

**Plan du rapport annuel
d'activité**

2015

Centre national de référence

**Virus des hépatites à
transmission entérique**

Année d'exercice

2014

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.

L'année 2013 avait été calme sur le front de l'hépatite A avec peu de cas groupés signalés, seulement 915 cas déclarés à l'INVS et une augmentation de la diversité des souches isolées au CNR en lien avec l'augmentation, parmi les cas analysés, de la notion de voyage ou de contact avec un sujet ayant voyagé. En 2014, le nombre de prélèvements adressés dans le cadre de l'observatoire ou de l'investigation d'épidémies a augmenté de près de 60%. Le CNR a été sollicité pour 12 investigations autour de cas groupés. Ces épisodes concernaient des patients n'ayant pas voyagé et étaient dus à des souches épidémiques différentes. Ils n'ont pas ou peu concerné des populations précaires ou à risque où les souches auraient pu diffuser au long cours. On constate donc la disparition des souches « autochtones ».

Grâce au typage moléculaire, le CNR a pu identifier 3 cas liés à une épidémie transfrontalière débutée en 2013, associée à la consommation de fruits rouges surgelés. Une réflexion a été conduite au niveau européen pour harmoniser les méthodes de typage et améliorer la détection des cas de transmission par des aliments importés contaminés sur le lieu de production, le typage moléculaire étant la seule manière d'identifier formellement ces transmissions et de poser un éventuel embargo sur l'importation de denrées en provenance de certains pays.

Le CNR VHE est en charge de l'activité de surveillance des infections à VHE. 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.

En 2014, le CNR a été impliqué dans l'identification et la caractérisation des souches VHE, avec une augmentation des tests réalisés au laboratoire de Toulouse par rapport à 2013 (18% d'augmentation des tests moléculaires) et une légère diminution des tests sérologiques car ces analyses sont de plus en plus réalisées par les partenaires du CNR. Cette augmentation de l'activité diagnostique est également rapportée par les laboratoires d'analyses spécialisées à recrutement national. Toutefois le nombre, de cas identifié reste stable entre 2013 et 2014.

En collaboration avec l'EFS, le CNR a étudié les facteurs de risques d'exposition des donneurs de sang des régions Midi-Pyrénées et Languedoc-Roussillon. De même, une étude de séroprévalence des donneurs de sang de Polynésie a été initiée avec un questionnaire sur leur mode de vie afin de mieux connaître leurs facteurs d'exposition, un premier cas ayant été rapporté à Papeete en juin 2014.

1 Missions et organisation du CNR

Comme en 2013, Trois biologistes sont impliqués dans le fonctionnement du CNR VHE : le Dr Florence Abravanel, le Dr Sébastien Lhomme et le Pr Jacques Izopet (coordination).

Pour le VHA, seuls 2 biologistes ont contribué au CNR en 2014, le Dr Muriel Macé et le Pr Roque-Afonso.

2 Activités d'expertise

2.1 Évolutions des techniques au cours de l'année 2014

Pour le VHA : mise en place d'une RT-PCR temps réel de screening devant l'augmentation des demandes à visée diagnostique

Pour le VHE : Optimisation des examens en systèmes cellulaires de production virale et Optimisation des examens moléculaires visant étudier les mécanismes de résistance du VHE au traitement par la ribavirine

2.2 Hépatite A : Activités d'expertise de l'année 2014

- Prélèvements reçus

En 2014, 504 prélèvements ont été reçus au CNR : 152 (30.2 %) au titre de l'observatoire des souches et 119 (23.6 %) dans le cadre d'investigations de cas groupés, soit une augmentation de près de 60% des prélèvements reçus dans ces contextes. Par ailleurs, 78 (15.5%) échantillons ont été adressés pour expertise et 155 (30.7 %) pour diagnostic.

Le nombre d'échantillons adressés pour diagnostic ou expertise (46% des échantillons reçus) a augmenté de 35% par rapport à 2013, en lien avec l'augmentation des demandes de recherche de l'ARN viral chez des sujets immunodéprimés présentant une cytololyse. Aucun cas d'hépatite A n'a été identifié dans ce contexte, et nous rappelons régulièrement à nos correspondants que les IgM VHA restent l'outil de référence pour le diagnostic de l'infection. En cas de négativité malgré une forte suspicion d'hépatite A, la répétition du test à 24-48h permet d'établir le diagnostic.

