

Dossier

—Virologie

Hépacivirus, pégivirus, TDAV :
une nouvelle triade de virus
hépatiques chez le cheval ?

WWW.

lepointveterinaire.fr

Complément de lecture :
- figure 2
https://www.lepointveterinaire.fr/bdd/166/166_4883

L'infection par ces nouveaux virus étant possible *via* des produits biologiques contaminés, la prise de précautions notamment lors des pratiques d'injections ou de transfusion est indispensable.



Stéphane Pronost^{**},
Christine Fortier^{**},
Erika Hue^{*},
Francis Desbrosse^{***},
Marc Foursin^{****},
Guillaume Fortier^{*},
Bertrand Saunier^{*****},
Pierre-Hugues Pitel^{*}

^{*} Labéo, 1, route de Rosel,

14280 Saint-Contest

^{**} Biotargen

EA7450 Unicaen,

3, rue Nelson-Mandela,

14280 Saint-Contest

^{***} Clinique équine

Desbrosse,

18, rue des Champs,

78470 Saint-Lambert

^{****} Clinique équine

de la Boisrie, La Boisrie,

61500 Chailloué

^{*****} Unité de virologie

structurale,

CNRS UMR 3569,

Institut Pasteur,

25-28, rue

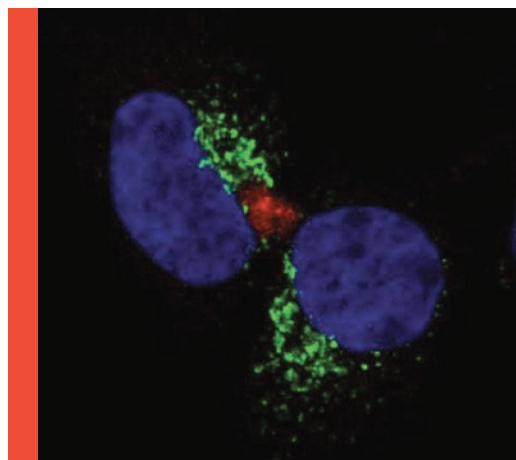
du Docteur-Roux,

75015 Paris

CONFLIT D'INTÉRÊTS : AUCUN

Chez l'homme, la plupart des hépatites sont d'origine virale. En revanche, dans l'espèce équine, leur proportion reste largement inconnue. La découverte en 2011 d'un virus présentant une étroite ressemblance avec celui de l'hépatite C (HCV) dans le sérum de plusieurs chevaux a suscité un grand intérêt. Le chimpanzé était alors le seul modèle *in vivo* à même de rassembler la plupart des composantes d'une infection par ce virus chez l'homme. Or c'est à cette période que, notamment pour des raisons éthiques, la recherche sur les grands primates a été bannie d'Europe, puis des États-Unis. Ce nouveau modèle équin a représenté alors une solution alternative pour les chercheurs travaillant sur l'HCV, et quelques équipes se sont engagées dans cette voie. La découverte d'une "triade de virus hépatiques équins" oriente également cette recherche vers les hépatites virales du cheval. Les trois virus impliqués appartiennent à la famille des *Flaviviridae* qui comprend également d'autres virus bien connus du monde vétérinaire. Celle-ci se compose, en effet, de quatre genres, dont celui des *Pestivirus*, auquel appartiennent les virus de la diarrhée virale bovine (BVDV) et de la peste porcine classique (CSFV). Un second genre beaucoup plus vaste regroupe les *Flavivirus* avec, parmi les plus pathogènes, les virus *tick borne* (TBEV) et *Japanese encephalitis* (JEV), provoquant des encéphalites chez l'homme et les chevaux, ainsi que les virus *West Nile*, *Usutu* et de la Dengue.

Les deux autres genres, génétiquement plus proches des *Pestivirus* sont les *Hepacivirus* et les *Pegivirus*, auxquels appartiennent les nouveaux virus hépatiques équins évoqués (figure 1 et figure 2 complémentaire sur www.lepointveterinaire.fr). Jusqu'en 2011, les différents génotypes du virus de l'hépatite C constituaient, avec le virus GBV-B,



Réplication d'un *Hepacivirus* dans des hépatocytes humains en culture. En rouge, immuno-marquage de l'incorporation de bromo-uracile dans l'ARN génomique au cours de la réplication virale ; en vert, immuno-marquage du compartiment vésiculaire entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi ; en bleu, contre-marquage des noyaux cellulaires par du DAPI.

Cliché : B. Saunier, Institut Pasteur, Paris

le genre *Hepacivirus* (photo). Après la découverte d'un *Non-Primate Hepacivirus* (NPHV), d'abord chez le chien, puis chez le cheval, ce genre s'est rapidement étendu jusqu'à comprendre 14 espèces virales (*Hepacivirus A-N*) [1, 11]. L'existence d'un genre supplémentaire entre les pestivirus et les hépacivirus était soupçonnée depuis un moment en raison de leur parenté avec les virus GBV-A et GBV-C. Anciennement dénommé virus de l'hépatite G, ce dernier infecte 15 % des êtres humains sans aucune conséquence néfaste apparente. La découverte de nombreux virus homologues dans différentes espèces animales, notamment chez des rongeurs, des chauves-souris, le cheval et l'homme, a conduit à la création d'un nouveau genre

Éléments à retenir

- ◆ La présence d'hépacivirus équins dans des produits biologiques issus de chevaux souligne le risque de contamination en cas d'injection de ces produits à des équidés, par voie sanguine notamment.
- ◆ L'élévation du taux sérique des enzymes hépatiques lors d'infections à NPHV (*Non-Primate Hepacivirus*) est inconstante.
- ◆ Même si la présence d'un virus (TDAV, pour *Theiler's disease associated virus*) associée à la maladie de Theiler a pu être observée, la preuve de l'implication du TDAV dans cette affection reste à apporter.

dénommé *Pegivirus*, comportant maintenant 11 espèces différentes (*Pegivirus A-K*) [27]. En 2013, Chandriani et coll. suggèrent qu'un virus qu'ils dénomment le *Theiler's disease-associated virus* (TDAV) pourrait être responsable de la maladie de Theiler du cheval [2]. L'analyse du génome de ce virus a également conduit à son classement parmi les pégivirus.

