

**Rapport annuel d'activité**

**2014**

**Centre national de référence  
des virus des hépatites à  
transmission entérique**

**Année d'exercice  
2013**

# Résumé analytique

Le CNR des virus des hépatites à transmission entérique associe depuis janvier 2012 le laboratoire de virologie de l'hôpital Paul Brousse à Villejuif en charge de l'activité hépatite A, dirigé par le Pr Roque-Afonso, et le laboratoire de virologie de l'hôpital Purpan à Toulouse en charge de l'activité hépatite E, dirigé par le Pr Izopet.

Concernant l'hépatite A, il a été observé en 2013 une baisse significative des investigations de cas groupés, souvent associés les années précédentes à des souches dites « autochtones » en raison de leur persistance sur le territoire par diffusion au sein de populations précaires. En 2013, ces infections « autochtones » ont baissé de manière significative et la notion de voyage ou de contact avec un sujet malade ayant voyagé est en nette augmentation parmi les cas identifiés au CNR. Cette évolution s'accompagne d'une augmentation de la diversité génétique des souches isolées. Les caractéristiques des cas présentant un ARN viral détectable (n=166) sont sensiblement les mêmes qu'en 2012 avec un âge moyen de 24+/-18 ans et une faible prédominance masculine à 54%.

Le CNR a été sollicité pour 2 alertes postées sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC et relayées par le réseau de laboratoires HAVNet concernant deux épidémies transfrontalières, l'une concernant des voyageurs au retour d'Egypte, l'autre liée à une contamination alimentaire. Le CNR a pu identifier 4 cas infectés par la souche épidémique égyptienne et 2 cas associés à la contamination alimentaire.

Un événement important en 2013 a été la survenue de cas groupés autour d'une adoption internationale, avec un décès par hépatite fulminante. Cet épisode a été l'occasion de rappeler les recommandations vaccinales et les mesures universelles d'hygiène à mettre en place en présence d'un cas d'hépatite A.

Concernant l'hépatite E, le CNR est en charge de l'activité de surveillance des infections symptomatiques ou asymptomatiques. Il est également impliqué dans les enquêtes visant à identifier les sources de contamination devant la survenue de cas groupés ou en cas de suspicion de transmission transfusionnelle.

L'année 2013, a été marquée par une forte augmentation des tests réalisés au laboratoire de Toulouse par rapport à 2012 (23% d'augmentation des tests sérologiques et 33% d'augmentation des tests moléculaires). Cette forte augmentation de l'activité diagnostique est également rapportée par les laboratoires d'analyses spécialisées à recrutement national. Ceci a conduit à une forte augmentation du nombre de cas d'hépatite E diagnostiqués en 2013 (n=1851) par rapport à 2012 (n=801). La quasi-totalité des cas relève d'une transmission autochtone.

Le CNR a travaillé en collaboration avec l'EFS dans le contexte de la qualification des pools de plasma frais et la réalisation d'enquêtes de transmission par voie transfusionnelle. L'étude de 558 pools de plasma correspondant à plus de 50 000 donneurs a objectivé une prévalence de l'ARN VHE de 0,045%, soit environ 1/2200 donneurs.

Le CNR a également été impliqué dans des enquêtes sanitaires et environnementales en collaboration avec l'ANSES et l'IFREMER.

## 1 Missions et organisation du CNR

Ces aspects sont développés dans l'annexe 1. Un nouveau praticien attaché, Le Dr Muriel Macé, est impliqué dans l'activité hépatite A depuis mai 2013. Un nouvel assistant hospitalo-universitaire, le Dr Sébastien Lhomme, est impliqué dans l'activité hépatite E depuis janvier 2013.

## 2 Activités d'expertise

### 2.1 Évolutions des techniques au cours de l'année 2013

#### Hépatite A

- Adaptation/Validation pour les échantillons humains de la technique de PCR temps réel (ISO / TS 152516) développée dans le cadre du Comité Européen de standardisation (CEN), en collaboration avec l'unité de Virologie des aliments et de l'eau, ANSES.
- Utilisation en temps réel de la base de données de séquence Bionumériques pour répondre aux alertes internationales

#### Hépatite E

- Standardisation du titrage des anticorps anti-VHE
- Optimisation de l'isolement du virus en système cellulaire
- Optimisation des analyses phylogénétiques visant à tracer l'origine des infections
- Participation à une étude internationale ayant permis d'établir le 1<sup>er</sup> standard OMS pour la détection de l'ARN VHE (Baylis, Emerg Infect Dis 2013)

### 2.2 Hépatite A : Activités d'expertise de l'année 2013

#### ○ Prélèvements reçus

En 2013, 343 prélèvements ont été reçus au CNR : 118 (34.4%) au titre de l'observatoire des souches, 52 (15.1%) dans le cadre d'investigations de cas groupés et 172 (50.1%) pour diagnostic ou expertise.

Le nombre d'échantillons adressés pour diagnostic ou expertise est stable depuis 2010. Parmi ces derniers, en 2013, 117 correspondaient à une recherche d'ARN viral chez l'immunodéprimé, en l'absence d'IgM anti-VHA. Aucun cas d'hépatite A n'a été identifié dans ce contexte.

