

Maisons-Alfort, le 17 février 2013

Le directeur général

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à la « Demande d'évaluation du risque lié à la contamination des produits de charcuterie à base de foie cru par le virus de l'hépatite E (VHE) »

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire des aliments (Anses) a été saisie le 16 janvier 2012 par la DGAL d'une demande d'évaluation du risque lié à la contamination des produits de charcuterie à base de foie cru par le virus de l'hépatite E (VHE).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

A. Eléments de contexte et questions précisés dans la saisine de la DGAL

La DGAL a demandé à l'Anses d'examiner les questions suivantes, relatives à la sélection des matières premières pour la fabrication des produits à base de foie cru, aux tests de diagnostic d'une mēlée de foie vis-à-vis de l'hépatite E, et de la cinétique du virus dans les produits finis.

1. Existe-t-il un âge maximal d'abattage au-delà duquel la probabilité de contamination des foies, et donc le risque pour le consommateur, peut être considéré comme négligeable à faible, en particulier pour des produits consommés crus ?
2. Quel serait l'âge minimal d'abattage requis pour permettre de réduire à un niveau acceptable les possibilités de présence du VHE dans le foie des porcs ?
3. Sur quels critères pourrait-on mettre en place une qualification des élevages vis-à-vis du VHE ?
4. En matière de diagnostic et suite aux analyses menées dans le cadre du plan de surveillance 2011, quelle est l'échéance pour disposer de tests diagnostic utilisables en routine dans le cadre des autocontrôles, à un coût abordable pour permettre de déterminer le statut d'une mēlée de foies vis-à-vis du VHE ?
5. Quels seraient les travaux complémentaires à mener pour voir la mise à disposition d'un tel test ?

6. Concernant la présence du VHE dans les produits finis, y aurait-il une possibilité pour qu'un délai entre la fabrication proprement dite et la mise sur le marché puisse aboutir à une réduction suffisante du risque VHE à un niveau acceptable, compte tenu de la DLC ? ».

L'Anses est très active sur cette thématique émergente d'évaluation du risque de transmission à l'homme du virus de l'hépatite E *via* l'alimentation depuis plusieurs années. En effet, elle a publié de nombreux avis d'évaluation et elle participe par ailleurs à plusieurs projets nationaux d'études et de recherches afin de combler les connaissances indispensables à l'évaluation du risque lié à ce virus (cf. annexe 1).

B. Limites du champ de l'expertise :

Une reformulation des questions identifiées s'est avérée nécessaire, et certains points ne relevant pas des compétences de l'Anses ont été exclus du champ de l'expertise de l'Anses (niveau acceptable de réduction des possibilités de présence du VHE dans le foie des porcs, coût acceptable pour permettre de déterminer le statut d'une mêlée de foies vis-à-vis du VHE, niveau acceptable du risque VHE).

Suite à leur reformulation, les questions suivantes sont instruites par l'Agence :

- de quelles données disposons-nous sur le lien entre l'âge d'abattage des animaux et la présence du virus VHE dans le foie?
- concernant les méthodes d'analyse :
 - o point sur les méthodes disponibles et travaux de développement en cours,
 - o point sur les conditions nécessaires et difficultés éventuelles pour une utilisation en routine dans le cadre d'autocontrôles,
 - o échéances envisageables pour disposer de tests utilisables en routine (identification de travaux complémentaires nécessaires à mener le cas échéant).
- du point de vue de l'impact sur la santé du consommateur, quelle est la pertinence d'une qualification des élevages indemnes de VHE : le cas échéant, identification de critères sur lesquels elle pourrait être mise en place (identification des différentes possibilités et de leurs limites) ?
- quel est l'impact des procédés de transformation des produits d'origine porcine sur le devenir du VHE ?

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise initiale a été réalisée par un groupe d'experts rapporteurs issus des comités d'experts spécialisés (CES) « Biorisk » (pilote), « Santé animale », et d'experts issus des laboratoires de l'Anses.

Le CES « Santé animale » est sollicité sur les aspects relevant de son champ de compétence, notamment ici sur les chapitres : « Aspects qualitatifs et quantitatifs de la transmission du VHE en élevage de porcs », « Relation entre l'âge à l'abattage et la contamination du foie des porcs par le VHE », « Méthodes de diagnostic chez l'animal » dans « Méthodes d'analyse du VHE », « Mise en œuvre d'une qualification des élevages vis-à-vis du VHE » et enfin la « Synthèse des possibilités de gestion du risque lié à VHE dans les produits à base de foie de porc cru : de l'élevage à la consommation ».

Une audition des organisations professionnelles FICT (Fédération française des industriels charcutiers traiteurs) et INAPORC (Interprofession nationale porcine) a permis d'apporter des éléments de réponse supplémentaires sur les aspects zootechniques et économiques de la filière porcine et des produits de charcuterie à base de foie de porc cru.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES

A. Epidémiologie humaine de l'hépatite E en France : connaissances actuelles

En France, des cas d'hépatite E autochtones ont été décrits dès 1996 dans plusieurs régions (Bohme, Hadjadj *et al.* 1998; Corne, Yeche *et al.* 1997; Coton, Delpy *et al.* 2005; De Ledinghen, Mannant *et al.* 1996; Dupuy, Mayaudon *et al.* 1998). Depuis le début des années 2000, plusieurs facteurs ont contribué à la connaissance de l'épidémiologie de cette maladie en France en termes d'incidence, de prévalence, de facteurs de risque et de génotypes circulants : la création d'un centre national de référence (CNR) en 2002 et l'investigation de plusieurs épisodes de cas humains groupés.

1. Données relatives aux cas d'hépatite E autochtones déclarés en France

a) Rappel de l'historique

En 2006, un article a décrit pour la première fois en France le suivi pendant 13 mois d'une cohorte de 23 patients atteints d'hépatite E aiguë autochtone originaires du Sud Ouest (Peron, Mansuy *et al.* 2006). Ces patients étaient plutôt des hommes et âgés en moyenne de 54 ans. Toutes les souches séquencées étaient de génotype 3.

En 2007, l'observatoire national des cas d'hépatite E aiguë mis en place par l'Association Nationale des Hépatogastroentérologues des Hôpitaux Généraux (ANGH) a recensé 53 cas (10 cas antérieurs à 2005, 14 cas en 2005, 24 cas en 2006, 5 en 2007). Parmi ces 53 cas, 90% étaient autochtones. Les patients touchés étaient pour 68% de sexe masculin, d'âge moyen 56 ans ; 85% résidaient dans la moitié sud de la France. Les souches isolées chez les 14 patients virémiques étaient de génotype 3f. Les principales sources potentielles de contamination suspectées étaient l'eau (arrosage du potager par de l'eau de rivière ou par forage privé, consommation d'eau d'un forage privé ou de fontaine) et la consommation de coquillages (Renou, Moreau *et al.* 2008). L'article ne précise pas si les produits à base de foie de porc cru ont été pris en considération dans cette étude.

Le Centre National de Référence (CNR) des hépatites à transmission entérique (hépatites A et E), créé en avril 2002 reçoit des échantillons pour confirmer le diagnostic ou pour typage. Entre 2002 et 2011, le nombre de patients pour lesquels des échantillons (sérum, selles) ont été adressés au CNR VHE en vue d'un diagnostic d'hépatite E, a augmenté et plus que quintuplé entre 2006 et 2011 (Tableau 1)¹. Le nombre de cas autochtones diagnostiqués a augmenté de 9 en 2002 à 249 en 2011 (Tableau 1). Les cas ont été diagnostiqués dans toutes les régions métropolitaines mais majoritairement dans le sud. Plus de la moitié des cas autochtones provenait des régions Midi-Pyrénées, Languedoc-Roussillon ou PACA (Nicand, Bigaillon *et al.* 2009; Nicand, Enouf *et al.* 2005). L'augmentation du nombre de cas autochtones diagnostiqués pourrait être due à une augmentation réelle du nombre de cas mais aussi au recours plus fréquent au diagnostic d'hépatite E qui est évoqué de plus en plus souvent par les cliniciens, ce dont témoigne l'augmentation du nombre d'échantillons reçus au CNR sans augmentation de la proportion de cas certains ou probables diagnostiqués parmi les cas testés (Tableau 1).

¹ www.cnr.vha-vhe.aphp.fr

Tableau 1 : Nombre de cas d'hépatite E diagnostiqués par le CNR VHE, France, 2002-2011.
Sources : rapports CNR virus hépatites à transmission entérique (A et E)

Années	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Nombre de patients testés	209	155	233	327	583	1 012	1 700	2 150	2 549	3 429
Nombre de cas certains ou probables										
Total	13	14	20	39	38	107	180	206	232	266
Importés	4	11	4	19	14	10	21	23	16	17
Autochtones	9	3	16	20	24	97	159	183	216	249
% cas positifs parmi les testés	6,2	9,0	8,5	11,9	6,5	10,5	10,5	9,6	9,1	7,6

**séjour en zone d'endémie dans les 3 mois avant le début de la maladie*

En 2008 et 2009, parmi les patients atteints d'hépatite E autochtone documentés par le CNR, 10 cas ont rapporté, dans les 2 à 10 semaines avant la date de début des signes, une consommation de charcuterie corse, de saucisses de foie ou de figatelli ; 4 cas avaient consommé en Corse des saucisses de foie de porc (2 cas), des figatelli (1 cas) et des charcuteries locales (1 cas). Parmi les 6 autres cas, sans notion de séjour en Corse, 5 avaient consommé des figatelli et 1 de la charcuterie corse.

En 2010, l'Institut de veille sanitaire (InVS) et le CNR ont conduit une étude descriptive prospective des cas autochtones d'hépatite E aiguë diagnostiqués entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2010 par le CNR. Au total, 139 cas autochtones ont été inclus. Cette étude a confirmé la disparité régionale avec 65% des cas résidant dans les régions sud-est et sud-ouest de la France². Huit patients ont signalé avoir eu un syndrome de Parsonage-Turner (SPT) (amyotrophie névralgique) ou des douleurs intenses et invalidantes dans une ou deux épaules au début de leur maladie pouvant évoquer ce syndrome. Tous les cas ont rapporté la consommation de produits à base de porc. Plus du tiers (39%) des cas avait consommé des produits à base de foie de porc cru (figatelli, saucisses de foie de Toulouse). Les seules différences régionales significatives (sud-est, sud-ouest, nord) retrouvées étaient qu'une proportion plus élevée de cas résidant dans la région sud-est consommait des produits à base de foie de porc cru (52%) et qu'une proportion plus élevée de cas résidant dans le sud-ouest vivait dans un environnement rural (76%) et avait un jardin (67%). Aucun épisode de cas groupés n'a été détecté au cours de l'année d'étude. (E Couturier communication personnelle).

Une étude cas/témoins prospective conduite de 2004 à 2009 portant sur 34 cas d'hépatite E et 148 témoins transplantés résidant dans le sud-ouest de la France a retrouvé la consommation de gibier comme seul facteur de risque indépendamment associé à une infection VHE autochtone (68% vs 47% ; OR = 2,32 ; IC à 95% 1,04-5,15) (Legrand-Abbravanel, Kamar *et al.* 2010).

b) Données récentes

Comme dans les autres pays industrialisés, le génotype des cas autochtones en France est le génotype 3 avec la prédominance d'un cluster de sous-génotype 3f (Peron, Mansuy *et al.* 2006; Renou, Moreau *et al.* 2008). Une étude française publiée récemment comparant les séquences virales VHE chez des cas autochtones d'hépatite E et dans un échantillon représentatif de foies de porc collectés dans des abattoirs a montré une même proportion de sous-types dans les populations humaine et porcine (3f, 74% ; 3c, 13% ; 3e, 5%) et plus de 99% d'homologie entre les séquences

² Les cas étaient majoritairement des hommes (74%) ; l'âge moyen était de 54 ans. Le génotype disponible pour 122 cas était 3f pour 91 cas (74%), 3c pour 17 cas (14%), 3e pour 7 cas (6%), 3a pour 2 cas (2%), 3b pour 1 cas (1%), non déterminé pour 4 cas. Plus de la moitié des cas (59%) avait une co-morbidité préexistante dont 12% de transplantés rénaux et 19% avec une pathologie nécessitant un traitement immunosuppresseur.

virales d'origines humaine et animale (Bouquet, Tesse *et al.* 2011). Deux articles publiés en 2012 décrivent pour la première fois la présence de génotype 4 chez 3 cas autochtones (Bouquet, Tesse *et al.* 2011; Colson, Borentain *et al.* 2007; Tesse, Lioure *et al.* 2012).

Du point de vue clinique, des cas sévères d'hépatite E fulminante autochtone ont été décrits dans plusieurs études (Dupuy, Mayaudon *et al.* 1998; Mennecier, Nicand *et al.* 2000; Peron, Bureau *et al.* 2007). Depuis 2009, quelques publications documentent l'association VHE et troubles neurologiques en particulier syndrome de Parsonage-Turner ou amyotrophie névralgique. En 2011, dans une étude franco-anglaise, parmi 126 patients atteints d'hépatite E aiguë ou chronique de génotype 3, sept ont présenté des troubles neurologiques dont un avait un diagnostic d'amyotrophie névralgique des deux épaules (Kamar, Bendall *et al.* 2011). Des cas d'hépatite E transfusionnelle ont été rapportés en France (Colson, Coze *et al.* 2007).

2. Etudes de séroprévalence

Plusieurs études de séroprévalence récentes réalisées dans différentes populations avec des tests diagnostiques plus sensibles que ceux utilisés dans les études plus anciennes montrent toutes, une séroprévalence élevée, variable en fonction de la zone géographique et des populations d'étude et augmentant avec l'âge.