L'objectif de cet article est de brièvement présenter l'état des connaissances à propos de la découverte récente de ces trois virus. Une première partie est dédiée au genre *Hepacivirus* et fait le point sur le nouvel hépacivirus équin, en présentant les résultats d'une étude réalisée par notre équipe et publiée en 2017 [21]. La seconde partie consacrée au genre *Pegivirus* présente les connaissances actuelles sur les pégivirus équins (EPgV), ainsi que sur le TDAV et son implication potentielle dans la maladie de Theiler.

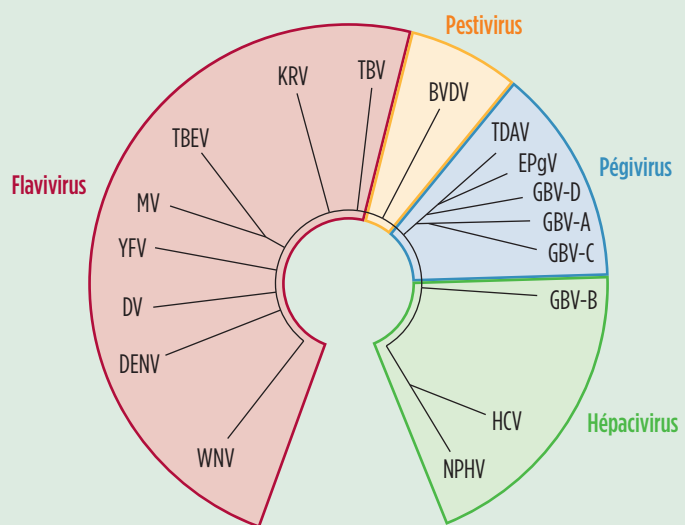
—Hépacivirus équins

État de l'art

Avec le GBV-B qui infecte les tamarins et les ouistitis, le virus de l'hépatite C était, jusqu'en 2011, le principal représentant du genre *Hepacivirus*. Les variations de séquences génomiques ont conduit à classer les différentes souches d'HCV en une seule espèce (*Hepacivirus C*) comportant 7 génotypes (notés de 1 à 7) et plus de 80 sous-types distincts. Malgré une forte parenté biologique, avec un tropisme hépatique prédominant et une pathogénicité résultant principalement de l'infection persistante de leur hôte, les génotypes et parfois leurs sous-types se distinguent par quelques particularités (par exemple, mode de transmission, sensibilité au traitement et/ou origine géographique).

Le premier hépacivirus n'infectant pas des primates (*Non-Primate Hepacivirus*) a été découvert

FIGURE 1 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA FAMILLE DES FLAVIVIRIDAE



Quatre genres appartiennent à la famille des *Flaviviridae* :

- les *Flavivirus* dont le *West Nile virus* (WNV), le *Dengue virus* (DENV), le *Yellow fever virus* (YFV), le *Modoc virus* (MV), les *Tick-borne encephalitis virus* (TBEV), le *Kamiti River virus* (KRV) et le *Tamara bat virus* (TBV) ;
- les *Pestivirus* dont le *Bovine viral diarrhea virus* (BVDV) ;
- les *Pegivirus* dont le *Theiler's disease-associated virus* (TDAV), le *GB virus* (GBV) A, le GBV-C et le GBV-D ;
- les *Hepacivirus* dont le *Non-Primate Hepacivirus* (NPHV) et l'*Hépatite C virus* (HCV).

DV : *Donggang virus* ; EPgV : *Equine Pegivirus*.

un peu par hasard par Kapoor et coll. [11]. Cette équipe utilisait des techniques de séquençage à haut débit pour rechercher la cause d'une infection respiratoire chez des chiens dans un chenil. Ils ont alors mis en évidence un nouveau virus dont le génome s'est révélé avoir la plus forte similitude de séquence connue avec celui d'HCV. Si cette découverte fortuite a ouvert la porte à l'identification de nombreux virus par *polymerase chain reaction* (PCR) (détection directe du génome viral) ou par sérologie (détection d'une

TABLEAU 1 : INFECTIONS À NPHV DANS LE MONDE

PAYS	PRÉVALENCE		CIBLE PCR	TEST qPCR	RÉFÉRENCES
	qPCR (%)	SÉROLOGIE (%)			
États-Unis	8/103 (7,8 %)	36/103 (35 %)	5'UTR	Taqman assay	[11]
Écosse	3/142 (2,1 %)	n.d.	NS3	SYBRgreen	[16]
Écosse	3/328 (< 1 %)	142/328 (43,3 %)	NS3	SYBRgreen	[17]
Allemagne	7/210 (3,3 %)	n.d.	5'UTR & NS5B	Taqman assay	[3]
Allemagne	11/433 (2,5 %)	136/433 (31,4 %)	5'UTR	Taqman assay	[18]
Japon	11/31 (34,1 %)	7/31 (22,6 %)	NS3	SYBRgreen	[25]
Japon	63/453 (13,7 %)	152/453 (33,6 %)	5'UTR	Taqman assay	[17]
Hongrie	1/1 (100 %)	n.d.	NS5B	SYBRgreen	[23]
Brésil	25/300 (8,3 %)	n.d.	NS3	SYBRgreen	[7]
Brésil	27/202 (13,4 %)	n.d.	NS5B	SYBRgreen	[5]
Chine	6/177 (64 %)	n.d.	NS5B	Nested PCR	[13]
France	64/1 033 (6,2 %)	n.d.	5'UTR	Taqman assay	[21]
Corée	14/74 (18,9 %)	n.d.	NS3	Sybergreen	[12]
Japon	n.d.	83/335 (23,4 %)	n.d.	n.d.	[9]
Italie	91/1 932 (4,7 %)	n.d.	5'UTR	Taqman assay	[4]