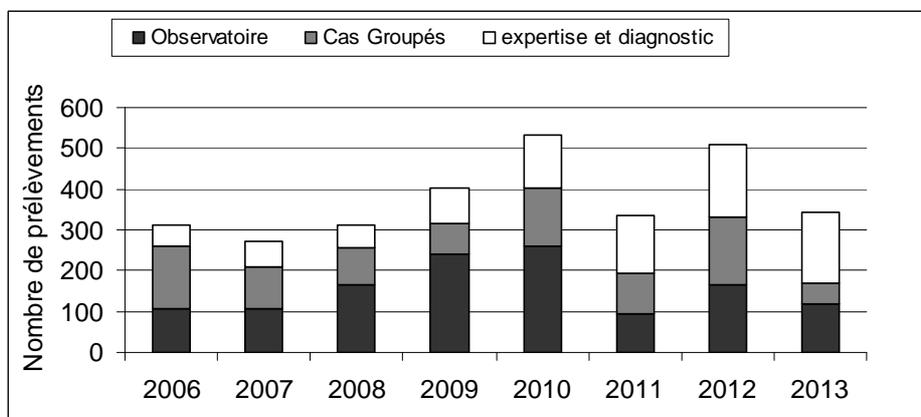


Fig. 1 : caractéristiques des échantillons adressés au CNR

Il est à noter d'emblée figure 1, la baisse du nombre d'échantillons adressés au titre de l'investigation de cas groupés.

Les laboratoires d'Ile de France ont contribué majoritairement à l'envoi d'échantillons au titre d'expertise (67%) et d'observatoire (48%), et plus faiblement pour les cas groupés (19%). Le nombre de départements faisant appel au CNR (44 en 2013) reste stable.

#### ○ **Analyses réalisées**

La recherche du génome VHA a été réalisée sur les 343 échantillons reçus.

L'ARN viral était détectable dans 166 échantillons présentant des IgM anti-VHA détectables

- 48 (29%) provenaient d'investigations d'épidémies et 118 (71%) de l'observatoire.

L'ARN viral était indétectable dans 175 échantillons

- 117 correspondaient au diagnostic moléculaire des immunodéprimés présentant des IgM anti-VHA négatives : aucun autre examen n'a été réalisé
- 58 échantillons présentaient des IgM anti-VHA détectables (recherche positive ou équivoque)
  - une avidité des IgG <60% était retrouvée dans 5 cas (8.6%), chez des patients présentant des transaminases élevées, suggérant une infection récente avec une virémie déjà négativée
  - une avidité non déterminable avec des anticorps totaux négatifs était retrouvée dans 4 cas (7%), correspondant à des faux positifs
  - une avidité des IgG ≥60% était retrouvée dans 49 cas, correspondant à une infection ancienne, chez des sujets âgés de 59+/-21 ans; un contrôle des IgM par la technique vidas est revenu négatif dans 13 cas, suggérant des faux positifs (22.4%). Dans 36 cas, la positivité des IgM pourrait être liée à une réactivation immunitaire ou à une infection datant de plus de 2 mois avec persistance d'IgM détectables (62%).

Au total, parmi les échantillons présentant initialement des IgM anti-VHA détectables (n=224), seuls 76% correspondaient à une infection VHA récente, comme habituellement retrouvé au CNR.

### **2.3 Hépatite E : Activités d'expertise de l'année 2013**

#### ○ **Prélèvements reçus au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse**

En 2013, le laboratoire de virologie de Toulouse a réalisé 4570 analyses sérologiques (+28% par rapport à 2012) et 4441 tests moléculaires (+33% par rapport à 2012) pour le diagnostic et la caractérisation des souches de VHE. Les échantillons analysés étaient originaires de patients de France métropolitaine, de Polynésie française ou de la Réunion.

	% sérologies	% tests moléculaires
<b>CHU Toulouse</b>	<b>69,1</b>	<b>57,4</b>
<b>Centres Hospitaliers de Midi-Pyrénées</b>	<b>16,3</b>	<b>14,4</b>
<b>Centres Hospitaliers hors Midi-Pyrénées</b>	<b>7,8</b>	<b>18,2</b>
<b>EFS</b>	<b>6,3</b>	<b>7,8</b>
<b>Laboratoires privés</b>	<b>0,5</b>	<b>2,2</b>

#### ○ **Prélèvements reçus par les autres laboratoires**

L'Hôpital Paul Brousse à Villejuif a réalisé 3819 analyses sérologiques et 2438 tests moléculaires pour le diagnostic et la caractérisation des souches de VHE. Le laboratoire d'analyses spécialisées Cerba a réalisé 10 285 tests IgM anti-VHE pour des laboratoires privés de France ou des DOM-TOM. Le laboratoire d'analyses spécialisées Biomnis a réalisé 12 977 tests d'IgM anti-VHE et 411 PCR VHE.

### ○ Diagnostic des cas d'hépatite E

Au laboratoire de virologie de Toulouse, 375 cas d'hépatite E ont été diagnostiqués dont 259 cas virémiques. Au laboratoire de virologie de Paul Brousse, 142 infections ont été diagnostiquées dont 125 infections virémiques.

Le laboratoire Cerba a répertorié 483 patients avec une hépatite E grâce à la sérologie (IgM positifs) ou la PCR VHE (48 de ces échantillons ont été transmis au CNR de Toulouse pour quantification et typage). Le laboratoire Biomnis a répertorié 783 cas d'hépatite E, IgM anti-VHE ou PCR VHE positive.

Le CHU de Marseille a identifié 27 cas d'hépatite E chez des patients n'ayant pas voyagé, avec des souches de génotype 3.

Le CHU de Bordeaux a identifié 41 cas d'hépatite E dont 15 ont été documentés par la présence de l'ARN viral et 26 par la présence des IgM anti-VHE.