- Une enquête chez 1998 donneurs de sang en Ile-de-France et Pays-de-Loire a retrouvé une séroprévalence moyenne des anticorps anti-VHE de 3,20% tendant à augmenter avec l'âge (Boutrouille, Bakkali-Kassimi *et al.* 2007).
- Dans une étude réalisée en 2003-2004, la prévalence globale chez 512 donneurs de sang de la région Midi-Pyrénées était de 16,6% et plus élevée chez les chasseurs (Mansuy, Legrand-Abravanel *et al.* 2008). Une nouvelle analyse récente sur les sérums de ces mêmes donneurs de sang avec un test plus sensible et validé (Bendall, Ellis *et al.* 2010) a mis en évidence une prévalence de 52,5% [IC 95% 48,2-56,8], 3 fois supérieure à celle estimée avec le test utilisé dans la 1^{ère} étude. Ces résultats suggèrent que l'hépatite E est hyperendémique en région Midi-Pyrénées (Mansuy, Bendall *et al.* 2011).
- Une étude menée en 2009-2010 en France métropolitaine en population générale sur un échantillon représentatif de la population française de 5 300 personnes âgées de 6 à 49 ans a trouvé une séroprévalence globale anti-VHE de 4,9% [IC 95% 4,1-5,8]. Les prévalences étaient plus élevées dans les régions sud-ouest et sud-est, respectivement 9,0% [IC 95% 5,9-13,4] et 7,1% [IC 95% 5,5-9,0] que dans les régions du nord 3,4% [2,6-4,4]. Les séroprévalences augmentaient avec l'âge quelle que soit la région de résidence (Lepoutre, Antona *et al.* 2011).
- Une étude réalisée chez 593 forestiers de Champagne-Ardenne, Bourgogne, Franche-Comté, Alsace et Lorraine prélevés en 2002 et 2003 et 135 professionnels non exposés professionnellement à la faune sauvage prélevés en 2002, 2003 et 2011 (population témoin) a retrouvé un risque d'infection par le VHE significativement plus élevé (OR = 2,2 ; p = 0,003) chez les bûcherons, forestiers en contact le plus étroit avec la faune sauvage (prévalence de 37%), que chez les professionnels non exposés (prévalence = 19%), les gardes-chasse (prévalence = 20%) et les sylviculteurs (prévalence = 25%) (Carpentier, Chaussade *et al.* 2012). La prévalence était également significativement plus élevée en Alsace (prévalence = 44%) et Lorraine (33%) que dans les 3 autres régions (Franche-Comté 23%, Bourgogne 17%, Champagne-Ardenne 12%). Les prévalences augmentaient significativement avec l'âge.
- Une étude nationale réalisée entre septembre 2011 et mars 2012 chez 304 éleveurs de porcs, 231 forestiers et 322 travailleurs du secteur tertiaire répartis dans des départements du nord-ouest, du nord, du nord-est, du sud-ouest, du sud-est et de Corse a trouvé une séroprévalence VHE significativement plus élevée chez les éleveurs de porcs (prévalence = 44%) que chez les travailleurs du secteur tertiaire (prévalence = 26%) (OR = 2,5 ; p = 0,0001), chez les

professionnels résidant dans le sud (prévalence = 41%) que chez ceux du Nord (prévalence = 31%) (OR = 1,47 ; p = 0,02) et chez les consommateurs de figatelli (prévalence = 29% chez les non consommateurs, 38% chez les consommateurs occasionnels, 66% chez les consommateurs fréquents) avec un risque multiplié par 1,7 (OR = 1,7 ; p = 0,003) chez les consommateurs occasionnels par rapport aux non consommateurs et multiplié par 4,5 (OR = 4,48 ; p < 0,0001) chez les consommateurs fréquents (Carpentier, Chaussade *et al.* 2012; Chaussade 2012).

3. Description des épisodes de cas groupés d'hépatite E survenus en France

Depuis 2005, 5 épisodes de cas groupés d'hépatite E dont 3 toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été investigués. La consommation de figatelli était la source la plus plausible pour 2 des TIAC.

- Entre avril 2005 et juin 2006, 6 cas autochtones d'hépatite E, sont survenus dans une zone géographique limitée autour de la plaine du Gapeau (Var). Parmi les expositions à risque, une consommation d'eau par forage privé pour 4 cas et la présence d'un cochon domestique pour 1 cas ont été identifiés. Le VHE a été recherché par PCR dans des échantillons d'eau de la rivière Gapeau et des prélèvements sur plusieurs espèces animales (chèvres, moutons) pour évaluer le rôle possible de l'eau et du réservoir animal dans la survenue de ces cas. Le VHE (génotype 3) a été mis en évidence dans un échantillon d'eau. La source de contamination des cas n'a pas été précisément déterminée (données non publiées, DDASS du Var, Dr A.Deccopet).
- En 2006, 2 cas d'hépatite E autochtones familiaux ont été attribués à la consommation de viande de porc séchée consommée environ 4 semaines avant le début de l'ictère (Deest, Zehner *et al.* 2007).
- Au cours de l'été 2007, dans le Vaucluse 3 cas familiaux autochtones d'hépatite E (génotype 3f) avaient en commun un unique repas partagé 1 mois auparavant par 4 convives, au cours duquel avaient été servie des figatelli. Les 3 consommateurs de figatelli crus ont présenté une hépatite E. Le quatrième convive non consommateur de figatelli n'a pas été malade (InVS and CIRE 2007).
- En septembre 2008 le lien entre consommation de figatelli crus et hépatite E a été suggéré par une étude cas/témoins menée dans les familles de 3 cas symptomatiques (génotype 3f). Une hépatite E aiguë ou récente a été diagnostiquée parmi 7 des 13 convives ayant consommé des figatelli crus *versus* aucune parmi les 5 qui n'en avaient pas consommés (p=0.04). Parmi 12 figatelli achetés dans différents supermarchés du sud-est mais de lots ultérieurs à ceux consommés, 7 étaient testées PCR positive. Le séquençage a identifié dans ces figatelli deux souches virales (génotypes 3f et 3e) proches de celles des patients ayant consommé des figatelli (Colson, Borentain *et al.* 2010).
- En 2011, l'investigation de 11 cas groupés d'hépatite E (8 symptomatiques et 3 asymptomatiques greffés rénaux) survenus de janvier à mars 2011 chez des patients résidant dans les Bouches-du-Rhône (10 cas) et le Var (1 cas) a retrouvé une fréquence élevée de consommation de figatelli parmi les cas (6/11, 54,5%). Les investigations épidémiologiques, vétérinaires et microbiologiques n'étaient pas en faveur d'une source commune de contamination. Les génotypes des virus mis en évidence chez 10 patients étaient différents (4 3f, 4 3c, 2 4a). Les virus de génotype 4a ont été retrouvés chez 2 patients qui avaient consommé des figatelli crus. Les séquences de ces virus étaient génétiquement proches (96,5%) de celles récemment décrites chez des porcs en Belgique et Pays-Bas (Colson, Romanet *et al.* 2012).

Points clés de l'épidémiologie humaine de l'hépatite E en France

- ✓ Le nombre de cas d'hépatite E autochtones diagnostiqués en France augmente depuis la mise en place du système de surveillance par le CNR en 2002. Cette augmentation est associée à une

augmentation du nombre de recherches diagnostiques. L'incidence observée est plus élevée dans les régions du sud de la France.

- ✓ Plusieurs études récentes de séroprévalence dans différentes populations montrent que la séroprévalence peut être élevée (jusqu'à 50%). Elle augmente avec l'âge, elle est plus élevée dans le sud de la France et dans les populations exposées professionnellement (éleveurs de porcs, bucherons en contact avec la faune sauvage). Le contraste entre la séroprévalence élevée et le faible nombre de cas diagnostiqués suggère que la majorité des infections sont asymptomatiques ou pauci-symptomatiques. L'infection par le VHE peut cependant être sévère (hépatite fulminante) et devenir chronique chez les patients immunodéprimés, en particulier les transplantés.
- ✓ En France, comme dans les autres pays industrialisés, les virus mis en évidence chez les cas autochtones sont majoritairement de génotype 3 avec la prédominance d'un cluster de sous-génotype 3f.
- ✓ Différents facteurs de risque ou source de contamination ont été mis en évidence ou suspectés par différentes études et l'investigation de cas sporadiques ou groupés : avoir été transfusé, consommer du gibier, être chasseur, être bucheron, être en contact avec des suidés, vivre en milieu rural, consommer de l'eau de forage ou de puits, consommer des coquillages, consommer des produits à base de foie de porc cru. La consommation de produits à base de foie de porc cru et en particulier de figatellu apparaît comme un des facteurs de risque les plus importants en particulier pour les cas résidant dans le sud-est de la France.

B. Aspects qualitatifs et quantitatifs de la transmission du VHE en élevage de porcs

Plusieurs espèces sont susceptibles d'héberger le virus, mais le principal réservoir animal du VHE est incarné par le porc et plus généralement les suidés. Même si l'infection chez le porc domestique ou porc d'élevage (*Sus scrofa domesticus*) est asymptomatique, le virus s'y multiplie très efficacement et est fortement excrété.

La majorité des études réalisées en conditions d'élevage indique que la source principale d'excrétion du VHE est le porc en croissance et principalement à partir du troisième mois d'âge, notamment lors du premier mois d'engraissement (60%), suivi par le stade post-sevrage (41,7%) (Fernandez-Barredo, Galiana *et al.* 2006).

Il a cependant été montré, dans des élevages espagnols, que près de 16% des truies excrétaient du virus en postparturition et 17% des truies en préparturition ce qui laisse la possibilité de transmission de truie à truie et de truie à porcelets (Casas, Cortés *et al.* 2011; De Deus, Casas *et al.* 2008; Fernandez-Barredo, Galiana *et al.* 2006). Dans une autre étude menée en Italie, une prévalence d'excrétion élevée était détectée chez les truies multipares (plus de 2 mises bas), ainsi que chez les cochettes et jeunes truies, mais dans une moindre mesure (Di Bartolo, Martelli *et al.* 2008). Ainsi, la voie de transmission horizontale de la truie au porcelet par contact, de même que la voie verticale *in-utero* ne peuvent être exclues (De Deus, Casas *et al.* 2008). En effet, la truie peut excréter le virus mais elle peut aussi potentiellement transmettre le virus à son fœtus par passage transplacentaire en cas de virémie au cours de la gestation. Des ARN viraux ont ainsi été détectés dans les foies de fœtus avortés (Hosmillo, Jeong *et al.* 2010). Ces résultats sont cependant controversés, une étude expérimentale (Kasorndorkbua, Thacker *et al.* 2003) n'ayant en effet montré aucune transmission verticale suite à l'inoculation intraveineuse de cochettes gestantes. Néanmoins, malgré la difficulté matérielle d'objectiver ces phénomènes d'excrétion chez la truie, on ne peut exclure que cette catégorie d'animaux soit un réservoir du VHE au sein des élevages infectés. Elles pourraient ainsi entretenir et maintenir la propagation du virus dans les élevages.

Le virus est principalement excrété par voie fécale chez le porc, conduisant à une accumulation du VHE dans l'environnement des animaux en élevage infecté. Des travaux ont ainsi mis en évidence une relation entre l'excrétion du VHE par les porcs et sa présence dans les fosses à lisier de ces mêmes élevages (Fernandez-Barredo, Galiana *et al.* 2006). Selon le type de sol (litière ou caillebotis avec pré-fosses de stockage du lisier), les animaux sont en contact permanent, plus ou moins direct avec ce réservoir environnemental du VHE. En cas de pré-fosses de stockage du lisier, une transmission *via* des suspensions de lisier est envisageable notamment au cours des opérations de brassage et de vidange.

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

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

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

La persistance du virus en élevage est conditionnée (i) par l'aptitude intrinsèque du virus à persister dans l'environnement des animaux, (ii) par les possibilités éventuelles de réintroduction régulière dans l'élevage et (iii) par l'aptitude du virus à se maintenir et se propager dans la population. Ce dernier critère peut être appréhendé par le taux de reproduction de base (R_0) du virus qui mesure le nombre d'infections secondaires engendrées par un porc infectieux pendant toute sa période d'excrétion et dans une population totalement sensible. Plus cet indicateur est élevé, plus le virus se propage facilement entre les animaux et plus il aura les capacités à se maintenir dans la population. En théorie, en deçà d'une valeur seuil de 1 pour le R_0 , le virus est voué à l'extinction au sein de la population (sans réintroduction). Pour le VHE, d'après une expérimentation réalisée par une équipe néerlandaise (Bouwknegt, Frankena *et al.* 2008), ce ratio a été estimé à 8,8 indiquant qu'un animal infectieux peut en théorie en contaminer plus de 8 pendant sa période infectieuse. Cette estimation expérimentale repose cependant sur des répétitions de contacts 1 à 1 et sur la production d'animaux naturellement infectés (pour réaliser les contacts avec des animaux sensibles) après exposition initiale de ces animaux index à des porcs inoculés par voie intraveineuse. Toujours expérimentalement mais en travaillant sur des groupes de porcs inoculés par voie orale et exposés à des porcs sensibles de manière directe ou indirecte (cases séparées), les estimations préliminaires confirment que le virus

est capable de se propager dans une population sensible et s'y maintenir mais sa propagation semble fortement limitée si les animaux ne sont pas en contact direct (Projet ANR HEVECODYN en cours).

La présence du virus dans le réservoir animal sauvage et notamment dans la population de sangliers est très largement rapportée dans la littérature dans la majorité des pays où des cas d'hépatite E autochtones sont décrits : au Japon (Sakano, Morita *et al.* 2009; Sonoda, Abe *et al.* 2004); en Allemagne (Adlhoch, Wolf *et al.* 2009; Schielke, Sachs *et al.* 2009); aux Pays-Bas (Rutjes, Lodder-Verschoor *et al.* 2010); en Italie (Martelli, Caprioli *et al.* 2008); en Espagne (De Deus, Peralta *et al.* 2008) et en France (Kaba, Davoust *et al.* 2009; Payne, Rossi *et al.* 2011). La prévalence est cependant très variable selon les études et les pays. En France, les résultats mettent en évidence une séroprévalence apparente comprise entre 7,2 et 22,7 % selon les départements échantillonnés avec des séroprévalences plus élevées dans les départements du sud de la France (Payne, Rossi *et al.* 2011). Les populations sauvages de sangliers constituent donc un réservoir non négligeable susceptible de représenter un risque pour les élevages de porcs élevés en plein-air. Il n'existe cependant aucune donnée de prévalence du VHE pour ces types d'élevage. Les estimations de prévalence dans le réservoir porcin domestique sont cependant très largement supérieures à celles disponibles dans le réservoir sauvage (Sakano, Morita *et al.* 2009), suggérant des facteurs de persistance dans les élevages de porcs indépendants d'une introduction régulière par les animaux sauvages.

Points clés de la transmission du VHE en élevage de porcs

- ✓ Le porc en croissance (post-sevrage et engraissement) constitue la principale source d'excrétion du VHE. Le rôle de la truie comme réservoir du VHE dans les élevages infectés ne peut être exclu.
- ✓ La voie féco-orale constitue la voie de transmission privilégiée du VHE chez le porc. La persistance du virus en élevage est conditionnée (i) par l'aptitude intrinsèque du virus à persister dans l'environnement des animaux, (ii) par les possibilités éventuelles de réintroduction régulière dans l'élevage et (iii) par l'aptitude du virus à se maintenir et se propager dans la population ($R_0 > 1$).
- ✓ Compte-tenu d'un mode de propagation féco-oral, la transmission de porc à porc est conditionnée par une accumulation de charges virales importantes dans l'environnement. Le processus de propagation au sein de l'élevage est donc fortement dépendant du niveau de contact des porcs avec leurs déjections. Les paramètres d'hygiène (nettoyage, désinfection, vidanges des pré-fosses, vides sanitaires...), et de conduite (mélange d'animaux de statuts infectieux différents au cours de la période d'élevage) sont susceptibles d'avoir un impact fort sur la propagation du virus au sein de la population.

C. Relation entre l'âge à l'abattage et la contamination du foie des porcs par le VHE

1. Age d'abattage des porcs en France

Deux grandes catégories d'animaux à partir desquelles les foies sont susceptibles d'être utilisés pour des préparations à base de foie cru sont produits en France : les porcs charcutiers et les animaux de réforme (truies en majorité et verrats).

Pour les porcs charcutiers, le paiement des carcasses est réalisé à partir :

- (i) d'un prix de base déterminé par le Marché du Porc Breton sur une base de 56 de TMP (Taux de muscle des pièces),
- (ii) d'une gamme de 80 à 102 kg avec une plus value de 2 centimes dans la gamme 85 – 97 kg (poids chaud de carcasse sans rognon ni hampe),

- (iii) avec une plus ou moins value selon la valeur du TMP de la carcasse (+2 à +4 cts par point de TMP supplémentaire et -2 cts à -4 cts pour les carcasses très grasses).

