés ou les lagomorphes mais le porc domestique reste le réservoir majeur.

La première suspicion de la présence d'un virus apparenté au VHE dans une espèce animale a eu lieu au Népal en 1995 grâce à la détection de fragments d'ARN et d'anticorps anti-VHE chez des porcs domestiques [2]. Deux ans plus tard, une souche porcine a été entièrement amplifiée dans des élevages de porcs aux États-Unis [3]. Cette souche a ensuite été inoculée à d'autres porcs par voie intraveineuse afin de confirmer son infectiosité. Après une courte virémie, le virus était retrouvé fortement excrété dans les fécès en l'absence de signes histologiques d'hépatite ou de symptômes cliniques avant une séroconversion [4]. Depuis de nombreuses études ont démontré que 50 à 100 % des élevages mondiaux sont contaminés par des souches majoritairement de VHE-3 en Europe et de VHE-4 en Chine [5-7]. Les souches de VHE-3 et VHE-4 sont également capables d'infecter les sangliers qui représentent, avec les porcs domestiques, un réservoir majeur de souches de VHE zoonotiques [5]. Les souches VHE-3 ont également été détectées dans différentes espèces de cerfs et chez des mangoustes au Japon [8, 9]. Plus récemment, des souches de lapin, VHE-3ra, ont été identifiées chez des lapins d'élevage en Chine [10] et aux États-Unis [11], chez des lapins d'élevage et des lièvres en France [12] et chez des lapins de compagnie en Italie [13]. Dans l'espèce *Orthohepevirus A*, deux autres souches de VHE, classées comme les génotypes 5 et 6 (VHE-5 et VHE-6), ont été identifiées chez des sangliers uniquement au Japon [1, 14]. Plus récemment, un autre génotype, VHE-7 a été détecté dans des échantillons de matières fécales de chameaux en Arabie Saoudite [15]. Une autre souche de VHE a été caractérisée en Suède chez des élans, mais elle n'est toujours pas affectée à une espèce d'*Orthohepevirus* [16].

Orthohepevirus A

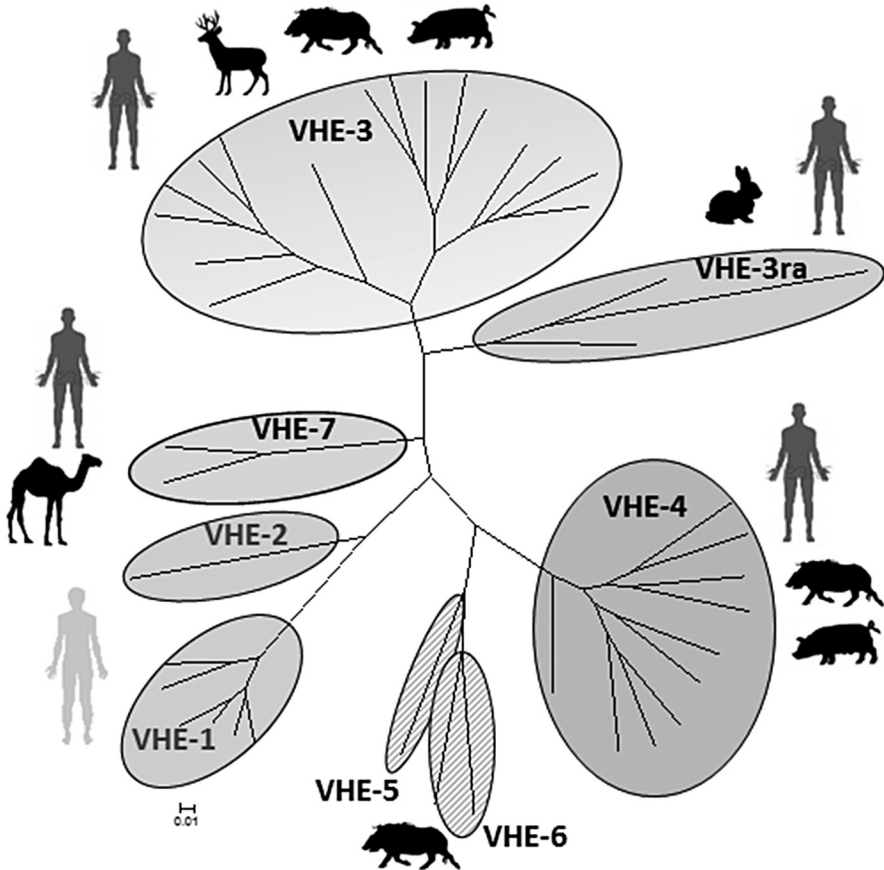


FIG. 1. — Arbre phylogénétique de l'espèce Orthohepevirus A. Des séquences de référence de longueur génomique ont été alignées pour chaque génotype et sous-type (94) en utilisant Muscle (Mega 7). L'arbre a été construit selon la méthode du plus proche voisin. Modifié d'après (27). Les génotypes de VHE zoonotiques sont entourés en bleu et les génotypes exclusivement humains en vert

D'autres espèces animales hébergent des souches apparentées au VHE mais elles sont génétiquement plus éloignées des souches VHE humaines et sont classées comme différentes espèces d'Orthohepevirus (B, C ou D). Le VHE aviaire (Ortho-

hepevirus B) a été décrit pour la première fois aux États-Unis et est associé une hépatosplénomégalie chez les poulets [17]. Dans l'espèce des Orthohepevirus C, sont regroupées des souches de VHE isolées chez le rat [18], avec un taux de séroprévalence allant de 13 à 90 % dans de nombreux pays [5]. D'autres variants de cette espèce de VHE ont été identifiées chez le furet aux Pays-Bas [19] et chez le vison au Danemark [20]. Enfin, des séquences partielles, détectées chez des renards, feraient partie de cette espèce [21]. Les souches de l'espèce d'Orthohepevirus D ont été identifiées dans différentes chauves-souris d'Amérique centrale, d'Afrique et d'Europe [22]. Très récemment, une nouvelle souche de VHE a été mise en évidence chez le Faucon Crécerelle en Europe, elle pourrait représenter une nouvelle espèce Orthohepevirus [23]. Enfin, la souche la plus éloignée des VHE infectant les mammifères et les aviaires a été découverte chez la truite fardée ; elle constitue le genre Piscihepevirus [24].