L'évolution du diagnostic des cas d'hépatite E en France est représentée dans le tableau ci-dessous :

	Nb patients testés	NB cas certains ou probables			% cas positifs parmi les testés
		Total	Importés	Autochtones	
<b>2002</b>	209	13	4	9	6,2
<b>2003</b>	155	14	11	3	9,0
<b>2004</b>	233	20	4	16	8,5
<b>2005</b>	327	39	19	20	11,9
<b>2006</b>	583	38	14	24	6,5
<b>2007</b>	1012	107	10	97	10,5
<b>2008</b>	1700	180	21	159	10,5
<b>2009</b>	2150	206	23	183	9,6
<b>2010</b>	2549	232	16	216	9,1
<b>2011</b>	3429	266	19	249	7,6
<b>2012</b>	17566	801	9	801	4,6
<b>2013</b>	35416	1851	4	1847	4,9

En 2013, 46 % des cas ont été identifiés chez des patients vivants dans le sud de la France (régions Aquitaine, Midi-Pyrénées, Languedoc-Roussillon, Provence-Alpes-Côte d'Azur et Corse) et 54% chez des patients vivants en dehors de ces régions. Le sex-ratio homme/femme est de 2,1. L'âge moyen des cas était de 54 ans.

**En conclusion, parallèlement à l'augmentation du nombre de tests réalisés le nombre de cas d'hépatite E identifiés en 2013 a substantiellement augmenté par rapport à 2012 (+130%). Ceci est en lien avec une meilleure utilisation des outils virologiques et une augmentation croissante de l'activité diagnostique.**

#### **2.4 Nombre de souches ou échantillons de matériel biologique issus des collections du CNR distribuées.**

Le CNR hépatite E a fourni du matériel biologique (surnageant de culture cellulaire et sérum) au CHU de Lille, au CHU de Nantes et à l'EFS de Bordeaux pour la validation des tests moléculaires de recherche de l'ARN VHE. La technique de PCR VHE du CNR a été implémentée au laboratoire de virologie du CHU de Lille et est en cours de validation au laboratoire de virologie du CHU Nantes.

### 3 Activités de surveillance : Hépatite A

#### 3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

##### ○ Réseau de partenaires et Représentativité des échantillons reçus

Depuis 2006, date de mise en place de la Déclaration Obligatoire, la proportion de souches analysées par rapport au nombre de cas déclarés a varié entre 17 et 33%. Les années 2010 et 2012 ont été marquées par plusieurs épidémies et une recherche active de cas par les ARS avec incitation à adresser les échantillons au CNR pour documenter des transmissions alimentaires. (NB. ceci n'est qu'une estimation, car il n'est pas possible en termes réglementaires de croiser les données disponibles à l'InVS avec celles du CNR). L'année 2013 n'a pas connu de tels épisodes (données 2013 de la DO non disponibles à la rédaction du rapport).

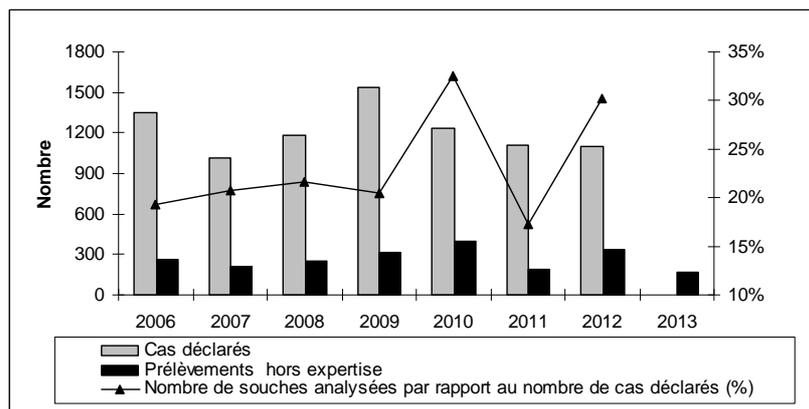


Fig. 2 : Nombre de souches reçues au CNR par rapport au Nombre de cas déclarés (DO)

##### ○ Définition de l'échantillon de souches isolées

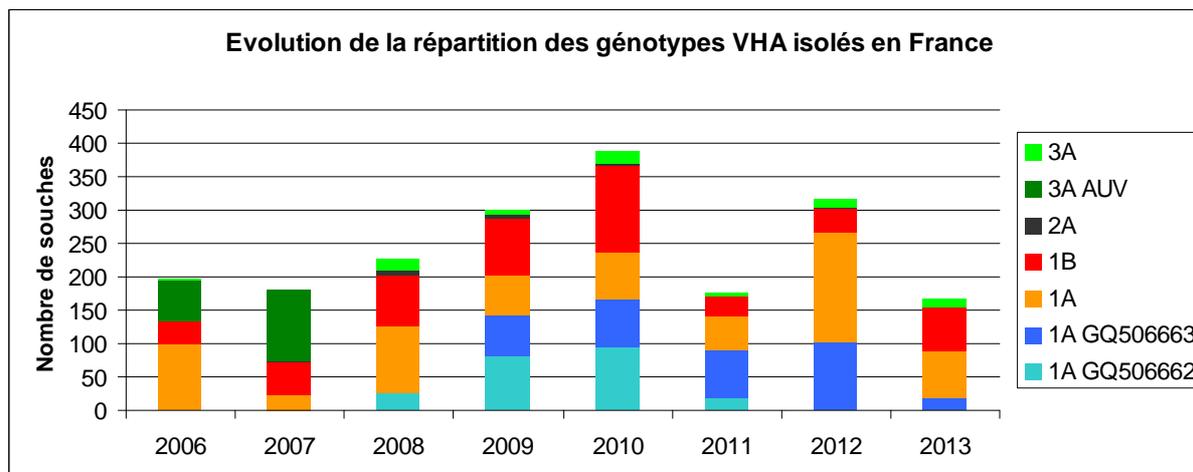
En 2013, 166 infections virémiques ont été identifiées au CNR. La prédominance masculine est, comme en 2012, peu marquée à 54%. L'âge moyen des cas est de 24+/-18 ans.