NPHV : Non-Primate Hepacivirus ; qPCR : quantitative polymerase chain reaction ; n.d. : non déterminé.
En gras, l'étude française.

immuno-réactivité croisée dans le sérum), elle n'a néanmoins pas été confirmée tout de suite. En effet, après avoir criblé les sérums de différentes espèces (chiens, daims, chevaux, lapins, bovins), la même équipe a trouvé un hépacivirus très proche de celui qu'elle venait d'identifier, mais chez le cheval cette fois-ci [15]. La présence chez le chien d'un hépacivirus similaire, sinon identique, ne sera confirmée que bien plus tard. Si l'expression "hépacivirus équin/canin" est parfois retrouvée dans les données publiées, c'est celle de "*Non Primate Hepacivirus*" qui s'impose actuellement pour désigner ce nouveau virus. Depuis lors, plusieurs équipes dans le monde ont recherché la présence de ce virus chez les chevaux. Quinze études ont été réalisées, soit par PCR, soit par sérologie, dans dix pays différents (tableau 1). Les prévalences d'infection par le NPHV varient de 2 à 34 % par PCR et peuvent atteindre 43 % en sérologie. De telles différences s'expliquent non seulement par des variations importantes d'effectifs, mais aussi par la race des chevaux qui composent les populations étudiées. En France et en Italie, deux études ont réuni des effectifs supérieurs à 1 000 chevaux et rapportent des prévalences d'environ 5 %, un ordre de grandeur considéré comme représentatif de la prévalence globale.

Le virion de l'hépacivirus équin (*Hepacivirus A*) est vraisemblablement un icosaèdre enveloppé contenant une capsid avec un génome à ARN monocaténaire de polarité positive qui présente de grandes similarités avec celui du virus de

l'hépatite C. Si le génome d'HCV code une polyprotéine de 3 008 à 3 033 acides aminés, la polyprotéine produite par celui du NPHV est un peu plus courte. Leurs caractéristiques sont néanmoins très proches, avec une organisation en trois protéines structurales (core, E1 et E2) et sept protéines non structurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B). Parmi les autres propriétés communes de ces deux virus, citons le tropisme hépatique et la persistance du virus chez l'hôte. Malgré une forte propension de guérisons spontanées chez les chevaux infectés par le NPHV, une étude rétrospective sur une banque de sérum a montré que le virus pouvait persister jusqu'à 12 ans [18].

L'augmentation des enzymes hépatiques en raison d'une infection par ce virus reste controversée. Deux études, réalisées au Royaume-Uni et en Hongrie, ont montré qu'une élévation modérée des γ -glutamyl-transférases (γ GT) est observable [15, 23]. En 2015, une équipe de Hanovre a pu suivre l'évolution d'un épisode infectieux survenu dans un groupe de chevaux en Allemagne [18]. Ils ont décrit la forme aiguë de la maladie avec une séroconversion associée à une élévation du taux des enzymes hépatiques (γ GT, aspartate amino-transférase et glutamate déshydrogénase [GLDH]). Une étude par hybridation *in situ* sur les tissus d'un animal mort a retrouvé le virus NPHV dans les hépatocytes. Ce tropisme hépatique du NPHV a été clairement démontré après la réalisation de deux infections expérimentales [22, 24]. Ces travaux décrivent une

ENCADRÉ 1 : LE OU LES MODES DE TRANSMISSION DU NPHV

♦ Sur le plan phylogénétique, le *Non-Primate Hepacivirus* (NPHV) est le virus le plus proche de celui de l'hépatite C (HCV). Les voies de transmission rapportées pour l'HCV ont donc été investiguées chez le cheval (**figure 3**). Une transmission expérimentale du NPHV par voie parentérale a pu être démontrée au cours des expériences réalisées par Ramsay et coll. et Scheel et coll. [22, 24]. Les travaux de Postel et coll. et, plus récemment, ceux de Lu et coll. décrivent la présence d'hépacivirus équins dans des produits biologiques issus de chevaux [14, 19]. Cela souligne le risque de contamination en cas d'injection de ces produits à des chevaux, par voie sanguine notamment. Cette éventualité n'est pas sans rappeler la situation transfusionnelle qui a perduré jusqu'à la fin des années 1980, conduisant à une épidémie d'hépatite C qui touche 3 % de la population mondiale.

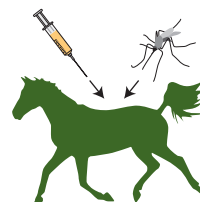
♦ Outre la voie parentérale, une transmission mère-enfant (verticale) est décrite dans 5 % des cas d'hépatite C [28]. Un cas de transmission verticale d'une jument à son poulain a été rapporté en 2015 [6]. Cette étude réalisée sur 20 juments gestantes en a identifié 4 infectées par le virus NPHV. Sur ces 4 juments, une seule a transmis le virus à son poulain, le seul dont le cordon ombilical contenait des anticorps anti-NPHV. Au cours du suivi de ces chevaux sur une période de 6 mois, 2 autres poulains issus de mères positives ont vu leur *polymerase chain reaction* (PCR) devenir positive, ce qui évoque plutôt une transmission horizontale du virus. L'hypothèse d'une transmission par voie aérienne ou par d'autres contacts a été émise sans plus de précisions.

♦ Notre équipe a récemment réalisé une étude sur des écouvillons naso-pharyngés et a détecté la présence de génomes du NPHV dans 4 des 93 échantillons analysés [20]. Ce résultat ne permet pas d'affirmer que la transmission s'effectue par voie respiratoire, mais souligne l'implication éventuelle de la sphère oro-pharyngée. D'autres travaux visent à identifier les maillons de la chaîne de transmission, tels qu'un vecteur comme le moustique ou, même si cette possibilité n'a encore jamais été rapportée, le sperme en cas d'insémination. Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ou infirmer l'implication de ces voies au cours de la transmission du virus.