Ce n'est donc pas l'âge des animaux qui détermine le moment de l'abattage mais le poids vif des animaux estimé ou mesuré par l'éleveur. Celui-ci est pénalisé s'il envoie à l'abattoir des animaux trop lourds ou trop légers (hors gamme).

Les performances des élevages sont mesurées en partie à partir du critère de l'âge à 115 kg de poids vif qui est d'autant plus faible que les performances de croissance des porcs de l'élevage sont bonnes. La minimisation de ce critère rentre en partie dans les éléments garantissant un revenu à l'éleveur. En 2011, l'âge standardisé³ à 115 kg était de 183 jours (écart type = 10) pour la Bretagne, 39% des élevages était à moins de 180 jours et 3% à plus de 200 jours (Ifip 2012). D'après les données 2011 de Gestion Technico Economique (GTE) en élevage naisseur-engraisseur de l'IFIP, l'âge moyen pour un poids moyen de 116,2 kg en sortie d'engraissement est de 185 jours (écart-type = 18, IC95%) (Source : GTE 2011 IFIP : moyenne réalisée à partir des moyennes par élevage pour 1 747 élevages suivis).

Il existe des filières particulières (chartes qualité, labels) pour lesquelles, les cahiers des charges exigent que les animaux soient abattus à un âge minimal (porc fermier élevé en plein air label rouge à 182 jours) ou qui visent spécifiquement la production de porcs lourds. On peut citer par exemple les porcs Noir de Bigorre, de race pure Gasconne, élevés en plein air, avec des durées d'élevage plus longues, et des porcs abattus à 12 mois. Les volumes sont cependant assez discrets. En ce qui concerne d'autres productions de porcs plus lourds, on reste sur des âges standards à l'abattage autour de 182 jours.

Les animaux reproducteurs (troues en grande majorité) sont abattus à un stade adulte à l'occasion des réformes de ces animaux pour un renouvellement par des futurs reproducteurs. En 2010 l'âge moyen des troues réformées était de 35 mois (écart-type = 5,3) pour la Bretagne et 32,9 mois (écart-type = 5,8) au niveau national, ce qui correspond en moyenne à la réalisation de 5,1 à 5,4 portées sur leur carrière. En Bretagne, 66,3% des élevages réforment leurs troues avant 36 mois et 9% à plus de 42 mois.

2. Relation entre l'âge et l'excrétion du VHE chez le porc

Depuis la fin des années 2000, de nombreuses études se sont attachées à décrire la dynamique d'infection du virus en montrant que les prévalences des ARN du VHE dans les fèces et dans le sérum chez le porc évoluent en fonction du stade de production, donc de l'âge du porc (Annexe 2). Les résultats obtenus dans les différentes études sont relativement comparables. Dans la plupart des cas, **à l'échelle de la population porcine de l'élevage**, les porcs excrètent collectivement le virus sur une large période, approximativement de 1,5 à 5 mois d'âge avec une virémie manifeste entre 2 et 4 mois d'âge. Les durées et délais d'apparition de la virémie et de l'excrétion semblent comparables (Seminati, Mateu *et al.* 2008). Dans une autre étude, l'excrétion a été observée sur une très longue période (de 40 à 100 jours d'âge, soit pendant près de 9 semaines) sur les 10 porcs suivis (Kanai, Tsujikawa *et al.* 2011). Dans la plupart des études disponibles, les nombres d'animaux étudiés sont généralement très faibles, ce qui conduit à une mauvaise précision des estimations de fréquence d'animaux excréteurs et peut expliquer les divergences observées entre les travaux.

Cependant, dans la très grande majorité des travaux le pic de l'excrétion fécale est décrit vers 3 à 4 mois d'âge des porcs (De Deus, Casas *et al.* 2008; Fernandez-Barredo, Galiana *et al.* 2007; Takahashi, Nishizawa *et al.* 2005) et très peu d'animaux sont détectés positifs par PCR au-delà de 6

³ L'âge standardisé est mesuré à partir du poids moyen de sortie des animaux et à l'aide d'une courbe de croissance tenant compte du Gain Moyen Quotidien (GMQ) de la période.

mois d'âge, selon les études : moins de 10% (McCreary, Martelli *et al.* 2008; Nakai, Kato *et al.* 2006), voire aucun (De Deus, Seminati *et al.* 2007).

Les données d'excrétion fécale en fonction de l'âge présentées en Annexe 2 sont synthétisées ci-dessous sous la forme d'une méta-régression modélisant la prévalence d'excrétion fécale en fonction de l'âge par un modèle polynomial d'ordre 2 (Tableau 2) avec prise en compte du poids respectif des publications calculé sous la forme de l'inverse de la somme de la variance inter- et intra-étude pour un âge donné. La prédiction moyenne du modèle et son intervalle de confiance sont présentés sur la Figure 1.

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

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

R² ajusté: 0,33

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

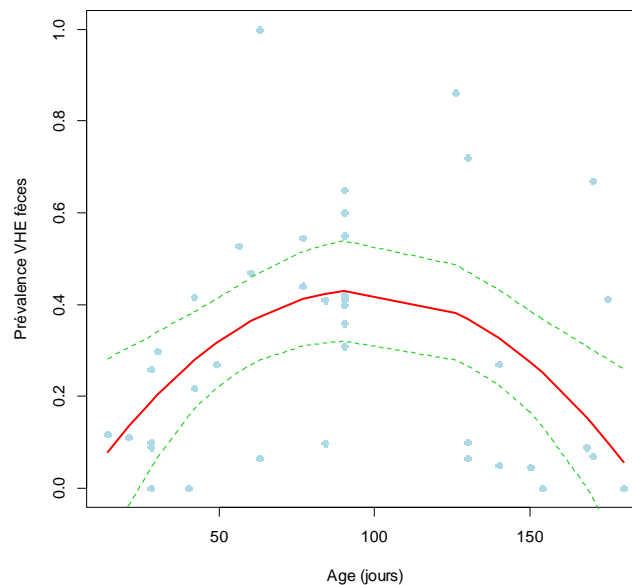


Figure 1 : Prédiction du modèle polynomial d'ordre 2 mettant en relation la prévalence d'excrétion fécale et l'âge des animaux, 13 publications.

Malgré une importante variabilité observée entre les études, le modèle met en évidence une probabilité d'excrétion fécale maximale à l'échelle de la population entre 90 et 120 jours d'âge. Toujours selon ce modèle, l'extrapolation de la prévalence d'excrétion s'annule en moyenne à 188,5 jours d'âge. Il n'existe pas d'étude permettant d'aller au-delà de 175 jours. Les valeurs prédites par le modèle (prévalence d'excrétion fécale) pour un âge de 175 et 185 jours sont respectivement 11% [95% IC 0 – 16%] et 3% [95% IC 0 – 17%]. Ces prédictions sont cohérentes avec l'estimation de prévalence de contamination des foies chez des porcs charcutiers, à l'abattage en France (4% [95% IC 0,02-0,06] (Rose, Lunazzi *et al.* 2011).

Depuis fin 2010, certaines études observationnelles permettent de décrire des dynamiques d'infection de manière plus précise en prenant en compte la variabilité individuelle *via* la mise en place de suivis longitudinaux réguliers de porcs depuis la naissance jusqu'à l'abattage. Dans l'étude de Casas *et al.* (Casas, Cortés *et al.* 2011), les IgM, dont la production est très précoce après l'infection mais qui

persistent peu longtemps, sont détectées pour la première fois chez les porcs âgés de 7 et 13 semaines dans les 6 élevages et pour les 20 porcelets. A l'abattage, autour de 25 semaines, les IgG, qui apparaissent plus tardivement mais persistent beaucoup plus longtemps que les IgM, sont présentes chez 50 à 100% des sujets pour 5 des 6 élevages. De même, 11,5% des 96 animaux abattus étaient positifs en PCR (foies et biles). Certaines études détectent les différents isotopes d'immunoglobulines et mettent ainsi en évidence une apparition des IgG plus tardive (à partir de 15 semaines d'âge) comparée à celle des IgA et IgM qui intervient à l'âge de 12 semaines chez des porcs naturellement infectés (45 porcelets dans 1 élevage) (De Deus, Casas *et al.* 2008). Dans cette même étude, l'ARN viral est détecté dans les sérums des porcs de tout âge, la prévalence la plus élevée étant observée à 15 semaines d'âge ainsi que dans les fèces et la lymphe à partir de 9 semaines d'âge avec un pic entre 12 et 15 semaines d'âge (fèces et lymphe, bile et foie sur animaux autopsiés). A 18 semaines d'âge, le VHE peut encore être détecté dans le foie (2/5) et les fèces (2/5) des porcs autopsiés. Cette étude a également mis en évidence une corrélation entre virémie et séroconversion IgG et IgM à 15 semaines d'âge. Ces études menées sur le terrain en conditions réelles décrivent des dynamiques d'infection collectives et affichent quelques différences les unes par rapport aux autres qui pourraient s'expliquer par des dynamiques individuelles très diverses.

La dispersion des séroprévalences intra-élevage observées dans une enquête nationale de prévalence du VHE à l'abattoir (Rose, Lunazzi *et al.* 2011) suggère des dynamiques d'infection individuelles très variables. Le suivi individuel rapproché de cohortes de porcs successives au sein d'élevages infectés permet d'appréhender cette variabilité individuelle (étude en cours, projet ANR HEVECODYN). Les premiers résultats obtenus (3 cohortes au sein d'un élevage infecté) montrent que la probabilité de contamination des foies au stade de l'abattage est fortement conditionnée par le délai entre l'infection des animaux et leur abattage. Les estimations préliminaires réalisées sur ce premier élevage suivi montrent que la situation à risque correspond à **un délai infection/abattage inférieur à 20 jours**. Ceci est cohérent avec les données expérimentales d'abattage séquentiel après infection de porcs par le VHE (rapport ANR/HEVZOOEPI). Au cours de ces expérimentations, des porcs ont été infectés par voie intraveineuse et abattus à 4, 8, 14 et 21 jours post-inoculation (n=3 porcs à chaque date). Les données de quantification de la charge génomique dans le foie des porcs abattus montrent une charge maximale à 8 jours post-inoculation puis une décroissance progressive et l'absence de détection du génome viral à 21 jours post-inoculation (Figure 2). Ces résultats suggèrent que les porcs élimineraient le virus du foie au-delà de 21 jours post-inoculation intraveineuse.

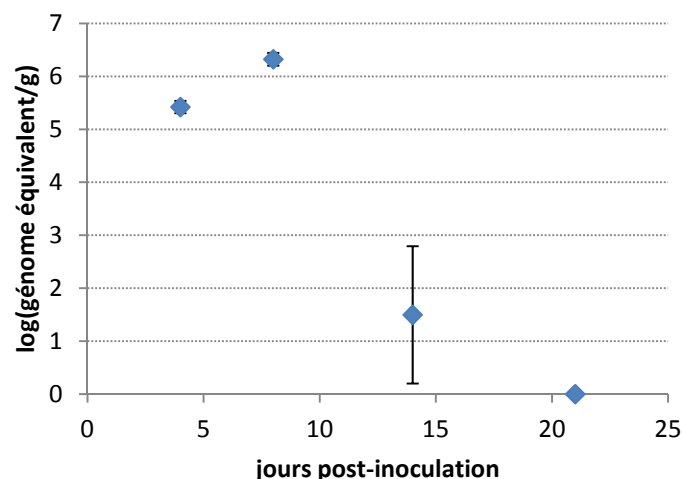


Figure 2 : Charge génomique en VHE dans le foie chez des porcs inoculés par voie intraveineuse à différents temps post-inoculation (n=12 porcs)

En conditions réelles, la probabilité de présence du virus dans le foie ne peut donc être directement déduite de l'âge à l'abattage en raison de l'absence de connaissance de la date exacte d'infection des animaux. Au sein d'élevages infectés, la majorité des infections a lieu entre le premier et le second tiers de l'engraissement, conformément à ce qui est décrit dans la littérature, cependant une grande variabilité individuelle est rencontrée comme illustrée sur la courbe de survie représentant la probabilité de non infection avant un âge donné (Figure 3).

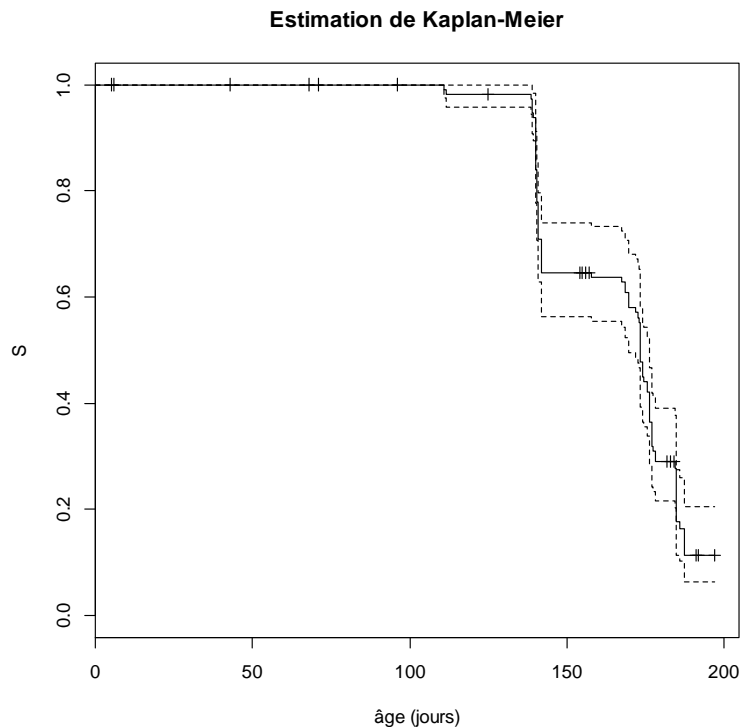


Figure 3 : Analyse de survie des données d'âge à l'infection VHE (n=120 porcs suivis individuellement, un élevage infecté VHE) (Projet ANR/HEVECODYN en cours).

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

3. Facteurs influençant l'âge à l'infection

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

La présence d'anticorps maternels chez le porcelet n'empêche pas l'infection mais retarde le début de la virémie ainsi que la séroconversion chez celui-ci (Dos Santos, Vitral *et al.* 2009; Kanai, Tsujikawa *et al.* 2011). La durée de présence des anticorps est également fonction du titre en anticorps chez la mère (Casas, Cortés *et al.* 2011), ce dernier étant fortement influencé par l'âge de la truie (Klobasa, Butler *et al.* 1987). Les IgG perdurent jusqu'à 9 semaines d'âge chez les porcelets nés de truies fortement séropositives contre 1 à 3 semaines pour les porcelets issus de truies faiblement séropositives (De Deus, Casas *et al.* 2008). Des observations équivalentes ont été réalisées

précédemment (Meng, Purcell *et al.* 1997). Une immunité passive persistant plus longtemps est ainsi susceptible de décaler dans le temps le processus infectieux chez le porcelet. Il est à noter qu'il arrive que des porcelets restent séronégatifs bien que nés d'une truie séropositive. Ceci s'expliquerait par une consommation de colostrum insuffisante ou inadéquate ou encore par la pratique d'adoption lors de l'allaitement (Casas, Cortés *et al.* 2011).