La notion de voyage ou de contact avec un sujet malade ayant voyagé est retrouvée dans 47.6% des cas, en nette augmentation par rapport à 2012, 27.2%.

Les souches ont été isolées majoritairement chez des patients résidant en Ile de France (41%) et 5 régions (IDF, PACA, Pays de Loire, Auvergne et Bretagne) ont contribué à 70% des souches isolées :

origine des patients virémiques	Nombre de souches	%
Aquitaine	1	0,6%
<b>Auvergne</b>	<b>10</b>	<b>6,0%</b>
Basse Normandie	3	1,8%
Bourgogne	4	2,4%
<b>Bretagne</b>	<b>9</b>	<b>5,4%</b>
Centre	5	3,0%
Champagne Ardennes	1	0,6%
Haute Normandie	9	5,4%
<b>IDF</b>	<b>68</b>	<b>41,0%</b>
Lorraine	4	2,4%
Midi Pyrénées	2	1,2%
Nord Pas de Calais	5	3,0%
<b>PACA</b>	<b>17</b>	<b>10,2%</b>
<b>Pays de Loire</b>	<b>12</b>	<b>7,2%</b>
Picardie	1	0,6%
Poitou Charente	7	4,2%
Rhone Alpes	8	4,8%
<b>Total</b>	<b>166</b>	

L'évolution de la répartition des génotypes montre une réduction importante du sous-type IA représentant 53% des souches isolées en 2013 contre 84.2% en 2012, au profit du sous-type IB, 39.8% en 2013 contre 11.7% en 2012 :



Cette évolution est à rapprocher de l'extinction des cas associés aux souches « autochtones » 1A GQ506662, qui circulait dans la communauté homosexuelle masculine jusqu'en 2011, et au faible nombre de cas associés à la souche 1A GQ506663, qui diffusait dans la communauté des gens du voyage, au profit de souches 1A et 1B importées (en orange et rouge, dans le graphique). Cette évolution reflète également l'augmentation relative du facteur de risque « voyage ».

La souche 1A HA-Sar, isolée pour la 1<sup>ère</sup> fois en France en Juin 2012 chez un sujet de la communauté homosexuelle masculine, responsable de plusieurs centaines de cas en Europe, et qui a représenté près de 25% des souches 1A en 2012, n'a été retrouvée que dans un cas en 2013, chez un sujet de retour de Hongrie.

Les génotypes IIA et IIIA restent minoritaires et associés au voyage, Afrique de l'ouest et Inde/Océan Indien, respectivement.

### 3.2 Participation aux réseaux de surveillance

#### ○ surveillance nationale

Le CNR est contacté directement par les ARS/CIRE en cas de cas groupés, avec échange d'informations entre InVS et CNR. Un retour d'information (nombre de prélèvements reçus, résultats) vers les ARS/CIRE et InVS est réalisé.

#### ○ surveillance internationale

Les alertes transfrontalières font également l'objet d'échanges d'informations : L'InVS redescend au CNR les données reçues des instances européennes ; le CNR remonte à l'InVS les alertes signalées par les membres du réseau européen de laboratoires (HAVNet). L'outil Bionumériques permet de répondre immédiatement à nos partenaires sur la circulation ou non en France d'une souche isolée dans un autre pays. L'identification d'épidémies transfrontalières associées à un facteur de risque donné (i.e. communauté homosexuelle masculine ; aliment) est ainsi possible.

## **4 Alerte : Hépatite A**

### **o Procédure d'alerte**

Le CNR et ses correspondants de l'InVS (V.Vaillant et E.Couturier) échangent immédiatement sur tout phénomène anormal.

Deux alertes Européennes postées via la plateforme EPIS-FWD (Epidemic Intelligence Information System for Food- and Waterborne Diseases) de l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) et relayées par le réseau HAVNet ont été prises en compte en 2013. Elles concernaient des épidémies touchant plusieurs pays de l'Union :

- Alerte en juillet 2013 sur une épidémie transfrontalière (Allemagne, Pologne, Irlande, Italie, Pays Bas) due à une même souche de génotype 1A (KF182323), potentiellement associée à la consommation de fruits rouges, sans confirmation. Cette souche a été identifiée chez 2 patients en France qui ont pu être interrogés par l'InVS avec le questionnaire élaboré à l'échelon européen, sans possibilité de traçabilité alimentaire.
- Alerte en novembre 2012 ayant pour point de départ des touristes norvégiens infectés par une même souche de génotype 1B (KC876797) au retour d'Egypte : 107 cas ayant séjourné dans des hôtels autour de la mer rouge ont été recensés par 14 pays européens, dont 9 en France ; 21 cas ont été confirmés par identité de séquence dont 4 en France. L'InVS a pu interroger ces cas. Une étude cas contrôle a retrouvé une exposition à 2 aliments, mangues et framboises.