Des anticorps anti-VHE ont également été détectés dans différentes espèces animales, y compris les vaches, les chèvres, les moutons, les buffles, les chevaux de trait, les chats et les chiens [6]. Cela suggère que ces espèces animales ont été exposées au VHE ou à un agent étroitement apparenté. Cependant, aucun ARN du VHE n'a encore été officiellement identifié dans ces animaux [6]. La conception des outils moléculaires utilisés pour détecter l'ARN du VHE est basée sur des séquences connues et pourrait ne pas permettre de détecter des variants éloignés. Il est alors possible que d'autres souches animales de VHE existent.

Au cours des 20 dernières années, les nouveaux outils moléculaires comme la métagénomique ont permis de mettre en évidence la diversité des souches de VHE et des hôtes sensibles existants. Ces découvertes ont grandement contribué à une meilleure analyse phylogénétique des souches et à l'identification des souches à potentiel zoonotiques. Ainsi, les analyses moléculaires et phylogénétiques des séquences VHE-3 et VHE-4 d'origine humaine et porcine ont montré de fortes identités entre les deux populations et l'absence de regroupement par espèce [25]. Cela suggère que les VHE-3 et VHE-4 porcins ne nécessitent aucune adaptation pour infecter l'homme. Pour appuyer cette hypothèse, une étude a montré que la séquence consensus de VHE-3 reste identique au cours d'une transmission de l'homme au porc [26].

Parallèlement, des modèles animaux ont été développés et utilisés pour étudier le potentiel de transmission inter-espèces de ces souches.

II. — Transmissions inter-espèces du VHE

Certaines espèces animales, naturellement réservoirs du VHE, ont été utilisées comme modèles expérimentaux pour étudier la transmission interspécifique de différents génotypes de VHE [27]. Les résultats obtenus à partir de ces différentes études sont résumés dans la figure 2. Ils montrent que les VHE-1 et VHE-2 sont restreints à l'homme, alors que les VHE-3 et VHE-4 sont naturellement présents