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

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

Points clés sur l'âge d'abattage des porcs et l'infection au VHE

- L'abattage des porcs concerne les porcs charcutiers et les animaux de réforme (truiés en majorité, et verrats).
- Chez les porcs charcutiers, c'est le poids vif de l'animal estimé ou mesuré par l'éleveur et non son âge qui détermine l'abattage.
- Sur la base d'un modèle établi à partir de données publiées, la prévalence d'excrétion fécale du VHE est maximale à un âge compris entre 90 et 120 jours et s'annule au-delà de 6 mois en moyenne.
- Des travaux préliminaires en cours montreraient qu'un délai entre le moment de l'infection et l'abattage inférieur à 20 jours augmenterait le risque de contamination des foies.
- Au sein d'élevages infectés, la majorité des infections a lieu entre le premier et le second tiers de l'engraissement, cependant une grande variabilité individuelle est rencontrée.
- Les porcs adultes sont susceptibles d'excréter le virus à la suite de réinfections (immunité transitoire, réinfection par des souches différentes).
- En conditions réelles, la probabilité de présence du virus dans le foie ne peut donc être directement déduite de l'âge à l'abattage en raison de l'absence de connaissance de la date exacte d'infection des animaux.

D. Méthodes d'analyse du VHE

1. Méthodes de diagnostic chez l'animal

La recherche de marqueurs de l'infection par le VHE repose sur la mise en évidence d'anticorps anti-VHE ou sur la détection de son génome par amplification moléculaire. Comme la plupart des virus responsables d'hépatite, le VHE est difficilement cultivable *in vitro*. La détection du génome viral n'implique pas nécessairement la présence de virus infectieux. Le seul modèle permettant de confirmer la présence de virus pouvant entraîner une infection, est le modèle expérimental chez le porc. Ce modèle ne peut être utilisé couramment. Un autre facteur pouvant limiter l'analyse d'échantillons infectés par le VHE, est son classement dans les agents infectieux de classe de biosécurité 3, ce qui implique une manipulation dans un laboratoire ou une animalerie de

niveau de confinement élevé (L3, A3). Il n'y a pas encore de vaccin, ni de traitement disponibles contre ce virus zoonotique.

Pendant longtemps la détection du VHE a été réalisée par quelques laboratoires de recherche avec des méthodes dites « maison ». Depuis quelques années, la notion d'hépatite E d'origine zoonotique ayant émergé, plusieurs tests de détection sérologique ou moléculaire, développés chez l'homme ou l'animal, ont été commercialisés. Le laboratoire de santé animale de l'Anses à Maisons-Alfort a validé en interne l'utilisation en sérologie de deux tests commerciaux chez le porc (Barnaud, Rogee *et al.* 2012; Rose, Boutrouille *et al.* 2010). Cependant, l'arrivée sur le marché d'au moins quatre nouveaux tests nécessiterait une analyse comparative plus approfondie avant de recommander l'utilisation d'un de ces tests en routine. En effet, bien qu'il n'existe qu'un seul sérotype de VHE, les performances de ces tests ne sont pas équivalentes selon le génotype des antigènes utilisés (génotype 1 : Se 0.47 [0.39–0.55], Sp 0.98 [0.95–0.99] génotype 3 : Se 0.92 [0.81–0.99], Sp 0.98 [0.93–0.99]) (Rose, Boutrouille *et al.* 2010). De plus, parmi ces tests, certains détectent uniquement les IgG alors que d'autres, détectent toutes les classes d'immunoglobulines (IgA, IgM, et IgG). Ces derniers permettent aussi la mise en évidence d'infections récentes, plus à risque d'être associées à des animaux dont le foie est contaminé.

La détection moléculaire du VHE dans les matières fécales, le sérum, les muscles ou le foie de porc a également été développée et validée en interne par le laboratoire de santé animale de l'Anses à Maisons-Alfort, selon une méthode non commerciale (Rose, Lunazzi *et al.* 2011). Cette détection repose, d'une part, sur une méthode de RT-PCR conventionnelle permettant le typage par séquençage et, d'autre part, sur une méthode de RT-PCR en temps réel permettant une quantification du VHE en équivalent génome. Depuis, au moins deux tests de RT-PCR en temps réel ont été mis sur le marché. Pour une utilisation plus simple en laboratoire de routine, il serait nécessaire de valider ces trousseaux commerciaux. En effet, le VHE est un virus qui présente une grande variabilité génétique. Une étude récente menée par le CNR VHE montre des inégalités de sensibilité des tests pour la détection des différents sous-types de VHE selon la région génomique amplifiée (Abravanel, Sandres-Saune *et al.* 2012). Ces régions génomiques ne sont pas précisées dans ces différentes trousseaux de diagnostic moléculaire, afin de préserver leur confidentialité. Les performances de ces trousseaux doivent être évaluées avec les sous-types majeurs circulant dans le cheptel porcin français (3e, 3c et 3f) mais aussi avec d'autres génotypes comme le génotype 4. En effet, la description récente de cas humains associés au génotype 4 (*cf.* Epidémiologie du VHE en France) pourrait laisser supposer que ce génotype a été introduit dans les élevages français. Le premier élevage européen (Belgique) infecté par du génotype 4 a été décrit en 2011 (Hakze-van der Honing, van Coillie *et al.* 2011).

2. Méthodes d'analyse du VHE dans les matrices alimentaires carnées

La transmission probable du VHE par consommation d'aliments contenant du foie de porc contaminé, nécessite de disposer de méthodes de détection du VHE dans des matrices alimentaires carnées. Les produits suspectés d'être à l'origine de contaminations sont de plusieurs types : saucisses sèches à base de foie de porc cru (saucisse sèche de foie, figatelli, fitone), foie salé séché, saucisses fraîches de foie, et pâte à quenelles. Ces matrices complexes sont principalement composées de foie, de matière grasse, de sels et d'épices.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de méthode standardisée dans le domaine du diagnostic viral en hygiène alimentaire. Le comité européen de normalisation (CEN) travaille sur un projet de norme pour la détection des norovirus et du virus de l'hépatite A dans les aliments (matrices végétales, fruits et fruits de mer). Les recommandations de ce groupe sur les différentes méthodes de détection moléculaire et les contrôles permettant de valider les résultats de diagnostics ont été décrits dans deux publications (Giuffrida, Troia *et al.* 2011; Lees and Tag 2010). Lors de l'initiation du projet de normalisation par le CEN, le VHE n'avait pas été identifié comme agent infectieux présentant un risque de transmission par l'alimentation. Cependant, il apparaît désormais indispensable de disposer d'une technique sensible et spécifique, respectant les recommandations générales du CEN, pour la

détection du VHE dans les aliments. Les deux principaux obstacles au diagnostic viral en hygiène alimentaire sont la concentration des virus dans les aliments, qui peut être faible, et la présence d'inhibiteurs de réaction de RT et/ou de PCR dans les matrices.

Il est à noter que contrairement aux contaminations par les norovirus ou le VHA qui sont principalement de surface (végétaux, fruits) ou par concentration dans les coquillages, la contamination par le VHE est intrinsèque à la matière première (infection des cellules du foie), ce qui entraîne des différences dans les méthodes d'analyses.

3. Méthodes disponibles et travaux en cours

a. Méthodes disponibles

A l'échelle européenne et plus largement internationale, le rôle joué par les aliments dérivés du porc dans la transmission du VHE fait l'objet de peu d'études. Seuls quelques laboratoires de recherche comme le AHVLA au Royaume Uni et l'ISS en Italie, se sont intéressés à la détection du VHE le long de la chaîne d'abattage des porcs et dans les aliments (saucisses fraîches) (Berto, Martelli *et al.* 2012; Di Bartolo, Diez-Valcarce *et al.* 2012). La méthode de détection du VHE décrite dans ces deux études est identique. Elle consiste en un broyage des échantillons dans une solution de lyse suivi d'une extraction des ARNs. Dans ces deux études, un contrôle de processus par addition de Norovirus Murin (MNV) a été utilisé dès l'étape d'extraction. La détection moléculaire du VHE par RT-PCR en temps réel à partir des ARNs suit le protocole décrit par Jothikumar en 2006 (Jothikumar, Cromeans *et al.* 2006). Le rendement d'extraction est estimé par la quantification du MNV en fin d'analyse.

Dans le cadre d'une étude sur la résistance du VHE aux traitements thermiques utilisés en industrie agro-alimentaire, le laboratoire de santé animale de l'Anses à Maisons-Alfort a développé une méthode de détection quantitative du VHE dans une matrice alimentaire de type pâte de foie. Ce travail a permis de développer et valider en interne une méthode d'extraction des acides nucléiques dans un aliment complexe d'origine carnée (cf. composition chapitre suivant) (Barnaud, Rogee *et al.* 2012). Cette méthode est également basée sur un broyage direct de la matrice mais dans une solution saline, puis d'une extraction des ARNs totaux. La présence d'inhibiteurs réactionnels a été évaluée par surcharge des échantillons avec des ARNs synthétiques du VHE. La détection moléculaire du VHE par RT-PCR en temps réel a également été réalisée selon le protocole décrit par Jothikumar en 2006.

En 2011, un plan de surveillance du VHE a été réalisé afin de déterminer la prévalence du VHE dans 400 produits à base de foie de porc cru. Dans ce cadre, le laboratoire de santé animale de l'Anses à Maisons-Alfort a développé et validé en interne des méthodes d'extraction pour les matrices de type saucisses sèches, foie salé séché et pâte à quenelle. Ces méthodes sont également basées sur un broyage des échantillons dans une solution saline suivi d'une extraction des ARNs. Au préalable, les saucisses font l'objet d'un dégraissage manuel au scalpel. La détection du génome du VHE a été réalisée selon la même méthode de RT-PCR en temps réel. Un contrôle de présence d'inhibiteurs réactionnels a également été réalisé par ajout d'ARNs synthétiques du VHE (Rapport transmis à la DGAL).

Toujours dans le cadre de ce plan de surveillance, le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses à Maisons-Alfort a développé une autre méthode. Celle-ci comprend une étape d'élution-concentration par le polyéthylène glycol (PEG) et utilise le MNV comme contrôle de processus (Communication personnelle S. Perelle, VAE, LSA). La détection moléculaire du VHE est réalisée par RT-PCRq en duplex avec le contrôle de processus MNV (Martin-Latil, Hennechart-Collette *et al.* 2012). D'autre part, dans le cadre d'une précédente enquête sur la prévalence du VHE dans les foies de porc au stade de l'abattage, une technique d'extraction des ARNs a été développée sur la matrice foie uniquement (Rose, Lunazzi *et al.* 2011). La technique d'extraction fait aussi appel à un broyage des foies en solution saline et ne comporte pas de traitement préalable (pas de dégraissage). Cette matrice simple présente peu, voire pas d'inhibiteur de RT-PCR.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2012-SA-0012

Tableau 3 : Récapitulatif des méthodes d'analyses VHE dans les matrices carnées.

Année	Nature échantillon	Méthode d'homogénéisation	Contrôle processus	Méthode d'extraction des ARN	Méthode d'amplification génique	Contrôle inhibition RT-PCR	Référence bibliographique
2011	Foie	Mécanique (Fast-Prep) en solution de lyse	Non	Colonne Silice	RT-PCRq Jothikumar N, et al 2006	Surcharge ARN viraux	(Rose, Lunazzi <i>et al.</i> 2011)
2012	Saucisse fraîche	Mécanique (mortier) en solution de lyse	MNV	Colonne Silice	RT-PCRq Jothikumar N, et al 2006	Inclus dans processus (MNV)	(Berto, Martelli <i>et al.</i> 2012)
2012	Saucisse fraîche	Mécanique (mortier) en solution de lyse	MNV	Colonne Silice	RT-PCRq Jothikumar N, et al 2006	Inclus dans processus (MNV)	(Di Bartolo, Diez-Valcarce <i>et al.</i> 2012)
2012	Pâté de foie	Mécanique (Ultra turrax) en solution saline	Non	Colonne Silice	RT-PCRq Jothikumar N, et al 2006*	Surcharge ARN synthétiques	(Barnaud, Rogee <i>et al.</i> 2012)
2012	Figatelli Fitone Foie salé séché Quenelle Saucisse sèche de foie	Dégraissage préalable (figatelli, fitone, saucisse sèche de foie) Mécanique (Ultra turrax) en solution saline	Non	Colonne Silice	RT-PCRq Jothikumar N, et al 2006*	Surcharge ARN viraux	Communication personnelle N. Pavio
2012	Figatelli Fitone Foie salé séché Quenelle Saucisse sèche de foie	Dégraissage préalable (figatelli, fitone, saucisse sèche de foie) Mécanique (Stomacher) et élution- précipitation PEG centrifugation	MNV	Bille de silice	RT-PCRq Martin-Latil, Hennechart-Collette <i>et al.</i> 2012)	Inclus dans processus (MNV)	Communication personnelle S. Perelle

Limite de détection : 5 copies d'équivalent génome par réaction

b. Travaux en cours

Le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses travaille actuellement à l'optimisation de la méthode d'extraction du VHE développée (élution-précipitation), afin d'obtenir de meilleurs rendements dans les foies salés séchés et les pâtes à quenelle.

4. Conditions nécessaires et difficultés éventuelles pour une utilisation en routine dans le cadre d'autocontrôles

Les méthodes présentées ci-dessus ont été validées au sein de plusieurs laboratoires mais aucune n'est reconnue comme méthode de référence. Il est toutefois possible de réaliser un transfert vers des laboratoires ayant l'équipement nécessaire. L'analyse des matrices alimentaires carnées requiert un appareillage de broyage rotatif qui n'est pas courant dans un laboratoire de diagnostic non spécialisé. Le dégraissage préalable des matrices est indispensable mais fastidieux et non automatisable ce qui limite le nombre d'analyses pouvant être réalisé simultanément.

Le facteur le plus limitant reste le classement du VHE dans les agents infectieux de classe 3 et la nécessité de le manipuler dans un laboratoire de niveau de confinement élevé (L3). En effet, les doses de VHE (en équivalent génome) pouvant être présentes dans les fèces, les foies ou même une tranche de figatellu (10^6 à 10^9 GE/g) (Rose et al 2011, communication personnelle N. Pavio), sont supérieures à la dose infectieuse DI50 estimée par voie orale chez l'homme (10^5 GE). Une dérogation basée sur une évaluation des risques selon l'arrêté du 16 juillet 2007 "fixant les mesures techniques de prévention ...où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes"⁴, peut être accordée pour une manipulation en laboratoire de niveau de confinement 2+ voire 2. De plus, concernant les analyses sérologiques, il pourrait être possible de déroger à cette exigence réglementaire de niveau de confinement 3 (avec un niveau de confinement 2) pour la manipulation des sérums, par exemple s'il est démontré que leur décomplémentation préalable permet d'inactiver le VHE et de conserver l'intégrité des immunoglobulines. Aussi, un niveau de confinement inférieur au niveau 3 pourrait être proposé pour les analyses PCR et sérologiques à l'issue d'une évaluation des risques prenant en compte notamment le mode de transmission du virus par voie essentiellement orale et non aérienne, sa grande fréquence en élevage et dans l'environnement et les mesures de biosécurité en place dans les laboratoires concernés.