FIGURE 3 : HYPOTHÈSES SUR LES DIFFÉRENTS MODES DE CONTAMINATION PAR LES HÉPACIVIRUS ÉQUINS

Par des vecteurs :

- injection de produits biologiques contaminants
- moustiques

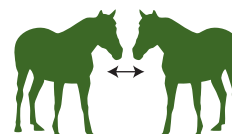


Par la semence



Contamination horizontale (contamination nez à nez) :

- contact
- voie aérienne



Contamination verticale : contamination *in utero*



forme subclinique d'hépatite à la phase virémique, caractérisée par, d'une part, une augmentation transitoire des enzymes hépatiques et, d'autre part, une nécrose modérée des hépatocytes s'accompagnant d'une inflammation périportale modérée. Toutefois, la description d'une élévation du taux sérique des enzymes hépatiques est inconstante dans les publications décrivant des infections à NPHV [21]. Cela résulte peut-être du caractère souvent transitoire de l'infection ou du faible effet cytolitique d'une infection par le NPHV, sans inflammation majeure ou chronique. Contrairement au HCV chez l'homme, aucune étude n'a décrit le développement d'une fibrose hépatique, *a fortiori* d'une cirrhose, chez les chevaux infectés de manière persistante par le NPHV. Plus largement, aucune mort des suites d'une infection par le NPHV n'a été rapportée dans les publications.

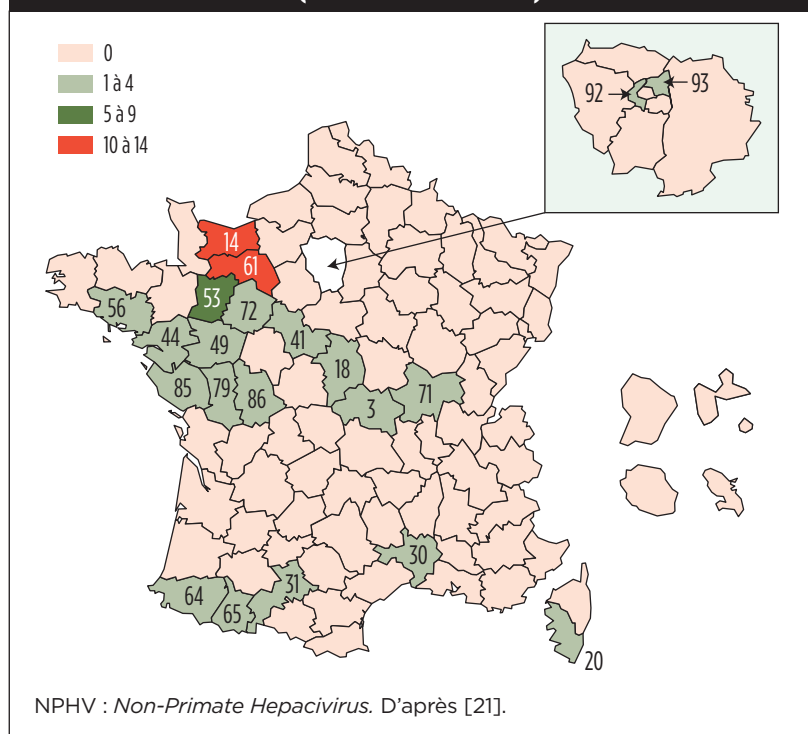
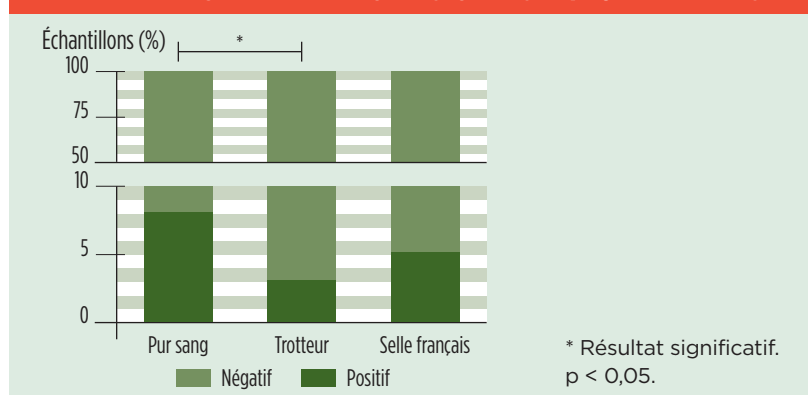
Le mode de transmission du virus n'est pas clairement établi (**encadré 1**). Le potentiel zoonotique du NPHV a été étudié par Lyons et coll. et Pfaender et coll., et aucune infection chez l'homme n'a été démontrée à ce jour [16, 18].

Quelle est la situation en France ?

La première étude de grande ampleur sur ce virus a été réalisée dans le cadre d'une collaboration entre Labéo Frank Duncombe et une équipe de l'Institut Pasteur de Paris spécialisée dans l'étude du virus de l'hépatite C [21]. Effectuée sur 1 033 sérums en 2016, cette étude a permis de démontrer pour la première fois que le NPHV infecte la population équine française (**tableau 2**). Sur des échantillons provenant de 24 départements, 64 sérums se sont révélés positifs par PCR, soit une prévalence moyenne de 6,2 % (**figure 4**). Cette étude est l'une des plus importantes réalisée actuellement sur le plan international, la taille de la population concernée en France (représentant pratiquement 50 % du nombre de virus détectés au niveau mondial), sa large distribution géographique, son échantillonnage réparti dans le temps lui conférant une représentativité supérieure à celle des essais portant sur des populations plus limitées. Ainsi, l'existence d'une prévalence accrue de cette infection était soupçonnée chez les pur-sang [18]. Grâce au grand nombre d'échantillons