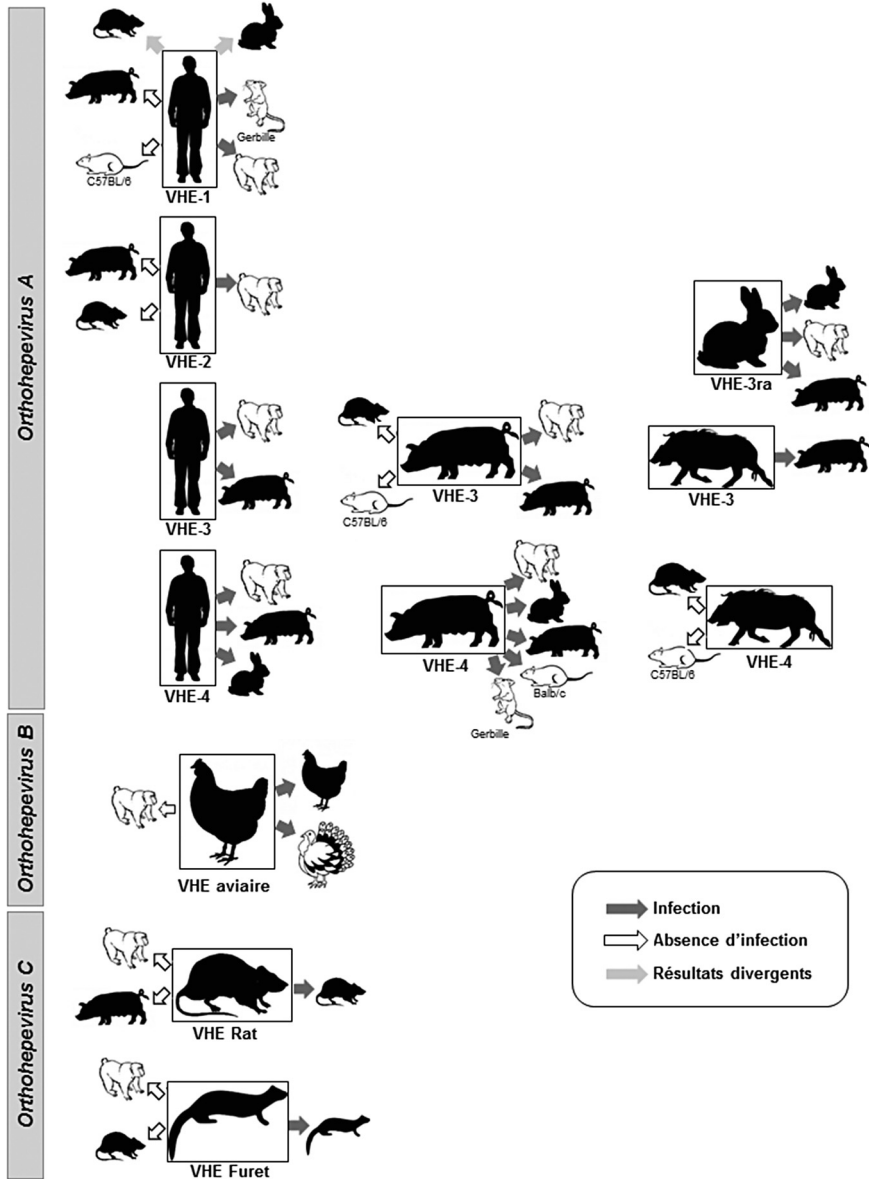


FIG. 2. — Transmissions inter-espèces expérimentales des Orthohepevirus A, B et C. Les animaux modèles utilisés sont représentés par des silhouettes évocatrices de l'espèce ou bien le nom est indiqué. Les transmissions possibles sont représentées par des flèches gris foncées, les résultats divergents par des flèches grises claires et l'absence de transmission par des flèches blanches. Modifié d'après (27)

dans plusieurs espèces animales et peuvent franchir la barrière d'espèces. Plusieurs études se sont intéressées à l'identification des déterminants limitant ce passage et il semblerait que la région génomique impliquée soit localisée dans l'ORF1 et concernerait des fonctions non-structurales [28-30].

En outre, la transmission zoonotique de VHE-3 et de VHE-4 de porcs, de sanglier ou de cerf à l'homme par la consommation de viande contaminée a été prouvée par des approches d'épidémiologie moléculaire avec 100 % d'identité entre les cas humains et les aliments (viandes) consommés [27].

Quelques souches aviaires, de rat ou de furet ont été inoculées chez des primates non-humains sans succès, suggérant que ces virus ne sont pas zoonotiques [27].

Quant au VHE présent chez le lapin, VHE-3ra, lorsqu'il est inoculé chez des macaques cynomolgus, il entraîne une infection avec excrétion du virus dans les fèces et une séroconversion. Ces résultats suggèrent une transmission possible du lapin à l'homme [31]. Cette hypothèse est renforcée par l'identification de plusieurs cas humains dont les souches de VHE étaient génétiquement similaires aux souches de lapin [32, 33].

D'autres études sont également nécessaires pour déterminer le risque de transmission zoonotique d'autres souches provenant des espèces d'Orthohepevirus A, telles que les VHE-5 et VHE-6 de sangliers. Par ailleurs, l'identification récente d'un cas humain associé à VHE-7 suggère fortement que ce génotype est transmissible du chameau à l'homme [34]. La contribution significative du VHE-7 aux cas d'hépatites E zoonotiques reste à préciser. Puisque les génotypes zoonotiques tels que VHE-3 et VHE-4 peuvent infecter plusieurs espèces animales, il est également important de déterminer expérimentalement si VHE-7 peut infecter d'autres espèces comme le lapin ou le porc. Cela permettrait de préciser si des réservoirs secondaires ou nouveaux de ce génotype zoonotique pourraient potentiellement exister ou apparaître par transmission directe à partir de chameaux ou via l'intervention humaine.

III. — Voies de transmissions zoonotiques du VHE.

Lors de la découverte du VHE chez le porc en 1997 [3], il n'y avait pas encore de lien établi entre les cas humains et les réservoirs animaux. La première preuve directe de transmission zoonotique du VHE à l'homme par la voie alimentaire a été fournie 6 ans plus tard, suite à la description de cas d'hépatite virale E chez des patients qui avaient consommé des sashimis de cerf Sika [35]. L'ARN du VHE a été retrouvé dans l'échantillon de viande de cerf consommée et sa séquence s'est avérée identique à celle des patients (326 nucléotides dans ORF1). Par la suite, 3 épisodes supplémentaires d'hépatite virale E ont fourni des preuves directes des transmissions alimentaires via la consommation de denrées contaminées. Dans ces études, des séquences de VHE identiques, ou presque, ont été détectées chez des patients souffrant d'hépatite E et dans les denrées consommées: viande de sanglier grillée au

Japon [36], viande de porc en Espagne [37] et ficatellu corse en France [38, 39]. Plusieurs autres rapports publiés au Japon, en France, en Espagne ou en Australie ont également relié des cas sporadiques et des cas groupés d'hépatite E avec la consommation de viande de porc ou de sanglier crue ou mal cuite (viande, foie, abats) [38, 40-45]. Ces données sont consolidées par des études de séroprévalence qui ont montré que la consommation de viande de porc, de sanglier ou de produits transformés est un facteur de risque d'exposition au VHE [46, 47]. Plusieurs études ont également souligné la présence du VHE le long de la chaîne de production porcine [48, 49]. Selon les pays, 3 à 11 % des échantillons de foie de porc prélevés à l'abattoir sont positifs pour le VHE : France (4 %) [50], Pays-Bas (6,5 %), République tchèque (5 %), Italie (6 %), Espagne (3 %), Royaume-Uni (3 %), Japon (5 %) [27] et États-Unis (11 %) [51]. L'ARN du VHE a également été détecté dans d'autres produits tels que des saucisses de porc distribuées au Royaume-Uni (10 %) [52] et en Espagne (6 %) [48], dans des ficatelli (30 %), des foies salés séchés (3 %), des quenelles et la pâte de quenelle alsaciennes (25 %) et autres saucisses de foie sèches ou fraîches (29 %) en France [53], dans les saucisses de foie crues ou sèches en Italie [54], dans des saucisses crues (20 %) et les saucisses de foie (22 %) en Allemagne [55] et dans des pâtés de porc et du boudin (36 %) au Brésil [56]. L'ARN du VHE a également été retrouvé dans des foies de sanglier (5,8 %), de cerf (3,2 %) ou de lapin (5 %) [27].