En 2013, le CNR a transmis à l'InVS les informations sur 1 épisode de cas groupés autour d'une adoption internationale ayant eu pour conséquence un décès par hépatite fulminante. Les recommandations vaccinales concernant le voyageur et la vaccination autour d'un cas n'avaient pas été suivies. Une information a été postée dans le Flash Info Maladies Infectieuses (n°16, décembre 2013, InVS). Les mesures d'hygiène personnelle et collective ont également été rappelées. Il n'existe pas à ce jour en France de recommandation vaccinale autour de l'adoption internationale.

### **o Détection et investigation des cas groupés et phénomènes anormaux**

Outre les alertes à l'échelle européenne peu d'épisodes de cas groupés ont été détectés/investigués en 2013.

### **Cas groupés autour d'une adoption internationale avec décès par hépatite fulminante (ARS Nord)**

Des IgM anti-VHA ont été dépistées en aout 2013 chez un enfant de 22 mois adopté en Ethiopie 15 jours après son arrivée en France. Il ne présentait pas d'ictère mais les transaminases étaient élevées à 30 fois x la normale. Quatre cas ont été diagnostiqués 3-4 semaines plus tard dans l'entourage : mère (45 ans), père (44 ans), un ami de la famille (36 ans) et la grand-mère âgée de 69 ans, décédée d'hépatite fulminante en septembre.

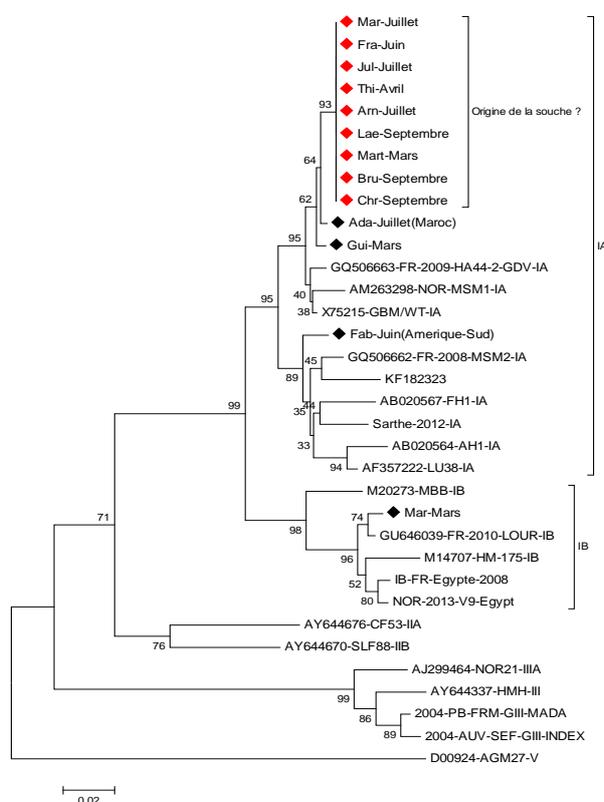
Une même souche de génotype 1B a été identifiée chez les 5 sujets, génétiquement proche des souches isolées chez des voyageurs de retour d'Afrique de l'Est.

Cet épisode a fait l'objet d'un rappel des recommandations vaccinales et des mesures universelles d'hygiène.

### **Sur-incidence de cas en région PACA**

Les échantillons de 13 patients présentant des IgM anti-VHA positives entre le 13/03 et le 04/09/2013 ont été analysés. La notion de voyage était retrouvée pour 4 cas, dont 3 en zone d'endémie : Maroc, Syrie et Amérique du Sud. Il s'agissait de sujets adultes dans 10 cas.

Des souches de génotype IA ont été retrouvées dans 12 cas ; un seul sujet était infecté par une souche de génotype IB. L'analyse phylogénétique a identifié un cluster de 9 séquences strictement homologues. Cette souche est isolée de mars à septembre 2013 chez des patients n'ayant pas séjourné en zone d'endémie, adultes pour la plupart (8 cas sur 9). Les 4 autres séquences étaient uniques et liées à des voyages dans 3 cas.



Analyse phylogénétique des cas isolés en PACA

Hypothèses :

- transmission par des sujets asymptomatiques, particulièrement des enfants ; toutefois aucun enfant en bas âge n'est identifié comme porteur de cette souche
- transmission par un item alimentaire non identifié et difficile à tracer

### **Cas groupés en milieu scolaire en Auvergne**

Ont été analysés 5 patients signalés par la CIRE et prélevés entre le 3 et le 19 avril, dont 2 enfants et un adulte intervenant dans une école, ainsi que 3 autres prélevés dans le même département en mai ont également été analysés.

Une même souche génotype IA, homologue de la souche autochtone GQ506663 (souvent associée à la communauté des gens du voyage), est identifiée chez 5 sujets, dont les 3 cas scolaires et 2 cas non signalés.

Les autres sujets étaient infectés par des souches importées, IA dans 1 cas et IB dans 2 cas, dont un sujet infecté par la souche KC876797, associée à l'épidémie transnationale signalée par l'ECDC liée au voyage en Egypte (ce patient a été inclus dans les cas signalés pour cette alerte).

## 5 Activités de surveillance : Hépatite E

### 5.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

#### ○ Réseau de partenaires

Le laboratoire de virologie de Toulouse travaille en collaboration avec les laboratoires de virologie des CHU français, de nombreux centres hospitaliers périphériques et des structures privées. Il réalise les PCR de détection et de quantification de l'ARN VHE et assure la caractérisation des souches identifiées. C'est le cas des CHU d'Angers, Caen, Brest, Clermont-Ferrand, Nantes, Nice, Nîmes, Poitiers, Saint-Etienne, Reims et Rouen. D'autres part, les CHU d'Amiens, Grenoble, Lille, Limoges, Lyon, Rennes, Strasbourg et Tours réalisent les tests moléculaires dans leur laboratoire et envoient au laboratoire de virologie de Toulouse les échantillons positifs pour le typage des souches.