TABLEAU 2 : CARACTÉRISTIQUES DES 1 033 CHEVAUX FRANÇAIS

CHEVAUX	CATÉGORIES	NOMBRE DE CHEVAUX	%
Âge (année)	1 à 4 ans	271	26,2 %
	5 à 7 ans	271	26,2 %
	8 à 11 ans	247	23,9 %
	≥ 12 ans	244	23,6 %
Genre	Hongre	158	15,3 %
	Mâle	168	16,3 %
	Femelle	707	68,4 %
Race	Pur-sang	521	50,4 %
	Selle français	268	25,9 %
	Trotteur	244	23,6 %
Total		1 033	

FIGURE 4 : RÉPARTITION DES ÉCHANTILLONS NPHV POSITIFS EN FRANCE (SUR 1 033 SÉRUMS)**FIGURE 5 : DÉTECTION DES HÉPACIVIRUS ÉQUINS DANS DIFFÉRENTES RACES DE CHEVAUX EN FRANCE**

inclus dans l'étude, augmentant la puissance de l'analyse statistique, cette possibilité a été clairement démontrée (**figure 5**). Toutefois, la cause de cette observation n'a pu être déterminée et seules quelques hypothèses peuvent être proposées. Une susceptibilité génétique plus grande chez les pur-sang, comme cela a été démontré pour le virus de l'artérite virale équine, est possible [8]. Un lien avec certaines pratiques d'élevage est aussi envisageable. À partir d'analyses phylogénétiques, une classification en deux sous-types, 1 et 2, a également été proposée (**figure 6**). L'analyse de séquences des virus détectés chez des chevaux en France a montré que la majorité des virus appartenait au premier sous-type, comme dans la plupart des autres régions du monde.

La charge virale détectée chez la plupart des chevaux était très élevée, $1,74 \times 10^7$ copies de génome/ml de sérum en moyenne. Ces valeurs sont supérieures à celles enregistrées lors des infections expérimentales réalisées par Ramsay et coll. ou Scheel et coll. [22, 24]. Aucune différence significative n'a été observée entre les taux d'enzymes hépatiques (acides biliaires, GLDH et γ GT) dans les deux populations de chevaux, "infectés" et "non infectés". Les résultats sont néanmoins en accord avec ceux obtenus dans d'autres études [11, 16-18].

—Pégivirus

Les pégivirus sont regroupés dans un genre constitué plus récemment dans la famille des *Flaviviridae* et infectent des mammifères, dont certaines espèces animales domestiques et l'homme. Le EPgV et le TDAV appartiennent tous deux au genre *Pegivirus*, mais sont bien distincts sur le plan phylogénétique.

EPgV

Très peu d'informations sont disponibles sur les EPgV. Ce virus a été découvert chez 2 chevaux, lors d'un criblage par PCR réalisé par l'équipe de Kapoor sur 12 équidés présentant des taux d'enzymes hépatiques élevés [10]. Leurs travaux n'ont toutefois pas trouvé de différence significative entre les prévalences d'infection dans cette population de chevaux et celle ne présentant pas d'augmentation des enzymes hépatiques (64 chevaux). Comme avec le NPHV, une persistance d'infections par l'EPgV a été observée, mais, jusqu'à présent, pas au-delà de