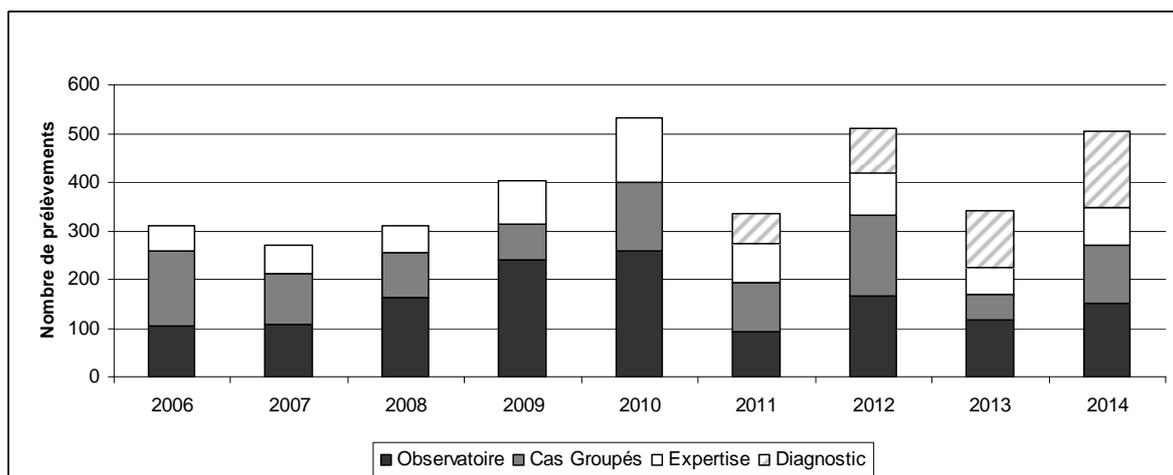


Fig. 1 : Motif d'envoi des échantillons au CNR

En 2014, les demandes de diagnostic et d'expertise provenaient essentiellement de l'île de France (66%). En revanche, l'île de France n'a contribué qu'à 31% des envois dans le cadre observatoire/cas groupés et la diversité de la provenance des échantillons a augmenté avec 50 départements contributeurs (contre 44 en 2013)

- **Analyses réalisées**

La recherche du génome VHA a été réalisée sur les 504 échantillons reçus.

- L'ARN viral était indétectable dans les 155 échantillons adressés pour diagnostic dans un contexte d'immunodépressions, sans notion de résultat d'IgM. Aucune autre analyse n'a été réalisée sur ces échantillons.
- L'ARN viral était détectable dans 257 échantillons. Tous sauf un présentaient des IgM anti-VHA détectables : 106 (41.2%) provenaient d'investigations d'épidémies et 151 (58.8%) de l'observatoire. Le seul échantillon négatif correspondait à la phase d'incubation d'un patient pour lequel des échantillons séquentiels nous ont été adressés. Les 257 échantillons ont été génotypés par séquençage et analyse phylogénétique.
- L'ARN viral était indétectable dans 91 échantillons présentant des IgM VHA détectables (recherche équivoque, n=6, ou positive, n=85). L'âge moyen des patients IgM+/ARN+ était significativement inférieur à celui des patients IgM+/ARN- (26 ans+/-19 vs. 57 ans +/-23, p<10⁻⁴).

L'avidité des IgG VHA a pu être mesurée dans 88 cas

- une avidité non déterminable avec des anticorps totaux négatifs était retrouvée dans 3 cas (3.4%), correspondant à des faux positifs
- une avidité des IgG <70% était retrouvée dans 6 cas (6.8%) : 4 sujets ayant une notion vaccinale dans les 2 mois précédents et 2 patients présentant des transaminases élevées, suggérant une infection récente avec une virémie déjà négativée.
- une avidité des IgG ≥70% était retrouvée dans 79 cas (89.8%), correspondant à une infection ancienne (≥ 2 mois). Un contrôle des IgM par la technique Vidas a pu être réalisé sur 23 échantillons et est revenu négatif dans 10 cas, suggérant des faux positifs de la 1^{ère} technique diagnostique.

Au total, parmi les échantillons avec des IgM anti-VHA initialement détectables (n=348), seuls 74.4% correspondaient à une infection VHA récente, comme habituellement retrouvé au CNR.

2.3 Hépatite E : Activités d'expertise de l'année 2014

- **Prélèvements reçus au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse**

En 2014, le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse a réalisé 4279 analyses sérologiques (-6,4% rapport à 2013) et 5282 tests moléculaires (+18% par rapport à 2013) pour le diagnostic et la caractérisation des souches de VHE. Les échantillons analysés étaient originaires de patients issus de France métropolitaine ou des départements et régions d'outre-mer (Polynésie française, Guyane, Nouvelle Calédonie et Réunion).