Le laboratoire de virologie de Villejuif travaille en collaboration avec les principaux laboratoires parisiens.

Les laboratoires de virologie des CHU de Bordeaux et Marseille ont également indiqué le nombre de cas d'hépatite E identifiés dans leur centre.

Les laboratoires d'analyses spécialisées Biomnis et Cerba communiquent également le nombre de cas d'hépatite E identifiés dans leur laboratoire. Le laboratoire Cerba transmet les échantillons positifs pour quantification et caractérisation des souches lorsque les échantillons sont disponibles.

#### ○ Caractérisation des souches

Pour 373 échantillons ARN VHE positifs, le génotype a été déterminé par séquençage. La répartition des génotypes est la suivante :

Génotype	1	4	3a	3b	3c	3e	3f	Non typé
Nombre en	4	1	1	2	103	10	212	40
2013 (%)	(1,7%)	(0,2%)	(0,2%)	(0,4%)	(27,6%)	(2,7%)	(56,8%)	(10,7%)

Cette distribution est proche de celles des années précédentes. Le génotype 3f reste prédominant en France. On note toutefois une augmentation de la proportion du génotype 3c par rapport à 2012 (13,3% en 2012). Le génotype 4 reste présent mais en très faible proportion.

### 5.2 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Le CNR hépatite E en collaboration avec 13 centres de transplantation français a réalisé une étude visant à analyser l'efficacité et la tolérance du traitement par ribavirine des infections chroniques par le VHE chez les patients transplantés d'organe. Cette étude coordonnée par le Pr Nassim Kamar (CHU de Toulouse, Inserm U1043) a inclus 59 patients transplantés. Le traitement par ribavirine a été initié en moyenne 9 mois (1-82 mois) après le diagnostic d'hépatite E pour une durée médiane de 3 mois (1-18 mois). A la fin du traitement, 95% des patients n'étaient plus virémiques mais 10 patients ont rechuté après l'arrêt du traitement. L'efficacité du traitement était de 78%. Un traitement plus long a permis de guérir 4 patients rechuteurs. L'anémie était l'effet secondaire principal. Cette étude a permis de montrer qu'un traitement de 3 mois par ribavirine était adapté pour le traitement des infections chroniques des patients immunodéprimés (Kamar, New England J Med, 2014).

### 5.3 Participation aux réseaux de surveillance

Des contacts permanents entre l'InVS (E. Couturier, V. Vaillant) et le CNR sont établis.

#### 5.4 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

- **Surveillance à la demande de l'Établissement Français du Sang (EFS) : Caractérisation des pools de plasma positifs**

Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2013, l'EFS de Bordeaux réalise la PCR VHE sur les pools de plasma servant à la préparation du plasma frais congelé traités par solvant-détergent. Les pools ARN VHE positifs sont ensuite envoyés au laboratoire de virologie de Toulouse pour quantification et typage des souches détectées. Les sérothèques des donneurs entrant dans la constitution du pool sont également envoyées au CNR pour sérologie et PCR VHE. L'EFS a testé 558 pools correspondant à 53 234 dons. Vingt-deux pools étaient positifs pour l'ARN VHE comprenant 24 donneurs positifs, correspondant à une prévalence de 0,045% de dons de plasma ARN VHE positif, soit environ 1/2200 donneurs.

Nous avons également détecté et quantifié les anticorps IgG anti-VHE dans 183 pools de plasma provenant de l'EFS Bordeaux. Tous les pools contenaient des anticorps anti-VHE avec un titre moyen des IgG de 1 UI/ml (titre des IgG dans les pools allant de 0,2 à 10,6 UI/ml).

- **Enquêtes lors de suspicion de contamination transfusionnelle**

Le laboratoire de virologie de Toulouse a réalisé 5 enquêtes.

La première enquête concernait un pool de plasma fabriqué en 2012 et administré à plusieurs patients en 2013. La concentration de l'ARN VHE dans le pool était très faible (<100 copies/ml). Dix-sept receveurs ayant reçu ce pool de plasma ont été testés pour le VHE (Sérologie et PCR). Des IgM anti-VHE ou l'ARN viral n'ont été détectés chez aucun receveur.

La deuxième enquête a concerné une patiente traitée par chimiothérapie pour une leucémie aiguë et multi-transfusée ayant fait une hépatite E à Annecy. La patiente était infectée par un génotype 3c. Les 65 donneurs de produits sanguins labiles administrés à la patiente ont été testés en PCR VHE au laboratoire de virologie de Toulouse. Deux donneurs, infectés également par un génotype 3c ont été identifiés parmi les donneurs. L'un des donneurs avait une virémie à 14 580 copies/ml et l'autre à 2 070 000 copies/ml. L'analyse phylogénétique consistant à comparer les séquences ORF2 des virus des 2 donneurs et du receveur a montré l'homologie de séquences entre les 3 souches VHE-3c. Des analyses complémentaires sont en cours afin de déterminer lequel des 2 donneurs a été la source de l'infection de la patiente ou si les 2 donneurs ont été impliqués dans la transmission.

La troisième enquête a concerné un donneur de globules rouges et de plaquettes qui était infecté par le VHE avec une virémie à 113 000 copies/ml lors du don. Une patiente de Limoges a reçu les plaquettes et une patiente de Bordeaux a reçu les globules rouges. Les analyses des souches montrent une homologie de séquences entre les souches VHE-3f des 2 receveuses et la souche VHE-3f du donneur.