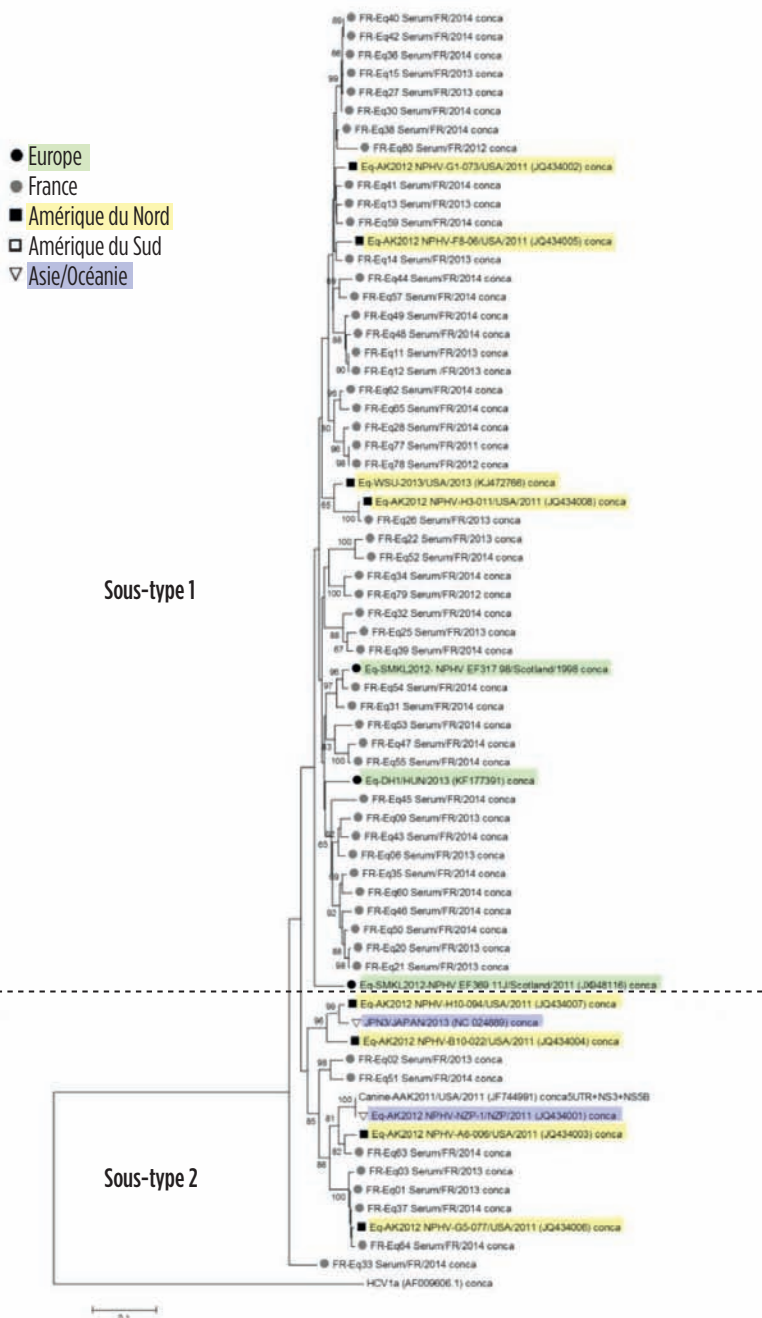
FIGURE 6 : ANALYSE PHYLOGÉNÉTIQUE DES HÉPACIVIRUS ÉQUINS CIRCULANT EN FRANCE

3 ans et demi. Les études menées par les quelques équipes s'intéressant à ce virus dans le monde ont montré une répartition mondiale comparable à celle du NPHV, avec une prévalence s'étalant de 1 à 32 % (par *real time* [RT]-PCR), mais atteignant parfois 59 % pour une recherche sérologique. Notre équipe travaille actuellement avec le Réseau d'épidémiosurveillance en pathologie équine (Respe) pour établir quelle est la situation en France. Ces données seront disponibles courant 2018.

La plupart des équipes ont démontré qu'il existait souvent une co-infection entre le NPHV et les pégivirus. Cette "association de malfaiteurs" a également été décrite par Postel et coll. dans les produits vétérinaires commerciaux contaminés et les milieux de culture à base de sérum équin [19]. Une telle co-infection a d'ailleurs perturbé les conclusions de l'infection expérimentale menée par Ramsay et coll., après une injection par voie intraveineuse de plasma contenant des EPgV, et qui en fait comportait également des NPHV [22]. Toutefois, une différence importante de tropisme semble se dégager entre ces deux virus. Si le tropisme hépatique du NPHV n'est plus discuté, ce n'est pas le cas pour l'EPgV. Le suivi par PCR de 2 poulains infectés de façon persistante n'a permis une détection d'EPgV que dans leurs leucocytes (PBMC, pour *peripheral blood mononuclear cell*). Ces données suggèrent un tropisme leucocytaire des EPgV, similaire à celui décrit pour les pégivirus humains. Les publications sur l'EPgV sont cependant encore plus rares que celles portant sur le NPHV, et des études complémentaires sont donc nécessaires pour mieux comprendre le potentiel pathogénique de ces virus.

Le TDAV et la maladie de Theiler

Décrite par Sir Arnorld Theiler au début du ^{xx}e siècle, la première épidémie d'hépatites foetales, touchant plusieurs centaines de chevaux, a été observée en Afrique du Sud [26]. Elle faisait suite à une campagne de vaccination contre la peste équine (*African horse sickness*) par un virus vivant atténué. Les premiers cas recensés sur le continent américain ont été décrits au cours des années 1930, après deux épisodes épizootiques dus au virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEE) au cours desquels les chevaux atteints avaient reçu des injections d'antisérum anti-WEE,



L'analyse a été réalisée sur le séquençage du fragment 5'UTR (193 pb). Le trait en pointillés sépare les deux sous-types de virus identifiés : sous-types 1 et 2. Les souches surlignées sont les souches pour lesquelles un séquençage du génome plus important (3 994 pb) a pu être réalisé, confirmant l'existence des deux sous-types.

D'après [21].

seul ou en association avec une souche atténuée de virus WEE. Dans de nombreux pays, des hépatites consécutives à l'administration de sérum équin ou de plasma feront suite à ces deux épisodes. Des cas sans aucune administration démontrée de produits biologiques issus d'équidés ont également été décrits. Une étude récente par une équipe de l'université de Cornell, portant sur

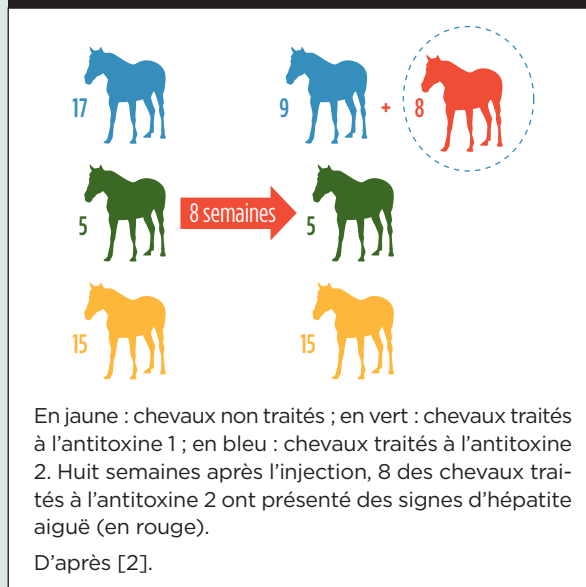
ENCADRÉ 2 : MALADIE DE THEILER : SANJAY CHANDRIANI A PEUT-ÊTRE IDENTIFIÉ LE VIRUS RESPONSABLE, LE TDAV

♦ Dans un haras abritant 75 chevaux, 4 d'entre eux ont fait l'objet d'un diagnostic de botulisme, dont 2 ont dû être euthanasiés et les 2 autres ont pu récupérer après un traitement. Une prophylaxie par un antiserum contre la toxine botulinique a été administrée aux chevaux s'étant trouvés au contact de la nourriture contaminée. Au total, ont été suivis au cours de cette étude : 5 chevaux qui ont reçu l'antitoxine provenant d'un premier lot (antitoxine 1), 17 qui ont reçu celle d'un second lot (antitoxine 2) et 15 de plus qui n'ont bénéficié d'aucune injection d'antitoxine (population contrôle)

(figure 7). Huit semaines après l'injection, 8 des 17 chevaux traités par l'antitoxine 2 ont présenté des signes d'hépatite aiguë. Les chevaux atteints présentaient une léthargie s'accompagnant d'une anorexie, d'une photo-allergie et d'une jaunisse, avec une augmentation du taux d'enzymes hépatiques et de la bilirubine dans le sang. De la fièvre, une atteinte du système nerveux central (ataxie, comportement agressif, coma) ou une augmentation isolée du taux d'enzymes hépatiques ont également été observées. En revanche, aucune anomalie n'a été notée chez les 5 chevaux ayant reçu une injection du premier lot.