La détection d'ARN viraux ne présage pas nécessairement de la présence de particules virales infectieuses. Plusieurs études ont donc voulu démontrer que la détection de l'ARN du VHE dans des aliments était bien corrélée à la présence de virus infectieux. Ainsi des porcs inoculés (par voie intraveineuse) avec des homogénats de foies de porcs positifs pour l'ARN du VHE ont bien été infectés avec excrétion fécale du virus et séroconversion [51]. De plus, le VHE a été cultivé avec succès dans des lignées de cellules humaines à partir d'extrait de ficatellu [57] ou de foie cru de porc [58], confirmant que ces produits peuvent effectivement constituer une voie d'exposition à du virus infectieux.

De plus, récemment un cas d'infection chronique a été décrit au Moyen-Orient avec une souche de VHE-7, chez un patient qui consommait régulièrement de la viande et du lait de chameau [34]. Dans une étude française, il a été montré que sur 919 cas confirmés d'hépatite E aiguë, 5 étaient dues à une souche de lapin (VHE-3ra) [33]. Aucun facteur de risque n'était mentionné. Mais ainsi, d'autres réservoirs animaux que le porc et d'autres génotypes que les VHE-3 et VHE-4 pourraient être impliqués dans des transmissions par voie alimentaire. Dans la littérature, la description récente de la présence de VHE infectieux dans du lait de vache a soulevé beaucoup d'inquiétude dans l'industrie laitière [59]. Bien que cette étude unique n'ait pas été confirmée par d'autres équipes, il est important de clarifier ce point majeur.

D'autres catégories d'aliments peuvent être contaminées par le VHE et sont des véhicules possibles de transmission. Ainsi, l'ARN de VHE-3 ou -4 a été trouvé dans des moules [60, 61], des huîtres [62] ou des coquillages bivalves de rivière [63]. En outre, il a été montré une bioaccumulation du VHE dans des huîtres creuses en

conditions expérimentales. Le VHE est principalement concentré dans les tissus digestifs [64]. La consommation de coquillages a été associée à un cas d'infection sporadique (VHE-4) [65] et à une épidémie d'hépatite E sur un bateau de croisière (VHE-3) [66].

Par ailleurs, l'ARN du VHE a été trouvé dans des fraises cultivées en plein champs au Canada [67], dans des framboises congelées en Europe [68], dans des salades vertes en Europe [69], et dans des herbes aromatiques et épicées (0,9 %) [70], ce qui suggère que les fruits et les légumes peuvent également être un véhicule de contamination.

La présence de VHE dans les crustacés, les légumes et les fruits est probablement due à une contamination de la mer ou des eaux d'irrigation par des eaux usées. En effet, dans de nombreux pays, l'ARN du VHE a été détecté dans des eaux usées et effluents d'élevages [71-76]. Le traitement insuffisant des eaux usées, les ruissellements, les effluents d'élevages porcins ou l'utilisation d'engrais organiques pourrait conduire à la contamination des eaux de surface voisines. Cette hypothèse est soutenue par des études dans lesquelles l'ARN du VHE a été retrouvé dans les eaux de surface à proximité d'élevages porcins [77, 78], dans des coquillages collectés à proximité d'un abattoir de porcs [61], dans des rivières ou de l'eau de mer [79].

La prévention de l'hépatite E d'origine zoonotique repose principalement sur la consommation d'aliments à risque après cuisson. En effet, plusieurs études se sont intéressées à la stabilité thermique du VHE ou à sa résistance dans l'environnement. Ces études sont basées sur des modèles *in vivo* chez le porc [80, 81] ou *in vitro*, dans les quelques modèles permettant la multiplication du VHE [82, 83]. Elles ont permis de montrer que le VHE résiste à un traitement thermique de 56 à 60 ° C pendant 1h [82, 83], mais qu'une inactivation complète est obtenue lors d'un traitement de 20 minutes à 71 ° C [81]. Il est donc fortement conseillé de cuire à cœur les aliments contenant du foie cru de porc. D'autre part, des mesures d'hygiène appropriées, telles que le nettoyage fréquent des mains, des ustensiles et des surfaces doivent être suivies lors de la manipulation de viande crue. Une étude a montré la survie du VHE pendant 21 jours à 37° C, 28 jours à température ambiante et au moins jusqu'à 56 jours à 4° C [83].

En plus des voies de transmission d'origine alimentaire, des études de séroprévalence chez des professionnels en contact avec les espèces réservoirs ont suggéré que le contact direct avec les animaux ou leur viande est un facteur d'exposition. En effet, une séroprévalence plus élevée a été trouvée chez les vétérinaires d'élevages porcins [84-87], les personnels d'abattoirs ou des bouchers [88]. Dans un autre rapport, le contact fréquent avec un cochon de compagnie était la cause la plus probable d'une contamination autochtone [89].

Une séroprévalence VHE plus élevée est aussi enregistrée dans les populations en contact avec la faune sauvage comme les chasseurs, les forestiers [90, 91]. Il est intéressant de noter que des mesures de prévention simples telles que le port de bottes pour les éleveurs de porcs, ou celui de gants chez les chasseurs sont associés à

une réduction du risque d'exposition [87, 92]. Une autre enquête a également révélé une séroprévalence anti-VHE plus élevée chez du personnel en contact avec des produits de la mer crus [93].