Les laboratoires impliqués dans les autocontrôles sont de plusieurs types :

- les laboratoires d'entreprise, mais la plupart sont des petites et moyennes structures et ne sont pas équipées de laboratoire. C'est en particulier le cas des ateliers fabriquant des produits à base de foie de porc cru. En effet, une part importante de la charcuterie est fabriquée par des artisans. Quant aux plus grandes entreprises qui ont un laboratoire, il ne s'agit pas de laboratoire de niveau de confinement 3 (L3) ;
- les laboratoires prestataires de service, certains d'entre eux réalisent déjà des analyses en virologie (recherche de norovirus ou VHA), mais pas nécessairement en L3 ;

⁴ l'arrêté du 16 juillet 2007 "fixant les mesures techniques de prévention ...où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes" stipule (article 3 §II) : "Pour les agents classés dans le groupe 3, affectés d'un astérisque (cas du VHE) dans la liste annexée à l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié susvisé, normalement non infectieux par voie aérienne, l'évaluation des risques doit permettre de déterminer si la concentration ou la quantité des agents pathogènes incriminés et la nature des activités permettent de renoncer à certaines mesures de confinement spécifiques du niveau 3".

- les laboratoires de centre technique et là encore tous ne sont pas équipés de L3 ;
 - les laboratoires départementaux, mais tous ne disposent pas d'un L3.
- Dans tous les cas, un travail de transfert de méthode et de formation est nécessaire avant de disposer de laboratoires opérationnels pour réaliser les analyses en routine.

5. Echéances envisageables pour disposer de tests utilisables en routine

a. Identification de travaux complémentaires nécessaires à mener le cas échéant

L'analyse des produits finis étant plus complexe que celle du foie de porc, une alternative pourrait être d'analyser la matière première (foies de porc) **après mélange et avant addition des autres ingrédients**. Les étapes de fabrication ne semblant pas avoir d'effet assainissant sur le VHE, la contamination de la matière première pourrait être un bon indicateur du risque d'exposition au VHE. Le laboratoire de santé animale de l'Anses propose de poursuivre des travaux sur la détection du VHE dans les foies et en particulier sur la détermination de l'effet de dilution de foies contaminés sur le seuil de détection de la méthode développée. Pour cette étude, des foies contaminés par des niveaux variables de VHE seraient homogénéisés avec des quantités variables de foie sain. Ces travaux permettraient d'une part, de préciser les modalités de réalisation des analyses de mélanges de foies et de définir une méthodologie applicable aux autocontrôles. D'autre part, elle permettrait, dans le cas d'un contrôle réalisé au préalable en abattoir, d'évaluer la possibilité de proposer des analyses après pools de foies (5, 10 ou plus) afin de réduire les coûts. Les performances d'un contrôle de processus de type MNV ou Mengovirus doivent également être évaluées. De plus, il est nécessaire d'évaluer les nouvelles méthodes de détection moléculaire du VHE disponibles. Il existe des inégalités de sensibilité de détection des différents sous-types de VHE selon la région génomique amplifiée (Abravanel, Sandres-Saune *et al.* 2012). Les performances de ces trousseaux doivent être évaluées avec les sous-types majeurs circulant dans le cheptel porcin français (3e, 3c et 3f) mais aussi avec d'autres génotypes émergents comme le génotype 4. Par ailleurs, l'évaluation des performances de ces nouveaux tests sérologiques et virologiques ainsi que l'animation du transfert technique vers d'autres laboratoires, nécessiteraient la désignation d'un laboratoire national de référence pour la surveillance du VHE dans les élevages porcins et les produits à base de foie de porc cru destinés à être consommés crus.

b. Echéances envisageables

La réalisation d'une telle étude supposerait l'obtention d'un soutien technique et financier pour une période de 12 mois en tenant compte de :

- la validation de la ou des méthode(s),
- l'identification des laboratoires pouvant réaliser ces analyses,
- le transfert de la ou des méthode(s) et la formation des laboratoires.

En conséquence, la désignation d'un laboratoire de référence apparaît nécessaire.

Points clés sur les méthodes d'analyse

- La manipulation du VHE doit être effectuée dans un laboratoire de confinement de niveau 3 (L3). Un niveau de confinement inférieur au niveau 3 pourrait être proposé à l'issue d'une évaluation des risques dans les laboratoires concernés.
- Des méthodes de détection sérologique et virologique du VHE, chez l'animal, sont disponibles mais aucune n'est reconnue comme méthode de référence. Il n'y a, de surcroît, pas de laboratoire de référence.

- Des méthodes de détection du VHE dans diverses matrices carnées (pâté de foie, saucisses sèches, foie salé séché et pâte à quenelle) sont disponibles mais elles ne sont pas reconnues comme méthodes de référence.
- Les analyses des matrices alimentaires nécessitent un appareillage de broyage rotatif.
- Un transfert de ces méthodes validées par l'Anses vers des laboratoires ayant l'infrastructure nécessaire est toutefois possible.
- L'analyse des produits finis étant plus complexe que celle du foie de porc, il est envisageable d'analyser la matière première (foies de porc). Ceci pourrait être réalisé après mélange des foies et avant addition des autres ingrédients.
- Il serait nécessaire de poursuivre les travaux sur la détection du VHE dans les foies de porc afin de préciser les modalités de réalisation des analyses de mélanges de foies et de définir une méthodologie applicable aux autocontrôles.

E. Mise en œuvre d'une qualification des élevages vis-à-vis du VHE

Dans le but de fournir des matières premières indemnes amenées à être utilisées dans les industries de transformation en produits à base de foies crus, la qualification des élevages pourrait être envisagée. Cela suppose de détenir des outils diagnostiques performants, utilisables en routine par des laboratoires d'analyses et de définir un plan d'échantillonnage pour qualifier les élevages.

1. Intérêts et limites d'une qualification sérologique des élevages

La qualification sérologique des élevages est une approche qui peut être envisagée à grande échelle. Des données existent sur les caractéristiques intrinsèques des tests sérologiques qui pourraient être utilisés (Casas, Pina *et al.* 2011; Rose, Boutrouille *et al.* 2010; Zhang, Mohn *et al.* 2011). Cependant, comme mentionné plus haut, la mise sur le marché relativement récente de plusieurs trousseaux commerciaux nécessiterait une analyse comparative approfondie. L'intérêt de réaliser des tests sérologiques sur « jus de viande » à l'abattoir a aussi récemment été mis en évidence (Casas, Pina *et al.* 2011). Il existe de plus des données montrant une relation significative entre le niveau de séroprévalence intra-troupeau et la probabilité de détecter des foies positifs dans le même élevage (Rose, Lunazzi *et al.* 2011). Dans cette étude, la probabilité de présence du virus au niveau du foie est significativement augmentée dans les élevages où la séroprévalence en fin d'engraissement est supérieure à 25% : $OR^5=6.7$ [2.1–21.6]. Ces données suggèrent que les élevages à risque de livrer des foies positifs correspondent aux troupeaux dans lesquels le virus circule de manière intense et se propage sur une proportion supérieure à 25% de l'effectif des porcs en engraissement.

Néanmoins, au niveau individuel, une proportion non négligeable de porcs charcutiers positifs en virologie au niveau du foie, est séronégative en raison d'une infection extrêmement tardive, ayant eu lieu peu de temps avant l'abattage (le délai de détection de la séroconversion est vraisemblablement de 25 à 30 jours selon la sensibilité du test sérologique utilisé). Pour les élevages naisseurs-engraisseurs, il semble donc indiqué de ne pas strictement réaliser les tests sérologiques uniquement sur des porcs charcutiers en fin d'engraissement ou à l'abattoir mais aussi de compléter cet échantillonnage par des prélèvements sur truies afin d'établir de manière plus certaine le statut de l'élevage à l'égard du virus. Les effectifs nécessaires à contrôler peuvent être déterminés en fonction de l'hypothèse de prévalence limite à détecter, du niveau de confiance recherché et des performances des tests utilisés (voir tableau 4 en fin de partie).

⁵ OR : Odds Ratio (« rapport des cotes » en français)

2. Intérêts et limites d'une qualification virologique des élevages

Une recherche de la présence du virus dans les matières fécales pourrait être menée puisqu'il semblerait qu'il y ait une bonne corrélation entre la présence du virus dans le foie et l'excrétion fécale (Rapport HEVZOONEPI).

En élevage, dans le cadre d'un contrôle avant abattage, par échantillonnage de fèces d'animaux avant leur départ pour l'abattoir ou du lisier collecté dans la pré-fosse des animaux correspondants.

A l'abattoir, des matières fécales peuvent être prélevées en *ante mortem* au niveau des aires d'attente.

Sur les foies eux-mêmes, en *post-mortem*, la recherche du virus à partir du foie des porcs abattus permet de répondre directement à la question du risque représenté par les abats issus des élevages contrôlés pour une utilisation dans des produits à base de foie cru. Ceci peut être réalisé par PCR sur un échantillon de foies prélevés sur la chaîne d'abattage. Cette approche peut cependant se révéler extrêmement coûteuse et lourde à mettre en place, compte tenu des cadences d'abattage et de la variabilité des effectifs d'un lot (le nombre d'animaux est très variable d'une bande à une autre, de quelques animaux à plus de 200 animaux). Le plan d'échantillonnage reste à définir en fonction de l'hypothèse de prévalence limite à détecter, du niveau de confiance recherché et des performances des tests utilisés. La recherche virale sur les foies pourrait être envisagée éventuellement comme une vérification secondaire, réservée à des élevages présélectionnés selon une autre méthode d'évaluation.

3. Modalités de qualification des élevages à l'égard du VHE

Les données de prévalence dans la population porcine nationale suggèrent que le virus circule dans 65% des élevages et que 24% des exploitations délivrent des porcs charcutiers à l'abattoir dont certains présentent du virus infectieux dans le foie.

Ce sont ces exploitations, qui livrent des animaux hébergeant le virus dans le foie, qui sont potentiellement à risque vis-à-vis de l'utilisation des produits porcins et notamment le foie pour la préparation de produits à base de foie cru. Afin de réduire ce risque plusieurs options de qualification sont envisageables.

Une première option de qualification serait d'identifier des élevages indemnes de VHE afin de réserver l'utilisation des foies des porcs issus de ces élevages pour la préparation des produits à base de foie cru. Dans ces élevages, un dispositif d'échantillonnage pourrait être mis en place qui permettrait de garantir, en l'absence de résultats positifs, que la séroprévalence intra-élevage est inférieure à un seuil (par exemple <1%). A titre d'illustration et d'un point de vue théorique, pour un élevage naisseur-engraisseur de 200 truies (moyenne nationale GTTT, IFIP), comportant une population d'environ 2 200 porcs après le sevrage à un instant donné, il faudrait en prélever au moins 305 pour attester, si tous les résultats sont favorables, que la séroprévalence intra-élevage n'est pas supérieure à 1%, avec un niveau de confiance de 95% (sous l'hypothèse d'un test sérologique ayant une sensibilité de 92%) (Rose, Boutrouille *et al.* 2010). D'un point de vue opérationnel et compte-tenu de la persistance des anticorps chez les animaux adultes, il serait probablement plus pertinent de tester un échantillon de truies en première intention et si tous les résultats sont négatifs, de le confirmer régulièrement sur des bandes de porcs charcutiers en fin d'engraissement. En effet, il est probable que le statut indemne d'un élevage ne puisse être maintenu de façon stable dans le temps (Tableau 4). Cette absence de stabilité du statut, associée au coût élevé de l'acquisition et du maintien de cette qualification, et à la faible disponibilité de méthodes d'analyse utilisables en routine, est une limite majeure à la mise en place de cette qualification.

Une option alternative de qualification consisterait à identifier les élevages à faible risque de production d'animaux porteurs du virus au niveau du foie. Mais les données sur la dynamique du VHE en élevage sont à ce jour insuffisantes, et en l'état actuel des connaissances, il apparaît difficile de définir un seuil pour lequel le risque est faible à très faible. Cette option n'est donc pas réalisable.

Une deuxième option reposerait sur une qualification *ante-* ou *post-mortem* en temps réel du lot à partir de prélèvements de fèces en élevage, en ciblant le lot qui va être abattu, ou à l'abattoir. Cette option très coûteuse nécessite le recours à une logistique très complexe à réaliser en abattoir (Tableau 4).

Une troisième option s'affranchirait de la qualification de l'élevage et consisterait à qualifier des mêlées de foies par PCR en temps réel, avec le risque de rejet d'une majorité des mêlées (Tableau 4). Une présélection d'un noyau d'élevages dont le statut a été établi pourrait réduire le nombre de mêlées rejetées.

Points clés sur les modalités de mise en œuvre d'une qualification d'élevages indemnes vis-à-vis du risque VHE

- La qualification repose sur l'identification d'élevages indemnes de VHE afin de réserver l'utilisation des foies des porcs issus de ces élevages pour la préparation des produits à base de foie cru. Deux stratégies sont envisageables :
 - 1) une qualification sérologique à partir de prélèvements sur les truies et/ou sur les porcs charcutiers en engraissement, à l'élevage ou à l'abattoir,
 - 2) l'analyse des matières fécales en élevage ou à l'abattoir comme indicateur de la présence possible du virus dans le foie.Ces deux stratégies pourraient éventuellement être combinées.
- Les objectifs, contraintes et moyens requis pour différentes stratégies de qualification sont résumés dans le tableau 4 qui présente aussi une option de qualification des mêlées de foie. Les principales limites identifiées sont les suivantes :
 - i) l'absence de stabilité du statut « indemne » des élevages dans le temps,
 - ii) la faible disponibilité de méthodes d'analyse utilisables en routine. Il est d'ailleurs nécessaire d'évaluer les performances des méthodes disponibles sur le marché lesquelles peuvent présenter des différences de sensibilité,
 - iii) le coût et la complexité de la mise en œuvre de la qualification.
- Compte tenu des limites présentées ci-dessus, à l'heure actuelle, les conditions ne semblent pas réunies pour la mise en place d'une qualification des élevages indemnes.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2012-SA-0012

Tableau 4 : Synthèse des options de qualification vis-à-vis du VHE : avantages et limites

	Objectif	Moyens requis	Modes de prélèvements	Avantages	Limites
Qualification élevage indemne	Identifier des élevages indemnes de VHE	<p>Identification d'une sous-population d'élevages éligibles</p> <p>Qualification « indemne » : échantillonnage pour vérifier séroprévalence < seuil, niveau de confiance</p> <p>Caractéristiques du test sérologique utilisé (sensibilité, spécificité)</p>	Sérum	<p>Identification d'élevages éligibles pour une commercialisation en filière foie cru</p>	<p>Absence de stabilité dans le temps du statut « indemne »</p> <p>Concerne théoriquement une fraction de la population relativement faible (<35%)</p> <p>Logistique complexe à l'échelle des abattoirs, segmentation supplémentaire</p> <p>Non applicable aux engraisseurs stricts</p> <p>Coût</p>
Qualification <i>ante-</i> ou <i>post-mortem</i> en temps réel du lot	A partir de prélèvements réalisés sur les animaux d'un lot, établir son statut virologique en temps réel	<p>Echantillonnage des lots dans l'aire d'attente (<i>ante-mortem</i>) ou sur la chaîne (<i>post-mortem</i>)</p> <p>Analyses virologiques (PCR) avec résultats en flux tendu pour libération des lots</p>	Fèces	<p>Connaissance précise du statut des lots utilisés pour la filière foie cru.</p>	<p>Logistique très complexe, difficilement gérable à l'échelle d'un abattoir</p> <p>Echantillonnage important pour s'assurer qu'un animal positif ne risque pas de contaminer l'ensemble du lot</p> <p>Coût des analyses</p>
	Objectif	Moyens requis	Modes de prélèvements	Avantages	Limites
Qualification des mēlées de foies	Définition du statut des mēlées	<p>Prélèvement et analyse des mēlées (PCR) en temps réel pour libération vers la filière foie cru</p> <p>Traçabilité amont des lots de foie</p>	Mēlées de foies	<p>Coût modéré</p> <p>Gestion immédiate du risque en fonction du résultat</p>	<p>Risque de rejet d'une majorité des mēlées compte tenu des mēlanges et de la prévalence individuelle des foies⁶</p>

⁶ Avec si possible une présélection d'un noyau d'élevages dont le statut a été préalablement établi pour éviter le rejet d'un trop grand nombre de mēlées.