	% sérologies	% tests moléculaires
CHU Toulouse	78,3%	49,8%
Centres Hospitaliers de Midi-Pyrénées	7,6%	5,2%
CH et CHU hors Midi-Pyrénées	10,6%	27%
EFS	3,2%	10,2%
Laboratoires privés	0,3%	7,8%

- **Prélèvements reçus par les autres laboratoires**

L'Hôpital Paul Brousse à Villejuif a réalisé 5022 analyses sérologiques et 3337 tests moléculaires pour le diagnostic et la caractérisation des souches de VHE. Le laboratoire d'analyses spécialisées Cerba a réalisé 13969 analyses sérologiques et 509 PCR VHE pour des laboratoires privés de France ou des DOM-TOM. Le laboratoire d'analyses spécialisées Biomnis a réalisé 10787 tests d'IgM anti-VHE et 514 PCR VHE.

- **Diagnostic des cas d'hépatite E**

Au laboratoire de virologie de Toulouse, 386 cas d'hépatite E ont été diagnostiqués dont 306 cas virémiques. Le laboratoire Cerba a répertorié 652 patients avec une hépatite E, dont 36 cas virémiques (207 de ces échantillons ont été transmis au CNR de Toulouse pour quantification et typage). Le laboratoire Biomnis a répertorié 631 cas d'hépatite E, dont 47 cas virémiques. Au laboratoire de virologie de Paul Brousse, 114 infections virémiques ont été diagnostiquées. Le CHU de Marseille a identifié 20 cas d'hépatite E. Le CHU de Bordeaux a identifié 35 cas d'hépatite E dont 16 cas virémiques. Le CHU de La Pitié-Salpêtrière a identifié 16 cas d'hépatite E documentés par sérologie et PCR.

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 échantillons testés
		Total	Importés	Autochtones	
2002	209	13	4	9	6,2
2003	155	14	11	3	9,0
2004	233	20	4	16	8,5
2005	327	39	19	20	11,9
2006	583	38	14	24	6,5
2007	1012	107	10	97	10,5
2008	1700	180	21	159	10,5
2009	2150	206	23	183	9,6
2010	2549	232	16	216	9,1
2011	3429	266	19	249	7,6
2012	17566	801	9	801	4,6
2013	35416	1851	3	1848	4,9
2014	44382	1825	12	1813	4,1

En 2014, 45,5% % 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 55,5% chez des patients vivants en dehors de ces régions. L'âge moyen des cas est de 55 ± 15 ans. Le sex-ratio homme/femme est de 1,9.

En conclusion, les demandes de diagnostic de VHE augmentent mais le nombre de cas d'infection par le VHE répertorié reste stable par rapport à 2013.

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

Le CNR VHE a fourni du matériel biologique au CHU de Bichat, pour la validation des tests moléculaires de recherche de l'ARN VHE.

2.5 Evaluation des trouses de diagnostic du VHE.

- Evaluation du nouveau test rapide IgM anti-HEV (Wantai)

Le CNR VHE a déterminé la sensibilité d'un nouveau test immunochromatographique permettant la recherche des IgM anti-HEV en étudiant des échantillons prélevés à la phase aiguë chez des immunocompétents (n=30) et chez des immunodéprimés (n=30). Celle-ci a été comparée à la sensibilité du test en microplaque anti-HEV IgM de Wantai. De plus, le risque de réactivité non spécifique a été étudié avec 30 échantillons prélevés chez des sujets ayant une infection CMV ou EBV. La sensibilité du test rapide est de 90% (95%CI: 72.1-100%) chez l'immunocompétent, sans différence significative avec celle du test microplaque (sensibilité: 96.6%, 95%IC: 78,77-100%; p=0,61). Chez l'immunodéprimé, la sensibilité est de 73,3% (95%IC: 55,4-91,2%) et celle du test en microplaque de 83,3% (95%IC: 65,4-100%; p=0,53). Aucune fausse réactivité n'a été observée avec le test rapide alors que 2 échantillons (6,6%) étaient faussement positifs avec le test en microplaque.