CONCLUSION

L'identification récente de nouvelles souches de VHE dans diverses espèces animales a conduit à proposer une nouvelle classification des membres de la famille des *Hepeviridae*. Il est très probable que cette classification évoluera encore dans le futur avec l'identification d'autres souches. Les outils de diagnostic disponibles étant basés sur les souches de VHE connues, ils ne sont probablement pas adaptés à l'identification d'autres variants. L'utilisation plus large de la métagénomique et du séquençage haut débit contribuera à l'identification des nouveaux virus apparentés au virus de l'hépatite E. Depuis la découverte des souches de VHE-3 et VHE-4 chez le porc à la fin des années 1990, beaucoup d'études se sont concentrées sur ce réservoir important de transmissions zoonotiques. Cependant, il est possible que d'autres réservoirs animaux, tels que les camélidés ou les lagomorphes représentent un risque non négligeable, et par conséquent, d'autres études doivent être menées afin d'identifier toutes les sources possibles de contaminations. Concernant les véhicules d'exposition, la consommation de viande insuffisamment cuite ou le contact avec les animaux réservoirs sont maintenant mieux décrits, toutefois, le rôle joué par l'environnement reste à mieux caractériser. La présence possible du VHE dans l'eau, en régions non endémique, mérite d'être investiguée. Ces éléments sont essentiels pour prévenir et contrôler efficacement cette maladie.

RÉFÉRENCES

- [1] Smith DB, Simmonds P, International Committee on Taxonomy of Viruses Hepeviridae Study G, Jameel S, Emerson SU, Harrison TJ, et al. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J Gen Virol.* 2014 Oct ; 95(Pt 10):2223-32.
- [2] Clayson ET, Innis BL, Myint KS, Narupiti S, Vaughn DW, Giri S, et al. Detection of hepatitis E virus infections among domestic swine in the Kathmandu Valley of Nepal. *Am J Trop Med Hyg.* 1995 Sep;53(3):228-32.
- [3] Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Sep 02;94(18):9860-5.
- [4] Halbur PG, Kasornrorkbua C, Gilbert C, Guenette D, Potters MB, Purcell RH, et al. Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *J Clin Microbiol.* 2001 Mar;39(3):918-23.
- [5] Pavio N, Meng XJ, Doceul V. Zoonotic origin of hepatitis E. *Curr Opin Virol.* 2015 Feb;10:34-41.

- [6] Pavio N, Meng XJ, Renou C. Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Vet Res.* 2010 Nov-Dec;41(6):46.
- [7] Yugo DM, Meng XJ. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *Int J Environ Res Public Health.* 2013 Sep 25;10(10):4507-33.
- [8] Li TC, Saito M, Ogura G, Ishibashi O, Miyamura T, Takeda N. Serologic evidence for hepatitis E virus infection in mongoose. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 May;74(5):932-6.
- [9] Nidaira M, Takahashi K, Ogura G, Taira K, Okano S, Kudaka J, et al. Detection and phylogenetic analysis of hepatitis E viruses from mongooses in Okinawa, Japan. *J Vet Med Sci.* 2012 Dec;74(12):1665-8.
- [10] Zhao C, Ma Z, Harrison TJ, Feng R, Zhang C, Qiao Z, et al. A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China. *J Med Virol.* 2009 Aug;81(8):1371-9.
- [11] Cossaboom CM, Cordoba L, Dryman BA, Meng XJ. Hepatitis E virus in rabbits, Virginia, USA. *Emerg Infect Dis.* 2011 Nov;17(11):2047-9.
- [12] Lhomme S, Dubois M, Abravanel F, Top S, Bertagnoli S, Guerin JL, et al. Risk of zoonotic transmission of HEV from rabbits. *J Clin Virol.* 2013 Oct; 58(2):357-62.
- [13] Caruso C, Modesto P, Prato R, Scaglione FE, De Marco L, Bollo E, et al. Hepatitis E Virus: First Description in a Pet House Rabbit. A New Transmission Route for Human? *Transbound Emerg Dis.* 2015 Jun;62(3):229-32.
- [14] Takahashi M, Nishizawa T, Sato H, Sato Y, Jirintai, Nagashima S, et al. Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *J Gen Virol.* 2011 Apr;92(Pt 4):902-8.
- [15] Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tsang AK, Joseph M, Wong EY, et al. New hepatitis E virus genotype in camels, the Middle East. *Emerg Infect Dis.* 2014 Jun;20(6):1044-8.
- [16] Lin J, Karlsson M, Olofson AS, Belak S, Malmsten J, Dalin AM, et al. High prevalence of hepatitis e virus in Swedish moose—a phylogenetic characterization and comparison of the virus from different regions. *PLoS One.* 2015;10(4):e0122102.
- [17] Haqshenas G, Shivaprasad HL, Woolcock PR, Read DH, Meng XJ. Genetic identification and characterization of a novel virus related to human hepatitis E virus from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in the United States. *J Gen Virol.* 2001 Oct;82(Pt 10):2449-62.
- [18] Johne R, Plenge-Bonig A, Hess M, Ulrich RG, Reetz J, Schielke A. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. *J Gen Virol.* 2009 Nov 4.
- [19] Raj VS, Smits SL, Pas SD, Provacia LB, Moorman-Roest H, Osterhaus AD, et al. Novel hepatitis E virus in ferrets, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2012 Aug;18(8):1369-70.
- [20] Krog JS, Breum SO, Jensen TH, Larsen LE. Hepatitis E virus variant in farmed mink, Denmark. *Emerg Infect Dis.* 2013 Dec;19(12):2028-30.
- [21] Bodewes R, van der Giessen J, Haagmans BL, Osterhaus AD, Smits SL. Identification of multiple novel viruses, including a parvovirus and a hepevirus, in feces of red foxes. *J Virol.* 2013 Jul;87(13):7758-64.
- [22] Drexler JF, Seelen A, Corman VM, Fumie Tateno A, Cottontail V, Melim Zerbinati R, et al. Bats worldwide carry hepatitis E virus-related viruses that form a putative novel genus within the family Hepeviridae. *J Virol.* 2012 Sep;86(17):9134-47.
- [23] Reuter G, Boros A, Matics R, Kapusinszky B, Delwart E, Pankovics P. Divergent hepatitis E virus in birds of prey, common kestrel (*Falco tinnunculus*) and red-footed falcon (*F. vespertinus*), Hungary. *Infect Genet Evol.* 2016 Sep;43:343-6.
- [24] Batts W, Yun S, Hedrick R, Winton J. A novel member of the family Hepeviridae from cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii*). *Virus Res.* 2011 Jun;158(1-2):116-23.