♦ Suspectant une contamination du second lot d'antitoxine par un agent infectieux, les auteurs de l'étude ont extrait tous les génomes exogènes qu'ils ont pu (bactériens, viraux, etc.) du sérum de 2 des 8 chevaux atteints d'hépatite et de la préparation d'antitoxine 2. L'analyse de ces extraits a permis d'identifier un ARN d'environ 10,5 kb dont la séquence présentait une forte homologie avec un génome viral de la famille des *Flaviviridae*. Ce virus a été provisoirement dénommé *Theiler's disease-associated virus* (TDAV). Un test de *polymerase chain reaction* (PCR) spécifique a été développé à partir de la séquence identifiée, ce qui a permis de détecter 15 chevaux positifs pour le TDAV sur les 17 ayant reçu l'antitoxine 2. Ce test PCR a aussi permis d'identifier 1 cheval positif parmi les 3 qui avaient contribué à la préparation d'antisérum contre la toxine botulique. Cet animal constitue la source probable de la contamination.

♦ Toutes les autres recherches par PCR se sont révélées négatives. Certains chevaux dont la PCR était positive n'ont pas présenté de symptômes tout au long de cette étude, et aucune relation entre la charge virale et l'expression de la

FIGURE 7 : SUIVI DES CHEVAUX DE L'ÉTUDE SUR 8 SEMAINES

maladie n'a pu être clairement établie. De plus, une inoculation expérimentale d'antitoxine 2 à 4 chevaux n'a pas permis de reproduire les hépatites observées précédemment. Les réservoirs et hôte naturel de ce virus ne sont pas connus. Il n'est pas exclu que l'hôte naturel soit effectivement le cheval. Cependant, cet agent pathogène peut aussi avoir été introduit dans l'espèce équine au cours d'une contamination fortuite ou accidentelle, et sa présence chez les chevaux avoir été maintenue, voire amplifiée par des pratiques d'injection ou de transfusion. La preuve de l'implication du virus TDAV dans la maladie de Theiler reste donc à apporter. Si ce virus est bien l'agent responsable de la maladie de Theiler, l'absence d'association entre la charge virale et l'expression de l'affection suggère que d'autres facteurs (liés ou non à l'hôte, tels que des agents pathogènes) seraient également impliqués.

treize cas de maladie de Theiler au cours des 25 dernières années, n'a pu reconstituer une anamnèse d'injection de sérum ou de plasma équin que dans quatre cas [Divers T, communication personnelle].

Les travaux de Chandriani et coll. suggèrent une cause virale à cette maladie : le TDAV (encadré 2).

Conclusion

L'identification de l'hépacivirus équin paraît avoir suscité un plus grand intérêt dans le monde médical travaillant sur les infections par le virus de l'hépatite C (en raison de sa proximité phylogénétique et, dans une certaine mesure, clinique avec le NPHV) que dans le monde vétérinaire. La découverte de ces nouveaux virus hépatiques équins a, semble-t-il, soulevé davantage de questions qu'elle n'en a résolu en pratique concernant les affections

hépatiques chez le cheval. Elle a eu le mérite de lancer une réflexion sur l'émergence de l'HCV et celle des hépacivirus simiens, notamment concernant la transmission de virions entre espèces et/ou l'origine d'un éventuel ancêtre viral commun. Dans la même veine, le NPHV est le virus équin phylogénétiquement le plus proche de l'HCV. Il est donc important d'éviter qu'une seconde caractéristique commune à ces deux virus, la présence dans le compartiment sanguin, ne débouche à l'avenir chez les chevaux sur une "crise du sang contaminé" similaire à l'épidémie de l'HCV qui sévit dans la population humaine depuis les années 1970. En effet, la présence des TDAV, des hépacivirus et des pégivirus équins a été observée dans différents produits biologiques. Les tests de détection par RT-PCR sont très faciles d'accès dans les laboratoires experts, mais l'importance

du résultat délivré souligne une nouvelle fois les niveaux d'exigence et de validation requis du laboratoire (limite de détection, spécificité, assurance de qualité, connaissance théorique, informations sur l'échantillon).

En raison de l'absence de recul et d'étude sur les conséquences éventuelles de co-infections ou d'autres types d'interactions, cette "triade virale" constitue une nouvelle cible dans les maladies hépatiques. //

RÉSUMÉ/SUMMARY

Cet article présente l'état des connaissances à propos de la découverte récente de trois virus potentiellement impliqués dans les hépatites chez le cheval. Le premier hépacivirus équin a été découvert fortuitement en 2013 et, depuis, de nombreux travaux rapportent la présence de ce virus sur tous les continents. Une étude française a montré une prévalence de 6,2 % (64 prélèvements positifs/1 033). Les pégivirus, de découverte plus récente, restent une énigme encore actuellement. Le TDAV (*Theiler's disease associated virus*) est fortement suspecté d'être responsable de la maladie de Theiler. Ces trois virus présentent la particularité de pouvoir infecter les chevaux par injection sanguine de produits biologiques.

Mots clés : hépatite, virus, cheval.

HEPACIVIRUS, PEGIVIRUS, TDAV: A NEW TRIAD OF HEPATIC VIRUSES IN HORSES?

This article summarizes the current state of knowledge regarding the recent discovery of three new viruses potentially involved in Equine hepatitis. Identification of an Equine Hepacivirus in 2013 resulted from serendipity; since then, this virus has been identified in horses on all continents. In a recent French study, the prevalence was 6,2 % (64 positive horses out of 1033). Equine Pegiviruses were more recently discovered and remain an enigma. Theiler's disease associated virus (TDAV) is strongly suspected to be the cause of Theiler's disease. The three viruses can infect horses via injections of biological products.

