

Caractérisation de la résistance thermique du virus de l'hépatite E

BARNAUD E (1), ROSE N (2), GARRY P (3), KERANFLECH' A (4), ROGEE S (1), BOUQUET J (1), MERBAH T (1), PAVIO N (1).

(1) UMR de virologie 1161, INRA-ENVA-ANSES laboratoire de santé animale, 23 avenue du Général de Gaulle 94704 Maisons-Alfort cedex, France.

(2) Unité EBEP, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, ANSES, BP 53, 22440 Ploufragan, France.

(3) IFIP, 7 avenue du Général de Gaulle 94704 Maisons-Alfort cedex, France.

(4) Service de production de porcs assainis pour l'expérimentation, ANSES, BP 53, 22440 Ploufragan, France.



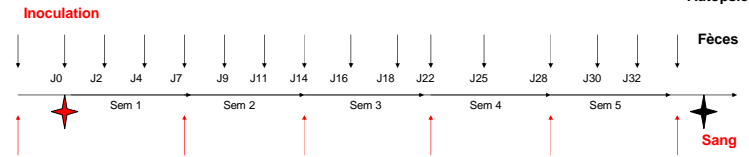
Introduction : Le virus de l'hépatite E (VHE) est un petit virus non enveloppé à ARN simple brin de polarité positive. Classé dans la famille des *Hepeviridae*, il est le seul représentant du genre *Hepevirus*. Le VHE est responsable chez l'homme, de larges épidémies d'hépatites aiguës à transmission entérique dans les régions où il est endémique et de cas sporadiques en régions non endémiques. L'homme n'est pas le seul hôte naturel de ce virus et sa présence chez de nombreuses espèces animales laisse supposer qu'il s'agit d'un agent zoonotique. Le porc est le principal réservoir animal du VHE. Lorsque l'animal est infecté, l'organe cible est essentiellement le foie. Le VHE peut être retrouvé dans les foies vendus dans le commerce avec une fréquence variable en fonction des études : de 2 à 11%. En France, une enquête a été réalisée sur des foies prélevés à l'abattoir et une prévalence de 4% a été estimée. Chez l'homme, la surveillance VHE est réalisée par le Centre National de Référence. En 2009, 261 cas humains ont été recensés et parmi eux 74% étaient autochtones, c'est-à-dire non importés des régions d'endémie. L'origine de ces cas autochtones n'est pas encore bien identifiée mais plusieurs cas ont été associés à la consommation de préparations à base de foie de porc cru (Colson et al., 2010).

Objectifs : Dans ce contexte, afin de connaître les risques alimentaires liés à la consommation de viande de porc, il est important de caractériser l'impact du traitement thermique sur le devenir du VHE dans des produits contenant du foie.

Matériels et méthodes : Il n'existe pas de système de culture cellulaire du VHE permettant de mettre en évidence la présence de virus infectieux. Par contre, un modèle d'infection expérimentale chez le porc est disponible. Dans le cadre de la présente étude, un bio-essai a été mené chez 34 porcs et 6 porcs contrôles. Les inocula sont constitués de mêlées contenant 30% de foie infecté (10^8 génome équivalent de VHE/g) et 48% de matières grasses. Ces mêlées ont été soumises à différents traitements selon les couples « temps-température » 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 ou aucun traitement (contrôle positif). Trois à quatre animaux ont été inoculés par voie intraveineuse pour ces différentes mêlées. L'infection des animaux a été suivie par détection de l'excrétion fécale du VHE par RT-PCR et détection de la séroconversion en suivant l'apparition des anticorps (IgM/IgG) anti-VHE par ELISA (MP Biomedicals).