- [25] Bouquet J, Tesse S, Lunazzi A, Eloit M, Rose N, Nicand E, et al. Close similarity between sequences of hepatitis E virus recovered from humans and swine, France, 2008-2009. *Emerg Infect Dis.* 2011 Nov;17(11):2018-25.
- [26] Bouquet J, Cheval J, Rogee S, Pavio N, Eloit M. Identical Consensus Sequence and Conserved Genomic Polymorphism of Hepatitis E Virus during Controlled Interspecies Transmission. *J Virol.* 2012 Mar 28.
- [27] Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses.* 2016 Oct 03;8(10).
- [28] Chatterjee SN, Devhare PB, Pingle SY, Paingankar MS, Arankalle VA, Lole KS. Hepatitis E virus (HEV)-1 harbouring HEV-4 non-structural protein (ORF1) replicates in transfected porcine kidney cells. *J Gen Virol.* 2016 Aug;97(8):1829-40.
- [29] Lara J, Purdy MA, Khudyakov YE. Genetic host specificity of hepatitis E virus. *Infect Genet Evol.* 2014 Jun;24:127-39.
- [30] Feagins AR, Cordoba L, Sanford BJ, Dryman BA, Huang YW, LeRoith T, et al. Intergenotypic chimeric hepatitis E viruses (HEVs) with the genotype 4 human HEV capsid gene in the backbone of genotype 3 swine HEV are infectious in pigs. *Virus Res.* 2011 Mar;156(1-2):141-6.
- [31] Liu P, Bu QN, Wang L, Han J, Du RJ, Lei YX, et al. Transmission of hepatitis E virus from rabbits to cynomolgus macaques. *Emerg Infect Dis.* 2013 Apr;19(4):559-65.
- [32] Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, Lhomme S, Marchandeau S, Boucher S, et al. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerg Infect Dis.* 2012 Aug;18(8):1274-81.
- [33] Abravanel F, Lhomme S, El Costa H, Schwartz B, Peron JM, Kamar N, et al. Rabbit Hepatitis E Virus Infections in Humans, France. *Emerg Infect Dis.* 2017 Jul;23(7):1191-3.
- [34] Lee GH, Tan BH, Teo EC, Lim SG, Dan YY, Wee A, et al. Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Liver Transplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk. *Gastroenterology.* 2016 Feb;150(2):355-7 e3.
- [35] Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet.* 2003 Aug 2;362(9381):371-3.
- [36] Li TC, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis.* 2005 Dec; 11(12):1958-60.
- [37] Riveiro-Barciela M, Minguez B, Girones R, Rodriguez-Frias F, Quer J, Buti M. Phylogenetic demonstration of hepatitis E infection transmitted by pork meat ingestion. *J Clin Gastroenterol.* 2015 Feb;49(2):165-8.
- [38] Colson P, Borentain P, Queyriaux B, Kaba M, Moal V, Gallian P, et al. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis.* 2010 Sep 15;202(6):825-34.
- [39] Renou C, Roque-Afonso AM, Pavio N. Foodborne transmission of hepatitis E virus from raw pork liver sausage, France. *Emerg Infect Dis.* 2014 Nov;20(11):1945-7.
- [40] Masuda J, Yano K, Tamada Y, Takii Y, Ito M, Omagari K, et al. Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. *Hepatol Res.* 2005 Mar;31(3):178-83.
- [41] Tamada Y, Yano K, Yatsuhashi H, Inoue O, Mawatari F, Ishibashi H. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J Hepatol.* 2004 May;40(5):869-70.
- [42] Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis.* 2003 Sep 15;188(6):944.
- [43] Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis.* 2008 Dec 15;198(12):1732-41.