F. Impact des procédés de transformation des produits de charcuterie à base de foie de porc cru sur le devenir du VHE.

L'impact d'un traitement technologique tel que la cuisson ou le séchage sur le virus de l'hépatite E ne peut être évalué qu'à partir de données basées sur le caractère infectieux du virus. En effet, le virus de l'hépatite E n'est pratiquement pas cultivable et la quantification du génome viral ne peut se réaliser que par les techniques de biologie moléculaire ce qui ne permet pas de témoigner du caractère infectieux du virus. En conséquence, la résistance aux traitements technologiques ne peut s'évaluer à ce jour, qu'en se basant sur des expérimentations réalisées sur l'animal.

1. Impact du traitement thermique

A notre connaissance trois études ont été menées pour évaluer l'impact d'un traitement thermique sur la survie du virus de l'hépatite E.

- Les travaux de Tanaka (Tanaka, Takahashi *et al.* 2007) ont montré, au moyen d'un système de culture cellulaire basé sur la lignée hépatocytaire PLC/PRF/5, qu'un chauffage à 70 °C pendant 10 min est nécessaire pour inactiver une suspension fécale de VHE à 6.10^4 ge. En revanche, une incubation à 56°C pendant 30 min ne permet pas d'inactiver le VHE.
- Les travaux de Feagins (Feagins, Opriessnig *et al.* 2008) ont montré par un bio-essai que le virus présent dans le foie pouvait être infectieux pour le porc. Cependant la friture à la poêle à 191° ou une cuisson dans l'eau bouillante de dés de foie de porc de 0,5 à 1 cm² permettait l'obtention d'une température à cœur de 71°C durant 5 minutes qui était associée à l'inactivation des virus présents dans le foie par contamination naturelle. En revanche, l'incubation à 56°C pendant 1 heure était insuffisante pour obtenir l'inactivation totale du virus de l'hépatite E.
- Les travaux de Barnaud (Barnaud, Rogee *et al.* 2012) ont estimé par un bio-essai l'impact de différents traitements thermiques sur le caractère infectieux du virus de l'hépatite E. Les travaux ont été menés sur des matrices complexes : mêlées contenant 30% de foie infecté (10^8 ge de VHE/g) et 48% de matières grasses (composition du pâté de foie comparable au figatellu). Les traitements thermiques appliqués étaient les suivants : 71°C pendant 5, 10 et 20 min, 68°C pendant 5, 10 et 20 min, 62°C pendant 5, 20 et 120 min. Ces travaux montrent que seul le traitement thermique à une température de 71°C pendant 20 min, permet d'inactiver totalement le VHE. Un traitement à 68°C pendant 20 min n'inactive pas le VHE et un traitement à 62°C pendant 120 min n'a pas d'effet sur la survie du VHE.

Lorsque ces trois études sont comparées, la présence de matière grasse dans les mêlées (48%) peut exercer un effet de protection du virus contre le traitement thermique. Ainsi la suspension fécale et les dés de foies seuls, présentent une plus grande sensibilité au traitement thermique. Bien que sécuritaire (contamination des mêlées avant traitement thermique proche de 10^7 ge de VHE/g et test par voie intraveineuse et non par voie orale – les virus doivent passer dans ce cas la barrière intestinale pour atteindre la circulation sanguine), mais en l'absence d'autres données, la recommandation d'un traitement de 71°C pendant 20 min peut être faite afin d'assurer l'inactivation du VHE.

2. Impact du séchage

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

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

3. Conclusions concernant les procédés de transformation

Les produits de charcuterie fabriqués à partir de foie de porc cru peuvent être séparés en différentes catégories :

- i. les produits cuits par le professionnel (les saucisses au foie d'Alsace ou saucisson de foie d'Alsace, les mousses de foie (pâté) et les quenelles de foie d'Alsace). Les procédés de fabrication de ces produits intègrent au moins une étape de cuisson réalisée par le fabricant. Celle-ci peut être considérée comme efficace sous réserve d'un traitement minimum de 71°C pendant 20 minutes.
- ii. les produits cuits par le consommateur (les saucisses fraîches de foie du sud ouest). Ces produits ne subissent pas de traitement thermique chez le fabricant, mais uniquement chez le consommateur. Des recommandations doivent être faites au consommateur pour que la cuisson soit suffisante pour inactiver le VHE.
- iii. les produits consommés crus (les figatelli, les saucisses de foie séchées, le foie salé séché). Le procédé de fabrication de ces produits doit être considéré comme inefficace pour inactiver le VHE de même qu'il faut considérer que le virus reste infectieux pendant toute la durée de vie du produit. Ainsi, le prolongement de leur durée de vie (DLUO dans la plupart des cas) ou la mise en place d'un délai entre la fabrication et la mise sur le marché doivent être considérés comme inefficaces pour l'inactivation du VHE.

En l'absence de présélection de foies de porcs sans VHE, le seul moyen de réduire le risque pour ces produits est l'utilisation de foies traités thermiquement avant leur mise en œuvre (Cf. Etude IFIP), cette recommandation est également applicable aux produits destinés à être cuits par le consommateur.

L'utilisation des hautes pressions sur les produits finis pourrait être une alternative pour inactiver le VHE. Il n'existe cependant à ce jour aucune donnée sur l'efficacité des hautes pressions sur le virus de l'hépatite E. Néanmoins, l'efficacité de ces traitements a été montrée sur le virus de l'hépatite A (VHA) (Kingsley and Chen 2009).

Points clés sur l'impact des procédés de transformation sur le VHE

- Un traitement thermique à 71°C à cœur pendant 5 min est recommandé pour la décontamination des mêlées de foie de porc, et pendant 20 min pour les matrices complexes comme celles des figatelli.
- Le séchage tel que pratiqué par les fabricants des produits à base de foie cru ne peut être considéré comme efficace sur l'inactivation du VHE (Afssa 2009). En conséquence, le prolongement du délai entre la fabrication et la mise sur le marché ne peut être envisagé.
- L'impact des hautes pressions sur le VHE mériterait d'être évalué (efficacité démontrée sur le VHA).

G. Synthèse des possibilités de gestion du risque lié à VHE dans les produits à base de foie de porc cru: de l'élevage à la consommation

Le diagramme suivant présente les possibilités de gestion au regard de la santé publique du risque VHE dans les produits à base de foies de porc cru.

Figure 4 : Possibilités de gestion au regard de la santé publique du risque VHE dans les produits à base de foies de porc cru

Sur la partie gauche (fond bleu) sont indiquées les conditions de mise en place d'un circuit de qualification et certification afin de garantir au consommateur l'absence de VHE détectable dans les produits à base de foie de porc cru, en considérant que la qualification d'élevages indemnes n'est

actuellement pas réalisable. Sur la partie droite (fond blanc) est indiqué le parcours des produits à base de foie cru sans garantie particulière vis à vis du risque VHE.

Au cours du processus de fabrication, la sélection après analyse de foies (ou mêlées) non contaminés et/ou l'application d'un traitement thermique suffisant sur des foies (ou mêlées), sont des mesures qui suivant leur efficacité, pourraient permettre à un produit potentiellement contaminé de rejoindre, sous une autre qualification, le circuit garantissant des produits à plus faible risque vis-à-vis de VHE.

Un processus de qualification/certification suppose, entre autre, des capacités de contrôles réguliers, et donc de disposer d'outils analytiques performants et utilisables en routine, notamment au niveau des élevages, des transformateurs et des points de vente. L'efficacité du dispositif de certification repose également sur la traçabilité des foies de porc et sur une mention d'étiquetage présente sur tous les produits contenant des foies de porc. Cet étiquetage doit permettre d'éclairer le consommateur sur les éventuels dangers liés à la consommation de ces produits. La coexistence de deux filières pour les produits à base de foie de porc cru, de risque sanitaire différent, pour un même type de produits peut poser des difficultés (complexité en termes de perception du consommateur d'une double communication sur un même produit, risque de confusion entre produits de niveau sanitaire différent). Un circuit de certification de tous les produits à base de foie de porc cru, supposera tout autant des garanties de traçabilité et d'information lisible et visible.

Une approche coût-bénéfice sur une mesure isolée ou sur une combinaison de mesures, par une approche quantitative est théoriquement possible, à condition que les données nécessaires soient disponibles. A minima, les données suivantes sont à acquérir pour la réalisation d'une appréciation du risque pour le consommateur : données de contamination des produits concernés, données de dose-réponse, données sur la consommation et la préparation des produits à base de foie de porc cru, efficacité de la cuisson, et survie du virus dans les produits séchés. La réalisation d'une analyse bénéfice/risque, nécessite l'évaluation de l'efficacité quantifiée des mesures envisagées et de leurs coûts associés.

Sans remettre en cause les mesures qui pourraient être prises en amont pour réduire le risque de contamination des foies, des mesures sont d'ores et déjà envisageables pour assurer la protection du consommateur, comme une meilleure information sur le risque. L'efficacité de ces mesures pourra être appréciée par une diminution de la proportion de cas associés à la consommation de produits à base de foie de porc cru, parmi les cas d'hépatite E recensés par le système de surveillance de l'hépatite E (cf. données d'épidémiologie).

Quelle que soit la mesure choisie, une approche combinée entre plusieurs mesures serait a priori plus efficace qu'une mesure isolée.

Conclusions des CES « Biorisk » et « Santé Animale »

Le nombre de cas d'hépatite E autochtones diagnostiqués en France augmente, la séroprévalence est élevée et varie selon les régions. La consommation de produits à base de foie de porc cru, en particulier de figatellu, apparaît comme un des facteurs de risque les plus importants en particulier pour les cas résidant dans le sud-est de la France. L'analyse des séquences de VHE isolées chez l'homme et l'animal suggère que l'animal est bien la source des contaminations humaines, indépendamment de la voie de contamination.

En conclusion, les réponses suivantes peuvent être apportées :

Concernant le lien entre l'âge d'abattage et la probabilité de contamination des foies par le VHE : la probabilité de présence du virus dans le foie de porc diminue avec l'âge et au-delà de 20 jours après le début de l'infection. Il existe une grande variabilité de l'âge des animaux au moment de l'infection qui est difficile à déterminer. En pratique, la probabilité de présence du virus dans le foie ne peut donc être directement déduite de l'âge à l'abattage des animaux.

Concernant une qualification des élevages indemnes de VHE : la qualification repose sur l'identification d'élevages indemnes de VHE afin de réserver l'utilisation des foies des porcs issus de ces élevages pour la préparation des produits à base de foie cru. Une telle qualification est basée sur des analyses sérologiques à partir de prélèvements réalisés sur les truies et/ou sur les porcs charcutiers en élevage ou à l'abattoir et/ou l'analyse virologique des matières fécales en élevage ou à l'abattoir comme indicateur de la présence possible du virus dans le foie. En tenant compte des limites exposées dans cet avis, la qualification des élevages indemnes de VHE n'est pas envisageable à l'heure actuelle.

Concernant l'échéance pour disposer de tests de diagnostic utilisables en routine dans le cadre des autocontrôles pour permettre de déterminer le statut d'une mêlée de foies vis-à-vis du VHE : il n'existe pas de méthode standardisée pour la détection du génome du VHE dans les matrices alimentaires. Des méthodes validées de détection du VHE dans diverses matrices carnées (pâté de foie, saucisses sèches, foie salé séché et pâte à quenelle) sont disponibles et pourraient être transférées vers des laboratoires pour une utilisation en routine.

Des travaux complémentaires concernant les modalités de réalisation des analyses et la méthodologie applicable aux autocontrôles pour la détection du VHE dans les foies de porc sont nécessaires avant la mise à disposition de tels tests.

Concernant l'impact des procédés de transformation des produits d'origine porcine sur le devenir du VHE : un traitement thermique minimal de 71°C pendant 20 minutes est nécessaire pour inactiver le VHE dans une matrice complexe (de composition proche de celle du figatellu). En l'absence de présélection de porcs avec des foies indemnes de VHE, la seule mesure de réduction du risque serait d'utiliser des foies préalablement traités thermiquement (71°C pendant 5 minutes minimum) en vue de la fabrication de produits transformés. Le séchage, tel que pratiqué par les fabricants des produits à base de foie cru ne peut être considéré comme efficace sur l'inactivation du VHE. En conséquence le prolongement du délai entre la fabrication et la mise sur le marché des produits ne peut être envisagé. D'autres méthodes alternatives d'inactivation (hautes pressions) pourraient être explorées.

Sans remettre en cause les mesures qui pourraient être prises en amont pour réduire le risque de contamination des foies, des mesures peuvent d'ores et déjà être mises en œuvre pour assurer la protection du consommateur comme :

- le traitement thermique des foies,
- une information lisible et visible sur tous les produits à base de foie de porc cru mis sur le marché et rappelant aux consommateurs la nécessité de cuisson à cœur,
- une information des médecins et des personnes susceptibles de développer une forme grave (immunodéprimés, individus atteints d'hépatopathie chronique, femmes enceintes) sur le risque hépatite E et sa prévention. Il serait potentiellement envisageable de faire réaliser une sérologie hépatite E chez ces personnes, qui serait suivie, pour les personnes séronégatives, d'une mise en garde, par le praticien, sur la consommation crue des produits concernés.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions des CES « Biorisk » et « Santé Animale ».

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

VHE ; Excrétion ; Contamination des foies ; Elevage porcin ; Abattage ; Qualification ; Transformation.

BIBLIOGRAPHIE

- Abravanel F, Sandres-Saune K, Lhomme S, Dubois M, Mansuy JM, Izopet J (2012) Genotype 3 diversity and quantification of hepatitis E virus RNA. *Journal of Clinical Microbiology* 50(3), 897-902.
- Adlhoch C, Wolf A, Meisel H, Kaiser M, Ellerbrok H, Pauli G (2009) High HEV presence in four different wild boar populations in East and West Germany. *Veterinary Microbiology* 139(3-4), 270-8.
- Afssa (2009) Saisine n° 2009-SA-0101: Avis de l'Agence relatif au risque de contamination humaine par le virus de l'hépatite E (VHE) après ingestion de figatelles (saucisses crues à base de foie de porc).
- Backer JA, Berto A, McCreary C, Martelli F, van der Poel WHM (2012) Transmission dynamics of hepatitis E virus in pigs: Estimation from field data and effect of vaccination. *Epidemics* 4(2), 86-92.
- Banks M, Bendall R, Grierson S, Heath G, Mitchell J, Dalton H (2004) Human and porcine hepatitis E virus strains, United Kingdom. *Emerging Infectious Disease* 10(5), 953-955.
- Barnaud E, Rogee S, Garry P, Rose N, Pavio N (2012) Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Applied and environmental microbiology* 78(15), 5153-9.
- Bendall R, Ellis V, Ijaz S, Ali R, Dalton H (2010) A comparison of two commercially available anti-HEV IgG kits and a re-evaluation of anti-HEV IgG seroprevalence data in developed countries. *Journal of Medical Virology* 82(5), 799-805.
- Berto A, Martelli F, Grierson S, Banks M (2012) Hepatitis E virus in pork food chain, United kingdom, 2009-2010. *Emerging Infectious Disease* 18(8), 1358-60.
- Bohme P, Hadjadj S, Buisson Y, Garin D, Talarmin F (1998) Hépatite virale E aiguë autochtone en Lorraine. *Gastroentérologie clinique et biologique* 22(2), 245-6.
- Bouquet J, Tesse S, Lunazzi A, Eloit M, Rose N, Nicand E, Pavio N (2011) Close similarity between sequences of hepatitis E virus recovered from humans and swine, France, 2008-2009. *Emerging Infectious Disease* 17(11), 2018-25.
- Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N (2007) Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *Journal of Clinical Microbiology* 45(6), 2009-10.