Méthodes :

Bio-essai chez le porc



Numéro	Inoculum	Température	Temps de cuisson
1	mêlée VHE+	71°C	5'
2	mêlée VHE+	71°C	10'
3	mêlée VHE+	71°C	20'
4	mêlée VHE+	68°C	5'
5	mêlée VHE+	68°C	10'
6	mêlée VHE+	68°C	20'
7	mêlée VHE+	62°C	5'
8	mêlée VHE+	62°C	20'
9	mêlée VHE+	62°C	120'
10	mêlée VHE+	-	-
11	RAS	-	-

Résultats :

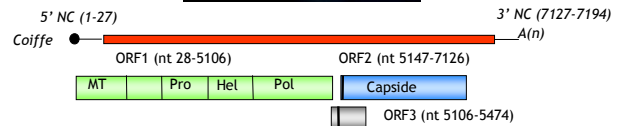
Séroconversion des animaux - Détection des anticorps anti-VHE (IgM-IgG) par ELISA à J35

Lot	Temp	min	J35
1	71°C	5'	1/3
2	71°C	10'	2/3
3	71°C	20'	0/4
4	68°C	5'	0/3
5	68°C	10'	0/3
6	68°C	20'	2/4
7	62°C	5'	1/3
8	62°C	20'	1/3
9	62°C	120'	2/4
10	-	-	3/4

Une séroconversion est observée chez la majorité des animaux infectés. Les animaux du lot 3 (71°C/20 min) semblent ne pas avoir été infectés.

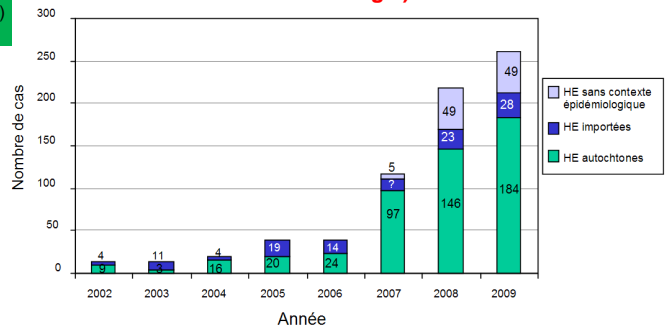
Conclusion et perspectives : Ces résultats montrent qu'un traitement thermique à une température de 71°C pendant 20 min, permet d'inactiver le VHE. En revanche, un traitement à 68°C inactive partiellement le VHE et un traitement à 62°C a peu ou pas d'effet sur la survie du VHE. Ces données vont permettre de définir les traitements thermiques à appliquer afin d'inactiver le VHE dans les produits dérivés de foie de porc. Enfin, ces résultats vont permettre de réaliser une appréciation quantitative du risque d'exposition au VHE selon les procédés de fabrication des aliments qui permettra ainsi de définir si une surveillance doit être mise en place.

Virus de l'hépatite E : Génome et protéines



- 7,2 kb, ARN + simple brin, *Hepeviridae* (Hepevirus), virus non enveloppé (27nm de diamètre), 3 ORFs:
- ORF1: protéines non structurales
- ORF2: protéine de capsid; 660 acides aminés
- ORF3: fonction inconnue, 123 acides aminés

Evolution du nombre de cas humains d'hépatite E rapportés entre 2002 et 2009 (données CNR et laboratoires Réseau Virologie)



Résultats :

Détection moléculaire du VHE dans les fèces d'animaux inoculés avec les mêlées

Lot	Temp	min	J-4 J2 J4 J7 J9 J11 J14 J16 J18 J22 J25 J28 J30 J32 J35													Fréquence d'animaux infectés par lot
			Durée d'excrétion des animaux positifs													
1	71	5'	[Orange]													2/3
2	71	10'	[Orange]													2/3
3	71	20'	[Yellow]													0/4
4	68	5'	[Orange]													1/3
5	68	10'	[Orange]													2/3
6	68	20'	[Orange]													3/4
7	62	5'	[Orange]													3/3
8	62	20'	[Orange]													3/3
9	62	120'	[Orange]													3/4
Témoin +			[Orange]													4/4
Témoin -			[Yellow]													0/6

Tous les animaux (4/4) ayant reçu la mêlée sans traitement thermique ont bien été infectés (excrétion virale dès 2 jours post-inoculation)

Décalage dans le temps du début de l'excrétion du virus qui augmente avec le traitement thermique de 62°C à 71°C

Le couple temps /température efficace pour une inactivation thermique de 10^8 copies de génome équivalent de VHE par gramme de mêlée est de 71°C, 20 min (0/4 animaux infectés)