- [44] Yapa CM, Furlong C, Rosewell A, Ward KA, Adamson S, Shadbolt C, et al. First reported outbreak of locally acquired hepatitis E virus infection in Australia. *Med J Aust.* 2016 Apr 18;204(7):274.
- [45] Guillois Y, Abravanel F, Miura T, Pavio N, Vaillant V, Lhomme S, et al. High Proportion of Asymptomatic Infections in an Outbreak of Hepatitis E Associated With a Spit-Roasted Piglet, France, 2013. *Clin Infect Dis.* 2016 Feb 01;62(3):351-7.
- [46] Mansuy JM, Gallian P, Dimeglio C, Saune K, Arnaud C, Pelletier B, et al. A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors. *Hepatology.* 2016 Apr;63(4):1145-54.
- [47] Said B, Ijaz S, Chand MA, Kafatos G, Tedder R, Morgan D. Hepatitis E virus in England and Wales: indigenous infection is associated with the consumption of processed pork products. *Epidemiol Infect.* 2014 Jul;142(7):1467-75.
- [48] Di Bartolo I, Diez-Valcarce M, Vasickova P, Kralik P, Hernandez M, Angeloni G, et al. Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain, 2010. *Emerg Infect Dis.* 2012 Aug;18(8):1282-9.
- [49] Berto A, Backer JA, Mesquita JR, Nascimento MS, Banks M, Martelli F, et al. Prevalence and transmission of hepatitis E virus in domestic swine populations in different European countries. *BMC Res Notes.* 2012 Apr 25; 5:190.
- [50] Rose N, Lunazzi A, Dorenlor V, Merbah T, Eono F, Eloit M, et al. High prevalence of Hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2011 Sep;34(5):419-27.
- [51] Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng X-J. Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *J Gen Virol.* 2007;88(3):912-7.
- [52] Berto A, Martelli F, Grierson S, Banks M. Hepatitis E virus in pork food chain, United Kingdom, 2009-2010. *Emerg Infect Dis.* 2012 Aug;18(8):1358-60.
- [53] Pavio N, Merbah T, Thebault A. Frequent hepatitis E virus contamination in food containing raw pork liver, France. *Emerg Infect Dis.* 2014 Nov;20(11):1925-7.
- [54] Di Bartolo I, Angeloni G, Ponterio E, Ostanello F, Ruggeri FM. Detection of hepatitis E virus in pork liver sausages. *Int J Food Microbiol.* 2015 Jan 16;193:29-33.
- [55] Szabo K, Trojnar E, Anheyer-Behmenburg H, Binder A, Schotte U, Ellerbroek L, et al. Detection of hepatitis E virus RNA in raw sausages and liver sausages from retail in Germany using an optimized method. *Int J Food Microbiol.* 2015 Dec 23;215:149-56.
- [56] Heldt FH, Staggmeier R, Gularte JS, Demoliner M, Henzel A, Spilki FR. Hepatitis E Virus in Surface Water, Sediments, and Pork Products Marketed in Southern Brazil. *Food Environ Virol.* 2016 Sep;8(3):200-5.
- [57] Berto A, Grierson S, Hakze-van der Honing R, Martelli F, Johne R, Reetz J, et al. Hepatitis E virus in pork liver sausage, France. *Emerg Infect Dis.* 2013 Feb;19(2):264-6.
- [58] Takahashi H, Tanaka T, Jirintai S, Nagashima S, Takahashi M, Nishizawa T, et al. A549 and PLC/PRF/5 cells can support the efficient propagation of swine and wild boar hepatitis E virus (HEV) strains: demonstration of HEV infectivity of porcine liver sold as food. *Arch Virol.* 2012 Feb;157(2):235-46.
- [59] Huang F, Li Y, Yu W, Jing S, Wang J, Long F, et al. Excretion of infectious hepatitis E virus into milk in cows imposes high risks of zoonosis. *Hepatology.* 2016 Aug;64(2):350-9.
- [60] Mesquita JR, Oliveira D, Rivadulla E, Abreu-Silva J, Varela MF, Romalde JL, et al. Hepatitis E virus genotype 3 in mussels (*Mytilus galloprovincialis*), Spain. *Food Microbiol.* 2016 Sep;58:13-5.
- [61] Crossan C, Baker PJ, Craft J, Takeuchi Y, Dalton HR, Scobie L. Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom. *Emerg Infect Dis.* 2012 Dec; 18(12):2085-7.

- [62] Gao S, Li D, Zha E, Zhou T, Wang S, Yue X. Surveillance of hepatitis E virus contamination in shellfish in China. *Int J Environ Res Public Health*. 2015 Feb 11;12(2):2026-36.
- [63] Li TC, Miyamura T, Takeda N. Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Jan;76(1):170-2.
- [64] Grodzki M, Schaeffer J, Piquet JC, Le Saux JC, Cheve J, Ollivier J, et al. Bioaccumulation efficiency, tissue distribution, and environmental occurrence of hepatitis E virus in bivalve shellfish from France. *Appl Environ Microbiol*. 2014 Jul;80(14):4269-76.
- [65] Koizumi Y, Isoda N, Sato Y, Iwaki T, Ono K, Ido K, et al. Infection of a Japanese patient by genotype 4 hepatitis e virus while traveling in Vietnam. *J Clin Microbiol*. 2004 Aug;42(8):3883-5.
- [66] Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A, et al. Hepatitis E Outbreak on Cruise Ship. *Emerg Infect Dis*. 2009;serial on the Internet.
- [67] Brassard J, Gagne MJ, Genereux M, Cote C. Detection of human food-borne and zoonotic viruses on irrigated, field-grown strawberries. *Appl Environ Microbiol*. 2012 May;78(10):3763-6.
- [68] Maunula L, Kaupke A, Vasickova P, Soderberg K, Kozyra I, Lazic S, et al. Tracing enteric viruses in the European berry fruit supply chain. *Int J Food Microbiol*. 2013 Oct 15;167(2):177-85.
- [69] Kokkinos P, Kozyra I, Lazic S, Bouwknegt M, Rutjes S, Willems K, et al. Harmonised investigation of the occurrence of human enteric viruses in the leafy green vegetable supply chain in three European countries. *Food Environ Virol*. 2012 Dec;4(4):179-91.
- [70] Loisy-Hamon F, Leturnier G. Autochthonous cases of hepatitis E: Where does the virus come from? Impact of pig slurry treatment on reduction of the viral load and prevalence of the virus in food substrates. *EuroReference*. 2015; 13:13-8.
- [71] McCreary C, Martelli F, Grierson S, Ostanello F, Nevel A, Banks M. Excretion of hepatitis E virus by pigs of different ages and its presence in slurry stores in the United Kingdom. *Vet Rec*. 2008 Aug 30;163(9):261-5.
- [72] Pina S, Buti M, Cotrina M, Piella J, Girones R. HEV identified in serum from humans with acute hepatitis and in sewage of animal origin in Spain. *J Hepatol*. 2000 Nov;33(5):826-33.
- [73] Fernandez-Barredo S, Galiana C, Garcia A, Vega S, Gomez MT, Perez-Gracia MT. Detection of hepatitis E virus shedding in feces of pigs at different stages of production using reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest*. 2006 Sep;18(5):462-5.
- [74] Kasorndorkbua C, Opriessnig T, Huang FF, Guenette DK, Thomas PJ, Meng XJ, et al. Infectious swine hepatitis E virus is present in pig manure storage facilities on United States farms, but evidence of water contamination is lacking. *Appl Environ Microbiol*. 2005 Dec;71(12):7831-7.
- [75] Steyer A, Naglic T, Mocičnik T, Poljsak-Prijatelj M, Poljak M. Hepatitis E virus in domestic pigs and surface waters in Slovenia: prevalence and molecular characterization of a novel genotype 3 lineage. *Infect Genet Evol*. 2011 Oct; 11(7):1732-7.
- [76] Gentry-Shields J, Myers K, Pisanic N, Heaney C, Stewart J. Hepatitis E virus and coliphages in waters proximal to swine concentrated animal feeding operations. *Sci Total Environ*. 2015 Feb 01;505:487-93.
- [77] Rutjes SA, Lodder WJ, Lodder-Verschoor F, van den Berg HH, Vennema H, Duizer E, et al. Sources of hepatitis E virus genotype 3 in The Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2009 Mar ; 15(3):381-7.
- [78] Ishida S, Yoshizumi S, Ikeda T, Miyoshi M, Goto A, Matsubayashi K, et al. Detection and molecular characterization of hepatitis E virus in clinical, environmental and putative animal sources. *Arch Virol*. 2012 Dec;157(12):2363-8.