- Bouwknegt M, Frankena K, Rutjes SA, Wellenberg GJ, Husman AMDR, Poel WHMVD, Jong MCMD (2008) Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Veterinary Research* 39(5).
- Bouwknegt M, Lodder-Verschoor F, Van Der Poel WHM, Rutjes SA, Husman AMDR (2007) Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *Journal of Food Protection* 70(12), 2889-2895.
- Bouwknegt M, Rutjes SA, Reusken CB, Stockhofe-Zurwieden N, Frankena K, de Jong MC, de Roda Husman AM, Poel WH (2009) The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation. *BMC Veterinary Research* 5(7).
- Bouwknegt M, Teunis PFM, Frankena K, de Jong MCM, de Roda Husman AM (2011) Estimation of the likelihood of fecal-oral HEV transmission among pigs. *Risk Analysis* 31(6), 940-950.
- Breum SO, Hjulsgaard CK, de Deus N, Segalés J, Larsen LE (2010) Hepatitis E virus is highly prevalent in the Danish pig population. *Veterinary Microbiology*.
- Carpentier A, Chaussade H, et al. (2012) High hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France. *Journal of Clinical Microbiology* 50(9), 2888-93.
- Casas M, Cortés R, Pina S, Peralta B, Allepuz A, Cortey M, Casal J, Martin M (2011) Longitudinal study of hepatitis E virus infection in Spanish farrow-to-finish swine herds. *Veterinary Microbiology* 148(1), 27-34.
- Casas M, Pina S, de Deus N, Peralta B, Martin M, Segalés J (2009) Pigs orally inoculated with swine hepatitis E virus are able to infect contact sentinels. *Veterinary Microbiology* 138(1-2), 78-84.
- Casas M, Pina S, Peralta B, Mateu E, Casal J, Martin M (2011) Comparison of muscle fluid and serum for detection of antibodies against hepatitis E virus in slaughter pigs. *Veterinary Journal* 190(1), 179-180.
- Chaussade H (2012) Thèse de doctorat en médecine : Séroprévalence de l'hépatite E en France chez les travailleurs en contact avec les réservoirs animaux. Académie d'Orléans -Tours, Université François-Rabelais.,
- Colson P, Borentain P, Motte A, Lagrange X, Kaba M, Henry M, Tamalet C, Gerolami R (2007) First human cases of hepatitis E infection with genotype 3c strains. *Journal of clinical virology* 40(4), 318-20.
- Colson P, Borentain P, Queyriaux B, Kaba M, Moal V, Gallian P, Heyries L, Raoult D, Gerolami R (2010) Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *The Journal of infectious diseases* 202(6), 825-34.
- Colson P, Coze C, Gallian P, Henry M, De Micco P, Tamalet C (2007) Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerging Infectious Disease* 13(4), 648-9.
- Colson P, Romanet P, Moal V, Borentain P, Purgus R, Benezech A, Motte A, Gerolami R (2012) Autochthonous infections with hepatitis E virus genotype 4, France. *Emerging Infectious Disease* 18(8), 1361-4.
- Cooper K, Huang FF, Batista L, Rayo CD, Bezanilla JC, Toth TE, Meng XJ (2005) Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human populations. *Journal of Clinical Microbiology* 43(4), 1684-1688.
- Corne P, Yeche S, Gal E, Alquier Y, Reynaud D, Dubois F, Dubois A (1997) Hépatite virale E autochtone dans le Languedoc-Roussillon. *La Presse Médicale* 26(4), 166.
- Coton T, Delpy R, Hance P, Carré D, Guisset M (2005) Hépatite virale E autochtone dans le sud-est de la France: Deux observations. *La Presse Médicale* 34(9), 651-654.
- De Deus N, Casas M, Peralta B, Nofrarias M, Pina S, Martin M, Segales J (2008) Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. *Veterinary Microbiology* 132(1-2), 19-28.
- De Deus N, Peralta B, et al. (2008) Epidemiological study of hepatitis E virus infection in European wild boars (*Sus scrofa*) in Spain. *Veterinary Microbiology* 129(1-2), 163-70.

- De Deus N, Seminati C, Pina S, Mateu E, Martin M, Segales J (2007) Detection of hepatitis E virus in liver, mesenteric lymph node, serum, bile and faeces of naturally infected pigs affected by different pathological conditions. *Veterinary Microbiology* 119(2-4), 105-114.
- De Ledinghen V, Mannant PR, Barrioz T, Beauchant M (1996) Hépatite virale E aiguë dans la région Poitou-Charentes. *Gastroentérologie clinique et biologique* 20(2), 210.
- Deest G, Zehner L, Nicand E, Gaudy-Graffin C, Goudeau A, Bacq Y (2007) [Autochthonous hepatitis E in France and consumption of raw pig meat]. *Gastroentérologie clinique et biologique* 31(12), 1095-7.
- Di Bartolo I, Diez-Valcarce M, Vasickova P, Kralik P (2012) Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain, 2010. *Research* 18(8).
- Di Bartolo I, Martelli F, Inglese N, Pourshaban M, Caprioli A, Ostanello F, Ruggeri FM (2008) Widespread diffusion of genotype 3 hepatitis E virus among farming swine in Northern Italy. *Veterinary Microbiology* 132(1-2), 47-55.
- Dos Santos DRL, Vitral CL, *et al.* (2009) Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. *Veterinary Journal* 182(3), 474-480.
- Dupuy O, Mayaudon H, Bauduceau B, Perrier E, Nizou C, Pottier V, Buisson Y (1998) Nouveau cas d'hépatite E aiguë en France. *La Revue de médecine interne* 19(6), 448-9.
- Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ (2008) Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *International journal of food microbiology* 123(1-2), 32-7.
- Fernandez-Barredo S, Galiana C, Garcia A, Gomez-Munoz MT, Vega S, Rodriguez-Iglesias MA, Perez-Gracia MT (2007) Prevalence and genetic characterization of hepatitis E virus in paired samples of feces and serum from naturally infected pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 71(3), 236-240.
- Fernandez-Barredo S, Galiana C, Garcia A, Vega S, Gomez MT, Perez-Gracia MT (2006) Detection of hepatitis E virus shedding in feces of pigs at different stages of production using reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 18(5), 462-465.
- Forgach P, Nowotny N, Erdélyi K, Boncz A, Zentai J, Szucs G, Reuter G, Bakonyi T (2010) Detection of Hepatitis E virus in samples of animal origin collected in Hungary. *Veterinary Microbiology* 143(2-4), 106-116.
- Giuffrida S, Troia R, Schiraldi C, D'Agostino A, De Rosa M, Cordone L (2011) MbCO embedded in trehalosyldextrin matrices: thermal effects and protein-matrix coupling. *Food Biophysics* 6(2), 217-226.
- Hakze-van der Honing RW, van Coillie E, Antonis AF, van der Poel WH (2011) First isolation of hepatitis E virus genotype 4 in Europe through swine surveillance in the Netherlands and Belgium. *PLoS One* 6(8), e22673.
- Hosmillo M, Jeong YJ, *et al.* (2010) Molecular detection of genotype 3 porcine hepatitis E virus in aborted fetuses and their sows. *Archives of Virology* 155(7), 1157-1161.
- Ifip (2012) Analyse des résultats porcs, région Bretagne.
- InVS, CIRE (2007) Investigation d'une épidémie d'hépatite E à Peyrolles-en-Provence (Bouches-du-Rhône) et à Gap (Alpes-de-Haute-Provence). InVS Cire Sud.
- Jinshan, Jirintai, Manglai D, Takahashi M, Nagashima S, Okamoto H (2010) Molecular and serological survey of hepatitis E virus infection among domestic pigs in Inner Mongolia, China. *Archives of Virology* 155(8), 1217-1226.
- Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, Meng XJ, Hill VR (2006) A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *Journal of virological methods* 131(1), 65-71.
- Kaba M, Davoust B, Marié JL, Barthet M, Henry M, Tamalet C, Raoult D, Colson P (2009) Frequent transmission of hepatitis E virus among piglets in farms in Southern France. *Journal of Medical Virology* 81(10), 1750-1759.

- Kamar N, Bendall RP, *et al.* (2011) Hepatitis E virus and neurologic disorders. *Emerging Infectious Disease* 17(2), 173-9.
- Kanai Y, Tsujikawa M, Yunoki M, Nishiyama S, Ikuta K, Hagiwara K (2011) Long-term shedding of hepatitis E virus in the feces of pigs infected naturally, born to sows with and without maternal antibodies. *Journal of Medical Virology* 82(1), 69-76.
- Kasorndorkbua C, Guenette DK, Huang FF, Thomas PJ, Meng X-J, Halbur PG (2004) Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *Journal of Clinical Microbiology* 42(11), 5047-5052.
- Kasorndorkbua C, Halbur PG, Thomas PJ, Guenette DK, Toth TE, Meng XJ (2002) Use of a swine bioassay and a RT-PCR assay to assess the risk of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *Journal of Virological Methods* 101(1-2), 71-78.
- Kasorndorkbua C, Thacker BJ, Halbur PG, Guenette DK, Buitenwerf RM, Royer RL, Meng XJ (2003) Experimental infection of pregnant gilts with swine hepatitis E virus. *Canadian Journal of Veterinary Research* 67(4), 303-306.
- Kingsley DH, Chen H (2009) Influence of pH, salt, and temperature on pressure inactivation of hepatitis A virus. *International journal of food microbiology* 130(1), 61-64.
- Klobasa F, Butler JE, . (1987) Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers. *American Journal of Veterinary Research* 48(2), 176-182.
- Leblanc D, Ward P, Gagne M-J, Poitras E, Muller P, Trottier Y-L, Simard C, Houde A (2007) Presence of hepatitis E virus in a naturally infected swine herd from nursery to slaughter. *International journal of food microbiology* 117(2), 160-166.
- Lees D, Tag CW (2010) International standardisation of a method for detection of human pathogenic viruses in molluscan shellfish. *Food and Environmental Virology* 2(3), 146-155.
- Legrand-Abravanel F, Kamar N, *et al.* (2010) Characteristics of autochthonous hepatitis E virus infection in solid-organ transplant recipients in France. *J Infect Dis.* 2010 Sep 15; 202(6):835-44.
- Lepoutre A, Antona D, Fonteneau L, Baudon C, Halftermeyer-Zhou F, Le Strat Y (2011) Enquête nationale de séroprévalence des maladies infectieuses 2009-2010, 1er résultats. Communication orale, 12ème Journées nationales d'infectiologie, Toulouse, France.
- Mansuy JM, Bendall R, *et al.* (2011) Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerging Infectious Disease* 17(12), 2309-12.
- Mansuy JM, Legrand-Abravanel F, Calot JP, Peron JM, Alric L, Agudo S, Rech H, Destruel F, Izopet J (2008) High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. *Journal of Medical Virology* 80(2), 289-93.
- Martelli F, Caprioli A, Zengarini M, Marata A, Fiegna C, Di Bartolo I, Ruggeri FM, Delogu M, Ostanello F (2008) Detection of hepatitis E virus (HEV) in a demographic managed wild boar (*Sus scrofa scrofa*) population in Italy. *Veterinary Microbiology* 126(1-3), 74-81.
- Martelli F, Toma S, Di Bartolo I, Caprioli A, Ruggeri FM, Lelli D, Bonci M, Ostanello F (2010) Detection of Hepatitis E Virus (HEV) in Italian pigs displaying different pathological lesions. *Research in Veterinary Science*.
- Martin-Latil S, Hennechart-Collette C, Guillier L, Perelle S (2012) Duplex RT-qPCR for the detection of hepatitis E virus in water, using a process control. *International journal of food microbiology* 157(2), 167-73.
- McCreary C, Martelli F, Grierson S, Ostanello F, Nevel A, Banks M (2008) Excretion of hepatitis E virus by pigs of different ages and its presence in slurry stores in the United Kingdom. *Veterinary Record* 163(9), 261-265.
- Meng X-J, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU (1997) A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(18), 9860-9865.
- Mennecier D, Nicand E, Grandadam M, Bronstein JA, Thiolet C, Farret O, Buisson Y, Molinier C (2000) Hépatite virale E subfulminante en France. *Gastroentérologie clinique et biologique* 24(4), 467-9.

- Nakai I, Kato K, Miyazaki A, Yoshii M, Li TC, Takeda N, Tsunemitsu H, Ikeda H (2006) Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis E virus at three Japanese swine farms. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 75(6), 1171-1177.
- Nicand E, Bigaillon C, Tessé S (2009) Hépatite E en France : données de surveillance des cas humains, 2006-2008. *BEH* 31-32, 338-42.
- Nicand E, Enouf V, Caron M (2005) Hépatite E, bilan d'activité du Centre national de référence des hépatites entéro-transmissibles, France, 2002-2004. *BEH* 33, 167-8.
- Payne A, Rossi S, *et al.* (2011) Bulletin épidémiologique santé animale-alimentation (Anses) : bilan sanitaire du sanglier vis-à-vis de la trichinellose, de la maladie d'Aujeszky, de la brucellose, de l'hépatite E et des virus influenza porcins en France.
- Peron J-M, Mansuy J-M, Poirson H, Bureau C, Dupuis E, Alric L, Izopet J, Vinel J-P (2006) Hepatitis E is an autochthonous disease in industrialized countries. *Gastroentérologie clinique et biologique* 30(5), 757-762.
- Peron JM, Bureau C, Poirson H, Mansuy JM, Alric L, Selves J, Dupuis E, Izopet J, Vinel JP (2007) Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *Journal of viral hepatitis* 14(5), 298-303.
- Renou C, Moreau X, *et al.* (2008) A national survey of acute hepatitis E in France. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 27(11), 1086-93.
- Rogee S, Talbot N, Caperna T, Bouquet J, Barnaud E, Pavio N (2012) New models of hepatitis E virus replication in human and porcine hepatocyte cell lines. *Journal of General Virology*.
- Rose N, Boutrouille A, Fablet C, Madec F, Eloit M, Pavio N (2010) The use of Bayesian methods for evaluating the performance of a virus-like particles-based ELISA for serology of hepatitis E virus infection in swine. *Journal of Virological Methods* 163(2), 329-335.
- Rose N, Lunazzi A, Dorenlor V, Merbah T, Eono F, Eloit M, Madec F, Pavio N (2011) High prevalence of Hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 34(5), 419-27.
- Rutjes SA, Lodder-Verschoor F, Lodder WJ, van der Giessen J, Reesink H, Bouwknegt M, de Roda Husman AM (2010) Seroprevalence and molecular detection of hepatitis E virus in wild boar and red deer in The Netherlands. *Journal of virological methods* 168(1-2), 197-206.
- Sakano C, Morita Y, *et al.* (2009) Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) and pigs in Gunma Prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Sciences* 71(1), 21-5.
- Schielke A, Sachs K, Lierz M, Appel B, Jansen A, Johne R (2009) Detection of hepatitis E virus in wild boars of rural and urban regions in Germany and whole genome characterization of an endemic strain. *Virology Journal* 6, 58.
- Seminati C, Mateu E, Peralta B, de Deus N, Martin M (2008) Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *Veterinary Journal* 175(1), 130-132.
- Sonoda H, Abe M, *et al.* (2004) Prevalence of hepatitis E virus (HEV) Infection in wild boars and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 42(11), 5371-4.
- Takahashi M, Nishizawa T, Tanaka T, Tsatsralt-Od B, Inoue J, Okamoto H (2005) Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *Journal of General Virology* 86(6), 1807-1813.
- Tanaka T, Takahashi M, Kusano E, Okamoto H (2007) Development and evaluation of an efficient cell-culture system for Hepatitis E virus. *Journal of General Virology* 88(Pt 3), 903-11.
- Tesse S, Lioure B, Fornecker L, Wendling MJ, Stoll-Keller F, Bigaillon C, Nicand E (2012) Circulation of genotype 4 hepatitis E virus in Europe: first autochthonous hepatitis E infection in France. *Journal of Clinical Microbiology* 54(2), 197-200.