La quatrième enquête a été réalisée à la demande de l'EFS de Reims. Le donneur avait une virémie à 29600 copies/ml avec un génotype 3f. Le receveur de globules rouges était un patient transplanté rénal du CHU de Reims. Une analyse phylogénétique consistant à comparer les séquences ORF2 des virus du donneur et du receveur a montré l'homologie de séquences entre la souche VHE-3f du donneur et du receveur.

La 5<sup>ème</sup> enquête réalisée à la demande de l'EFS Ile de France suggère la contamination d'un patient Parisien transplanté rénal à partir d'un pool de plasma dont la concentration était de 380 copies/mL avec un génotype 3f. Une analyse phylogénétique consistant à comparer les séquences ORF2 des virus du donneur et du receveur a montré une homologie de séquences entre la souche VHE-3f du donneur et du receveur.

## **6 Alerte : Hépatite E**

**Les cas d'hépatite E ne font pas l'objet à ce jour d'une déclaration obligatoire.**

L'InVS a été alerté de plusieurs cas d'hépatite E à Belle-Ile en Mer fin novembre 2013. Les virus de trois patients symptomatiques ont été analysés par le CNR en décembre. Les résultats montrent une homologie de séquences entre les souches VHE-3f des 3 cas. Il est hautement probable que ces 3 cas ont été contaminés par une source commune.

L'investigation réalisée par l'ARS de Bretagne, coordonnée par Mr Yvonnick GUILLOIS, a permis de montrer que ces 3 patients avaient participé à un mariage au cours duquel un cochon grillé avait été consommé insuffisamment cuit. Il a été décidé de proposer à tous les convives du mariage de réaliser des analyses pour déterminer s'ils avaient été contaminés par le VHE lors du repas du mariage. Les échantillons sanguins de 44 convives (sur 116) ont été prélevés en janvier 2014 et conservés par le laboratoire de Quiberon ou le laboratoire CERBA puis transmis au CNR à Toulouse. Les investigations de ces échantillons sont en cours.

Mme Nicole Pavio, de l'ENVA Maisons-Alfort, a recherché le VHE au sein de l'élevage de porcs en relation avec le traiteur ayant organisé le repas de mariage. D'autre part, Mme Le Guyader, de l'Ifremer, a recherché le virus dans les stations d'épuration de Belle-Ile en Mer et a pu détecter du virus. Les souches détectées chez les patients, dans les eaux usées et dans l'élevage ont été comparées. Un lien génétique entre les souches des 3 patients et celles trouvées dans les eaux usées et l'élevage porcin a été objectivé. Des analyses phylogénétiques complémentaires sont en cours pour confirmer ces premiers résultats.

## **7 Activités d'information, de formation et de conseil**

### **○ Enseignement, Formation**

Les membres du CNR participent aux enseignements concernant le VHA et le VHE dispensés aux étudiants en Médecine, les étudiants en DES de biologie médicale et les étudiants scientifiques (Master 1 et Master 2).

A Toulouse, le service de virologie accueille 10 internes en biologie médicale par an. Le laboratoire est terrain de stage en M1 et M2. Il accueille en 2013-2014, Hugo Barrague et Tiffany Bonnefois (M2R Immunologie et Maladies infectieuses, Université Toulouse III). Le Dr Sébastien Lhomme a soutenu sa thèse d'université sur le VHE en 2013. Le Laboratoire a accueilli en 2013 un post-doctorant travaillant sur le VHE (Dr Sokuntea Top).

A Villejuif, Le service de virologie accueille 2 internes par an. Le laboratoire est terrain de stage en M1 et M2, mais en raison de la réorganisation du service (regroupement de 3 laboratoires), il n'y a pas eu de stagiaire en 2012-2013. Il accueille en 2013-2014 un M2R (Innovation Thérapeutique- Pathogénie des microorganismes Université Paris XI).

Les membres du CNR participent activement sous forme de séminaires ou de conférences à la diffusion des connaissances sur les virus des hépatites à transmission entérique (cf. liste des communications)

### **○ Publications didactiques**

Le CNR a écrit un chapitre sur le virus de l'hépatite E pour l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale (EMC Biologie Médicale). Une actualisation est en cours dans cette même revue concernant le virus de l'hépatite A. La refonte du chapitre « l'hépatite A et sa vaccination » est également en cours pour l'EMC Hépatologie.

Des articles de revue sont publiés régulièrement dans des journaux nationaux et internationaux (cf. liste des publications).

### **○ Diffusion des données de surveillance et production du CNR**

Les résultats des analyses pratiquées au CNR sont adressés au laboratoire demandeur par courrier. Les diagnostics positifs d'hépatite E sont également transmis par téléphone au médecin prescripteur.

Le rapport d'épidémiologie moléculaire est adressé aux ARS en cas d'épidémie et au service d'hémovigilance de l'EFS en cas de contamination transfusionnelle.

Un site web (<http://www.cnrvha-vhe.org/>) présente les informations récentes, les rapports d'activité ainsi que les coordonnées du CNR (téléphone, fax et mail) et les modalités d'envoi des prélèvements. Le rapport d'activité est mis en ligne dès réception de son évaluation par le comité des CNR. Le site liste également les publications du CNR.

### **○ Activité de conseil aux professionnels**

Les membres du CNR sont disponibles par téléphone (accueil des laboratoires) ou par mail (disponibles sur le site web) pour répondre aux interrogations des professionnels : conseils diagnostiques, type de prélèvement, conditions d'acheminement, etc...