Keywords: hepatitis, virus, horse.

1. Burbelo PD, Dubovi EJ, Simmonds P et coll. Serology-enabled discovery of genetically diverse hepaciviruses in a new host. *J. Virol.* 2012;86(11):6171-6178.
2. Chandriani S, Skewes-Cox P, Zhong W et coll. Identification of a previously undescribed divergent virus from the *Flaviviridae* family in an outbreak of equine serum hepatitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013;110(15):E1407-E1415.
3. Drexler JF, Corman VM, Müller MA et coll. Evidence for novel hepaciviruses in rodents. *PLoS Pathog.* 2013;9(6):e1003438.
4. Elia G, Lanave G, Lorusso E et coll. Identification and genetic characterization of equine hepaciviruses in Italy. *Vet. Microbiol.* 2017;207:239-247.
5. Figueiredo AS, Lampe E, do Espírito-Santo MP et coll. Identification of two phylogenetic lineages of equine hepacivirus and high prevalence in Brazil. *Vet. J.* 2015;206(3):414-416.
6. Gather T, Walter S, Todt D et coll. Vertical transmission of hepatitis C virus-like non-primate hepacivirus in horses. *J. Gen. Virol.* 2016;97(10):2540-2551.
7. Gemaque BS, Junior Souza de Souza A, do Carmo Pereira Soares M et coll. Hepacivirus infection in domestic horses, Brazil, 2011-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2014;20(12):2180-2182.
8. Go YY, Bailey E, Cook DG et coll. Genome-wide association study among four horse breeds identifies a common haplotype associated with *in vitro* CD3+ T cell susceptibility/resistance to equine arteritis virus infection. *J. Virol.* 2011;85(24):13174-13184.
9. Hayashi S, Tanaka T, Moriishi K et coll. Seroepidemiology of non-primate hepacivirus (NPHV) in Japanese native horses. *J. Vet. Med. Sci.* 2018;80(1):186-189.
10. Kapoor A, Simmonds P, Cullen JM et coll. Identification of a pegivirus (GB virus-like virus) that infects horses. *J. Virol.* 2013;87(12):7185-7190.
11. Kapoor A, Simmonds P, Gerold G et coll. Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011;108(28):11608-11613. doi: 10.1073/pnas.1101794108.
12. Kim HS, Moon HW, Sung HW, Kwon HM. First identification and phylogenetic analysis of equine hepacivirus in Korea. *Infect. Genet. Evol.* 2017;49:268-272.
13. Lu G, Sun L, Xu T et coll. First Description of hepacivirus and pegivirus infection in domestic horses in China: A study in Guangdong Province, Heilongjiang Province and Hong Kong District. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155662.
14. Lu G, Huang J, Yang Q et coll. Identification and genetic characterization of hepacivirus and pegivirus in commercial equine serum products in China. *PLoS One.* 2017;12(12):e0189208.
15. Lyons S, Kapoor A, Sharp C et coll. Nonprimate hepaciviruses in domestic horses, United Kingdom. *Emerg. Infect. Dis.* 2012;18(12):1976-1982.
16. Lyons S, Kapoor A, Schneider BS et coll. Viraemic frequencies and seroprevalence of non-primate hepacivirus and equine pegiviruses in horses and other mammalian species. *J. Gen. Virol.* 2014;95(Pt 8):1701-1711.
17. Matsuu A, Hobo S, Ando K et coll. Genetic and serological surveillance for non-primate hepacivirus in horses in Japan. *Vet. Microbiol.* 2015;179(3-4):219-227.
18. Pfaender S, Cavalleri JM, Walter S et coll. Clinical course of infection and viral tissue tropism of hepatitis C virus-like nonprimate hepaciviruses in horses. *Hepatology.* 2015;61(2):447-459.
19. Postel A, Cavalleri JM, Pfaender S et coll. Frequent presence of hepaciviruses and pegiviruses in commercial equine serum pools. *Vet. Microbiol.* 2016;182:8-14.
20. Pronost S, Hue E, Fortier C et coll. Identification of equine hepacivirus infections in France: Facts and physiopathological insights. In: *Proceedings Equine Infectious Diseases Congress*, Buenos Aires, Argentina, 4-8 avril 2016:p27 (O91).
21. Pronost S, Hue E, Fortier C et coll. Prevalence of equine hepacivirus infections in France and evidence for two viral subtypes circulating worldwide. *Transbound Emerg. Dis.* 2017;64(6):1884-1897.
22. Ramsay JD, Evanoff R, Wilkinson TE Jr et coll. Experimental transmission of equine hepacivirus in horses as a model for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(5):1533-1546.
23. Reuter G, Maza N, Pankovics P, Boros A. Non-primate hepacivirus infection with apparent hepatitis in a horse - Short communication. *Acta Vet. Hung.* 2014;62(3):422-427.
24. Scheel TK, Kapoor A, Nishiuchi E et coll. Characterization of nonprimate hepacivirus and construction of a functional molecular clone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112(7):2192-2197.
25. Tanaka T, Kasai H, Yamashita A et coll. Hallmarks of hepatitis C virus in equine hepacivirus. *J. Virol.* 2014;88(22):13352-13366.
26. Theiler A. Acute liver atrophy and parenchymatous hepatitis in horses. 5th and 6th reports of the Director of Veterinary Research, Department of agriculture, Union South Africa. 1918:è-164.
27. Thézé J, Lowes S, Parker J, Pybus OG. Evolutionary and phylogenetic analysis of the hepaciviruses and pegiviruses. *Genome Biol. Evol.* 2015;7(11):2996-3008.
28. Tovo PA, Calitri C, Scolfaro C et coll. Vertically acquired hepatitis C virus infection: Correlates of transmission and disease progression. *World J. Gastroenterol.* 2016;22(4):1382-1392.