Thiry D, Mauroy A, Brochier B, Thomas I, Miry C, Czaplicki G, Linden A, Thiry E (2012) Hepatitis E virus infection in domestic swine, wild boar and human in Belgium. Oral communication, IXth International congress of veterinary virology, Madrid, Spain.

Wu JC, Chen CM, Chiang TY, Tsai WH, Jeng WJ, Sheen IJ, Lin CC, Meng XJ (2002) Spread of hepatitis E virus among different-aged pigs: two-year survey in Taiwan. *Journal of Medical Virology* 66(4), 488-492.

Zhang H, Mohn U, Prickett JR, Schalk S, Motz M, Halbur PG, Feagins AR, Meng XJ, Opriessnig T (2011) Differences in capabilities of different enzyme immunoassays to detect anti-hepatitis E virus immunoglobulin G in pigs infected experimentally with hepatitis E virus genotype 3 or 4 and in pigs with unknown exposure. *Journal of Virological Methods* 175(2), 156-162.

Zhang W, Yang S, *et al.* (2009) Hepatitis e virus infection in central china reveals no evidence of cross-species transmission between human and swine in this area. *PLoS One* 4(12), 1-9.

ANNEXE(S)

Annexe I: Eléments de contexte des travaux de l'Agence sur cette thématique

Participation à des travaux d'études et de recherche

Concernant la prévalence du virus et l'évaluation du risque de transmission zoonotique

L'Anses participe à des projets nationaux ayant pour objectifs d'évaluer la prévalence du virus de l'hépatite E dans le réservoir porcin, la faune sauvage et d'évaluer le risque de transmissions zoonotiques du virus de l'hépatite E par l'alimentation (programme ANR HEVZOOONEPI).

De plus, une étude est actuellement en cours afin d'estimer la prévalence apparente et la charge virale en virus de l'hépatite E dans le muscle de porc au stade de l'abattage. Ce travail est mené en partenariat avec l'Institut Français du porc (IFIP).

Par ailleurs, une étude est également en cours afin d'estimer la prévalence apparente et la charge virale en virus de l'hépatite E dans les produits à base de foie de porc cru destinés à être consommés crus ou cuits.

Concernant la dynamique du virus

L'Anses anime un projet s'intéressant à la dynamique du virus de l'hépatite E dans les écosystèmes associés, des élevages de porcs à l'environnement jusqu'aux coquillages (programme ANR HEVECODYN).

Concernant l'impact des procédés de cuisson sur le devenir du virus

Une étude sur l'impact des procédés de cuisson sur le devenir du virus de l'hépatite E a été réalisée en 2010 en collaboration avec l'IFIP.

Concernant la mise en évidence de virus infectieux dans les prélèvements VHE positifs

L'Anses développe des modèles de culture du VHE *in vitro* afin de corréliser une détection moléculaire positive du VHE à la présence de particules infectieuses. Une étude sur la présence de virus infectieux dans des produits à base de foie de porc cru a été réalisée en collaboration avec deux laboratoires européens (Royaume-Uni et Pays-Bas) (Berto, Martelli *et al.* 2012). Une autre étude a été réalisée dans deux modèles d'hépatocytes humains et porcins à partir de prélèvements animaux (foie, fèces, bile) (Rogee, Talbot *et al.* 2012).

Avis d'évaluation rendus par l'Agence

L'Anses a rendu plusieurs avis et produits d'expertise en lien avec l'évaluation du risque lié au virus de l'hépatite E.

Avis de l'Afssa du 30 avril 2009 relatif au risque de contamination humaine par le virus de l'hépatite E (VHE) après ingestion de figatelli (saucisses crues à base de foie de porc) ()
<http://www.anses.fr/Documents/MIC2009sa0101.pdf> . Cet avis a été rendu en urgence, en réponse à la saisine 2009-SA-0101 de la DGAL, après consultation d'un groupe d'expertise collective d'urgence (GECU) *ad hoc* créé.

Cet avis fait suite à la déclaration par le P^r René Gerolami, responsable du service d'hépatogastro-entérologie de l'hôpital marseillais de la Conception et par le D^r Philippe Colson du laboratoire de virologie de la Timone (Marseille), d'une vingtaine de cas humains d'hépatite E chaque année à l'Assistance publique de Marseille. Ils ont montré que le point commun à ces malades était l'ingestion de figatelli crus et communiqué à ce sujet le 10 avril 2009. Cette communication a largement été relayée par la presse locale et nationale. Dans ce contexte, l'Afssa a été saisie en urgence par la DGAL. L'avis en réponse à cette demande apporte des informations sur :

- le contexte et la situation épidémiologique liés à ce virus ;

- des éléments d'information sur ce danger ;
- des éléments d'information sur les saucisses crues à base de foie de porc ;
- des réponses aux questions posées par la DGAL concernant le risque pour le consommateur, l'impact du séchage et l'impact de la cuisson.

Avis de l'Afssa du 23 septembre 2009 relatif au virus de l'hépatite E : méthodes de détection, risques pour le consommateur et risques liés à l'environnement (en réponse à la saisine 2009-SA-0146 de la DGAL/DGS) <http://www.anses.fr/Documents/MIC2009sa0146.pdf> . Cet avis a été rendu après consultation du groupe d'expertise collective d'urgence dédié, et des comités d'experts spécialisés (CES) « Microbiologie » et « Santé animale » de l'Agence.

Cet avis apporte des réponses aux questions identifiées dans les saisines 2009-SA-0101 et 2009-SA-0146. Il constitue donc un document global sur la thématique « virus de l'hépatite E » incluant :

- les éléments fournis dans l'avis de l'Afssa du 30 avril 2009 (en réponse à la saisine 2009-SA-0101), sur les questions suivantes :
 - o la consommation de saucisses crues à base de foie de porcs (telles que les figatelli, les saucisses de foie de Toulouse) porteurs du virus de l'hépatite E est-elle susceptible de présenter un risque pour la santé du consommateur ?
 - o un séchage de ces produits est-il de nature à diminuer le risque pour la santé du consommateur ? et si oui, quel protocole de séchage doit être recommandé ?
 - o un traitement par la cuisson de ces produits est-il de nature à diminuer le risque pour la santé du consommateur ? et si oui, quel protocole de cuisson doit être recommandé ?
- des éléments de réponse sur les risques de contamination par le virus de l'hépatite E via la consommation de viande de porcs, de sangliers et de cervidés ;
- des éléments de réponse aux trois questions de la saisine 2009-SA-0146 :
 - o un avis sur les méthodes de détection du VHE disponibles en fonction de la nature de la matrice (foie, produit fini sec, cru ou cuit) ainsi que sur les conditions de leur utilisation (en routine, autre...) ;
 - o un avis, et le cas échéant un protocole d'étude ayant pour objectif l'acquisition de données spécifiques, sur le comportement du VHE dans les produits en cours de cuisson et dans les produits séchés, salés ou fumés, en fonction de la charge virale initiale, afin d'évaluer l'impact de ces différents traitements sur l'inactivation du VHE et de proposer des modalités pratiques de traitement efficaces ;
 - o un avis sur les conditions de persistance virale dans le lisier des élevages porcins et sur l'existence d'un risque lié à l'épandage des lisiers de porc et sur les procédés d'inactivation, le cas échéant.

Avis de l'Anses du 4 octobre 2010 relatif à la proposition d'un plan d'échantillonnage pour l'organisation en 2011 d'un plan de surveillance de la contamination par le virus de l'hépatite E (VHE) des produits à base de foie de porc cru (en réponse à la saisine 2010-SA-0170 de la DGAL).

Ce plan, qui couvre l'année 2011, prévoit la réalisation de 400 prélèvements dans 40 établissements produisant des produits à base de foie de porc (saucisse de foie, quenelle de foie, figatelli et foie salé séché). Il a pour objectif de déterminer la prévalence apparente de la contamination par le VHE des produits à base de foie cru de porc.

Avis de l'Anses du 13 octobre 2010 relatif aux capacités analytiques en matière de détection du virus de l'hépatite E dans les produits à base de foie de porc cru (en réponse à la saisine 2010-SA-0171 de la DGAL).

Le virus de l'hépatite E est difficilement cultivable *in vitro* et sa détection est essentiellement moléculaire. En l'absence de normes et de méthodes standardisées pour la détection de ce virus, des méthodes d'analyses qualitatives et quantitatives ont été développées et validées en interne dans les laboratoires de l'Anses. Ces techniques permettent de détecter le génome du VHE dans des prélèvements animaux et dans des matrices alimentaires carnées.

Fiche de description du danger microbien transmissible par les aliments relative au virus de l'hépatite E datée de novembre 2010 (en réponse à l'autosaisine 2010-SA-0145 de l'Agence) <http://www.anses.fr/Documents/MIC-Fi-HepatitisE.pdf>. Cette fiche a été validée par les CES « Microbiologie » et « Santé animale » de l'Anses.

Cette fiche didactique, à destination des professionnels des industries agroalimentaires, présente des informations relatives aux caractéristiques de ce virus (caractéristiques biologiques, sources, voies de transmission), à la maladie humaine d'origine alimentaire (nature de la maladie, éléments concernant les relations dose/effet et dose/réponse, données épidémiologiques), sur le rôle des aliments (principaux aliments à considérer, traitements d'inactivation en milieu industriel, surveillance dans les aliments), à l'hygiène domestique.

Ces éléments pourront être utiles aux professionnels pour la prise en considération de ce danger biologique dans le cadre de la rédaction de leurs guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP.

Annexe II: Prévalence virologique du VHE en fonction de l'âge des porcs selon la littérature

Pays	Nombre de porcs prélevés	Age des porcs	Prévalence ARN VHE (%)			Source
			Fèces	Sérum	Bile	
France	100 porcs	3 mois	65	22	-	(Kaba, Davoust <i>et al.</i> 2009)
	107 porcs	6 mois	0	0	0	
Espagne	19 sérums, 8 fèces	3-6 sem.	0	0	-	(Seminati, Mateu <i>et al.</i> 2008)
	6 sérums, 5 fèces	8-10 sem.	100	66,7	-	
	15 sérums, 10 fèces	12-13 sem.	40	86,7	-	
	10 sérums, 5 fèces	22 sem.	0	0	-	
Espagne	ND	<1 mois		0		(De Deus, Seminati <i>et al.</i> 2007)
	23	1 mois		30		
	17	2 mois		47		
	20	3 mois		55		
	ND	>3 mois		0		
Espagne	20 porcs	0-4 sem.	10	20	-	(Fernandez-Barredo, Galiana <i>et al.</i> 2007)
	22 porcs	5-12 sem.	41	32	-	
	20 porcs	13-20 sem.	5	10	-	
	27 porcs	21-24 sem.	7	11	-	
Espagne	18	maternité	11,1	-	-	(Fernandez-Barredo, Galiana <i>et al.</i> 2006)
	24	Post-sevrage	41,7	-	-	
	20	1 ^{er} mois Eng	60	-	-	
	20	2 ^{ème} mois Eng	5	-	-	
	28	3 ^{ème} mois Eng	7,1	-	-	
Taiwan	11 sérums	<2 mois	0/20	0	-	(Wu, Chen <i>et al.</i> 2002)
	67 sérums	2 mois	9/22	4,5	-	
	255 sérums	3-4 mois		1,2	-	
	112 sérums	5-6 mois		1,8	-	
	76 sérums	>7 mois	8/12	0	-	
Italie	64 porcs	<120 jours	42,2	-	-	(Di Bartolo, Martelli <i>et al.</i> 2008)
	37 porcs	>120 jours	27	-	-	
Canada	51 porcs	2 semaines	11,8	0	-	(Leblanc, Ward <i>et al.</i> 2007)
	51 porcs	8 semaines	52,9	2	-	
	51 porcs	18 semaines	86,2	47,1	-	
	51 porcs	22-29 sem.	41,2	11,8	-	
Royaume Uni	50 porcs	3-5 sem.	26	-	-	(McCreary, Martelli <i>et al.</i> 2008)
	50 porcs	10-12 sem.	44	-	-	
	45 porcs	22-24 sem.	8,9	-	-	
Hongrie	204 porcs totaux	1-4 sem.	9	-	-	(Forgach, Nowotny <i>et al.</i> 2010)
		5-10 sem.	27	-	-	
		11-16 sem.	36	-	-	
		>17 sem.	10	-	-	
Danemark	32 porcs	4-8 sem.	21,9	-	-	(Breum, Hjulsager <i>et al.</i> 2010)
	33 porcs	9-12 sem.	54,5	-	-	
	32 porcs	13-22 sem.	71,9	-	-	
Thaïlande	26 porcs	2-4 mois	-	39	-	(Cooper, Huang <i>et al.</i> 2005)
	50 porcs	autres	-	0	-	
Mexique	92 fèces, 125 sérums	2-4 mois	31	6,4	-	
Italie	85 porcs	80-120 jours	-	-	46,9	(Martelli, Toma <i>et al.</i> 2010)
	49 porcs	<80 jours	-	-	20	
Chine	167 porcs	<10 sem.	6,6	-	-	(Zhang, Yang <i>et al.</i> 2009)
	143 porcs	10-15 sem.	9,8	-	-	
	135 porcs	16-20 sem.	6,7	-	-	
	109 porcs	>20 sem.	4,6	-	-	
Chine, Mongolie	101 porcs	2 mois	-	7	-	(Jinshan, Jirintai <i>et al.</i> 2010)
	132 porcs	3 mois	-	9	-	
	123 porcs	4 mois	-	9	-	
Belgique	420 porcs	< 6 mois		4		(Thiry D, Mauroy A <i>et al.</i> 2012)