### **○ Activités d'expertise**

AM Roque Afonso a participé en 2013 à un groupe de travail du HCSP sur le vaccin virosomal anti-Hépatite A.

J Izopet participe au groupe de travail de l'ANSM sur "Virus de l'hépatite E".

## **8 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR**

### **8.1 Décrire les activités de recherche en cours notamment ceux ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.**

- **Epidémiologie moléculaire du VHA en France de 2004 à 2012**

La surveillance des souches circulantes en France entre 2004 et 2012 (1944 séquences) montre une grande diversité liée aux souches importées par les voyageurs. La plus grande diversité est observée pour le génotype IB. Trois souches ont persisté plusieurs années sur le territoire par diffusion au sein de réseaux spécifiques. Une politique vaccinale ciblée sur ces réseaux pourrait diminuer l'incidence du VHA en France (Macé, communication orale, European Congress of Virology, Lyon 2013).

- **Rôle de la recombinaison dans la diversification du VHA**

La recombinaison virale pourrait être un moyen de diversification du VHA. Pour permettre ce phénomène une co-infection par des souches différentes est nécessaire. La caractérisation des virus produits après co-infection en culture cellulaire est en cours. La recherche de co-infections à partir de la collection du CNR a été réalisée à l'aide d'une RT-qPCR spécifique de sous-type développée par l'unité VAE de l'ANSES (Coudray, manuscrit soumis).

- **Etude des facteurs associés à la persistance du VHE chez l'immunodéprimé**

Nous avons étudié la diversité et la complexité de la quasi-espèce du VHE à la phase aiguë de l'infection chez les patients transplantés d'organe solide. La diversité génétique du virus est associée à la persistance du virus chez les patients transplantés d'organe (Lhomme, J Virol 2012, Lhomme, J Infect Dis 2014). Nous mettons en place des techniques permettant d'étudier la réponse immunitaire spécifique du VHE : réponse humorale (titrage des IgG) et réponse cellulaire par technique ELISPOT.

- **Etude de l'incidence des infections et des réinfections VHE chez les transplantés d'organes**

Nous avons déterminé la séroprévalence des anticorps dirigés contre le VHE avant la transplantation (38.4%) et l'incidence dans la première année suivant la greffe des primo-infections et des réinfections. L'incidence des primo-infections et celle des réinfections étaient similaires : 2,1 et 3,3% respectivement. De plus, cette étude a montré que les réinfections par le VHE chez des transplantés ayant des anticorps anti-VHE avant la greffe pouvait conduire à une infection chronique (Abravanel, J Infect Dis, 2014).

- **Mise en place d'un modèle animal**

En collaboration avec l'UMR INRA-ENVT 1225 IHAP, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, INRA, un modèle animal d'infection par le VHE a été développé.

### **8.2 Les publications et communications réalisées ou prévues en lien avec les activités du CNR**

En 2012-2014, l'équipe de Toulouse a contribué à 4 publications nationales, 18 publications internationales, 8 articles de revue anglophones et 2 communications orales internationales. J Izopet et F Abravanel ont réalisé 11 conférences sur invitation/séminaires en France et 4 à l'international.

L'équipe de Villejuif a contribué à 3 publications nationales, 8 publications internationales et 3 communications orales internationales. AM Roque-Afonso a réalisé 15 conférences sur invitation/séminaires en France et 2 à l'international.

La liste complète des publications figure en annexe.

## **9 Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux**

IFREMER/LNR Microbiologie des coquillages, Nantes

Des collaborations existent avec Soizick Le Guyader avec laquelle nous échangeons nos informations dans le cadre d'enquêtes de cas groupés d'hépatites E. Florence Abravanel, du CHU de Toulouse, a été accueillie 2 jours à L'Ifremer en septembre 2013 pour étudier les techniques de recherche de virus dans l'eau.

#### **ANSES/ENVA**

Une collaboration avec Nicole Pavio a été mise en place dans le cadre de l'enquête sanitaire et environnementale à Belle-Ile en Mer concernant le VHE. Elle a réalisé les prélèvements et les analyses dans l'élevage porcin source du cochon suspecté d'avoir contaminé les patients.

#### **ANSES/Laboratoire de sécurité des aliments**

Le CNR collabore avec Sylvie Pérelle, Maisons-Alfort, pour ce qui touche le VHA dans les produits alimentaires : échanges de souches, de techniques, accueil ponctuel d'étudiants.

### **10 Programme d'activité pour les années suivantes**

- Une étude cas-contrôle sur les infections VHE a été validée par le Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé (CCTIRS) et est en cours d'approbation à la CNIL. Il s'agit d'une étude cas témoin d'incidence nationale afin d'identifier les facteurs de risque associés à la survenue de l'hépatite E en France métropolitaine. La population cible sera composée des personnes résidant en France métropolitaine. Les cas d'hépatite E seront identifiés par le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse ou du CHU de Villejuif du Pr Roque-Afonso pour les habitants d'Ile de France. Chaque cas sera apparié à un témoin, IgG anti-VHE négatives, sur l'âge, le sexe et le département de résidence. Un moniteur d'étude contactera par téléphone les cas et les témoins pour obtenir leur consentement et compléter un questionnaire sur leurs habitudes de vie et leur alimentation.
- Etude de la diversité des souches de VHE à l'échelle nationale
- Poursuite de la recherche sur les co-infections et recombinaisons du VHA
- Mise en place de modèles cellulaires pour identifier les facteurs cellulaires induits au cours de l'infection VHA et les mécanismes viraux d'inhibition et/ou de détournement des défenses cellulaires (apoptose et autophagie)