- [79] Iaconelli M, Purpari G, Della Libera S, Petricca S, Guercio A, Ciccaglione AR, et al. Hepatitis A and E Viruses in Wastewaters, in River Waters, and in Bivalve Molluscs in Italy. *Food Environ Virol.* 2015 Dec;7(4):316-24.
- [80] Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol.* 2008 Mar 31;123(1-2):32-7.
- [81] Barnaud E, Rogee S, Garry P, Rose N, Pavio N. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Appl Environ Microbiol.* 2012 Aug ; 78(15):5153-9.
- [82] Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH. Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infect Dis.* 2005 Sep 1;192(5):930-3.
- [83] Johne R, Trojnar E, Filter M, Hofmann J. Thermal Stability of Hepatitis E Virus as Estimated by a Cell Culture Method. *Appl Environ Microbiol.* 2016 Jul 15;82(14):4225-31.
- [84] Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F, Guenette DK, Toth TE, Engle RE, 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 Jan;40(1):117-22.
- [85] Olsen B, Axelsson-Olsson D, Thelin A, Weiland O. Unexpected high prevalence of IgG-antibodies to hepatitis E virus in Swedish pig farmers and controls. *Scand J Infect Dis.* 2006 ; 38(1):55-8.
- [86] Drobeniuc J, Favorov MO, Shapiro CN, Bell BP, Mast EE, Dadu A, et al. Hepatitis E virus antibody prevalence among persons who work with swine. *J Infect Dis.* 2001 Dec 15 ; 184(12):1594-7.
- [87] Chaussade H, Rigaud E, Allix A, Carpentier A, Touze A, Delzescaux D, et al. Hepatitis E virus seroprevalence and risk factors for individuals in working contact with animals. *J Clin Virol.* 2013 Nov;58(3):504-8.
- [88] Traore KA, Ouoba JB, Huot N, Rogee S, Dumarest M, Traore AS, et al. Hepatitis E Virus Exposure is Increased in Pork Butchers from Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg.* 2015 Dec ; 93(6):1356-9.
- [89] Renou C, Cadranel JF, Bourliere M, Halfon P, Ouzan D, Rifflet H, et al. Possible zoonotic transmission of hepatitis E from pet pig to its owner. *Emerg Infect Dis.* 2007 Jul;13(7):1094-6.
- [90] Carpentier A, Chaussade H, Rigaud E, Rodriguez J, Berthault C, Boue F, et al. High hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France. *J Clin Microbiol.* 2012 Sep;50(9):2888-93.
- [91] Dremsek P, Wenzel JJ, Johne R, Ziller M, Hofmann J, Groschup MH, et al. Seroprevalence study in forestry workers from eastern Germany using novel genotype 3- and rat hepatitis E virus-specific immunoglobulin G ELISAs. *Med Microbiol Immunol.* 2012 May;201(2):189-200.
- [92] Schielke A, Ibrahim V, Czogiel I, Faber M, Schrader C, Dremsek P, et al. Hepatitis E virus antibody prevalence in hunters from a district in Central Germany, 2013: a cross-sectional study providing evidence for the benefit of protective gloves during disembowelling of wild boars. *BMC Infect Dis.* 2015 Oct 22;15:440.
- [93] Cui W, Sun Y, Xu A, Gao R, Gong L, Zhang L, et al. Hepatitis E seroprevalence and related risk factors among seafood processing workers: a cross-sectional survey in Shandong Province, China. *Int J Infect Dis.* 2016 Aug;49:62-6.
- [94] Smith DB, Simmonds P, Izopet J, Oliveira-Filho EF, Ulrich RG, Johne R, et al. Proposed reference sequences for Hepatitis E virus subtypes. *J Gen Virol.* 2016 Jan 7.