- Evaluation de la nouvelle trousse de détection des IgG anti-HEV d'Adaltis

Le CNR VHE a déterminé à l'aide du standard international (code NIBCS 95/854) et d'échantillons qualifiés avec la trousse IgG anti-HEV de Wantai, les performances de la nouvelle trousse Adaltis de détection des IgG anti-HEV. La trousse IgG anti-HEV d'Adaltis, EIAgen HEV IgG kit, présente une excellente spécificité analytique (100%). La limite de détection, calculée par l'analyse probit, du test est de 0,96 U/ml (IC95% : 0.81-1.33 U/ml). La sensibilité analytique a été améliorée par rapport à l'ancienne trousse, mais elle demeure inférieure au comparateur, Wantai HEV IgG ELISA, pour laquelle la limite de détection a été déterminée à 0,25 U/ml (Abravanel, J Infec Dis, 2014).

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 DO, le nombre de souches analysées par rapport au nombre de cas déclarés a varié entre 17 et 33% (données DO 2014 non disponibles à la rédaction du rapport), sans qu'il soit possible de croiser les données pour raisons réglementaires. Les années 2010 et 2012 ont été marquées par une recherche active de cas à la demande des ARS. Les années 2013 et 2014 n'a pas connu de tels épisodes

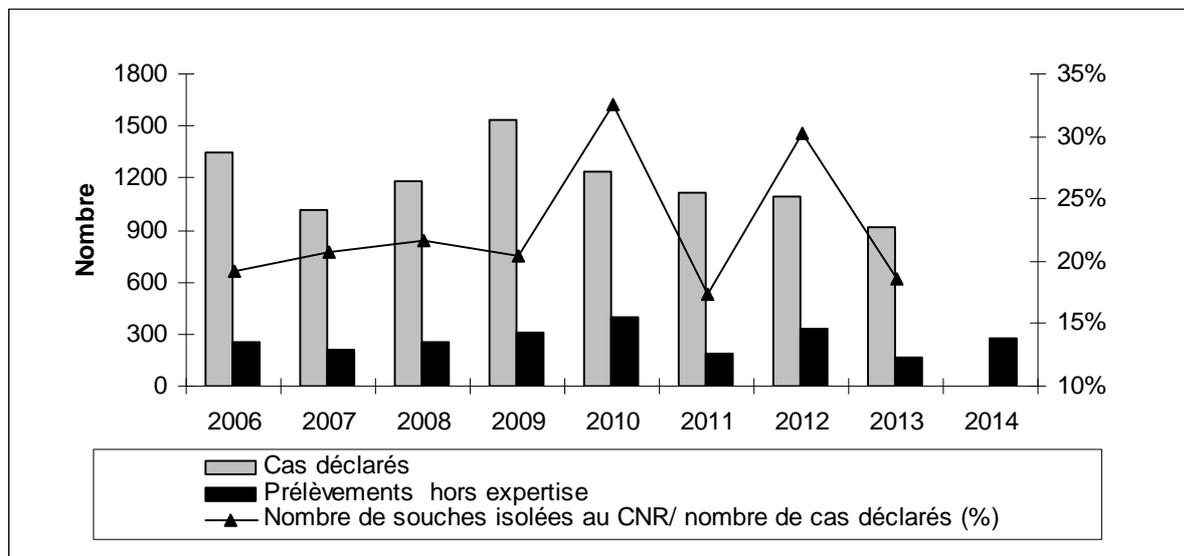


Fig. 2 : Nombre de souches isolées au CNR par rapport au Nombre de cas déclarés (DO)

○ Définition de l'échantillon de souches isolées

En 2014, 257 infections virémiques ont été identifiées au CNR. Contrairement aux années précédentes, c'est une prédominance féminine qui est observée avec 52.5% des cas. L'âge moyen des cas est de 26 +/-19 ans, sans évolution significative ces dernières années.

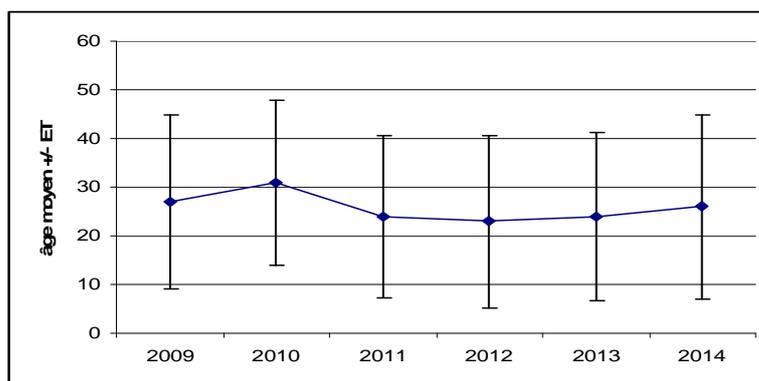


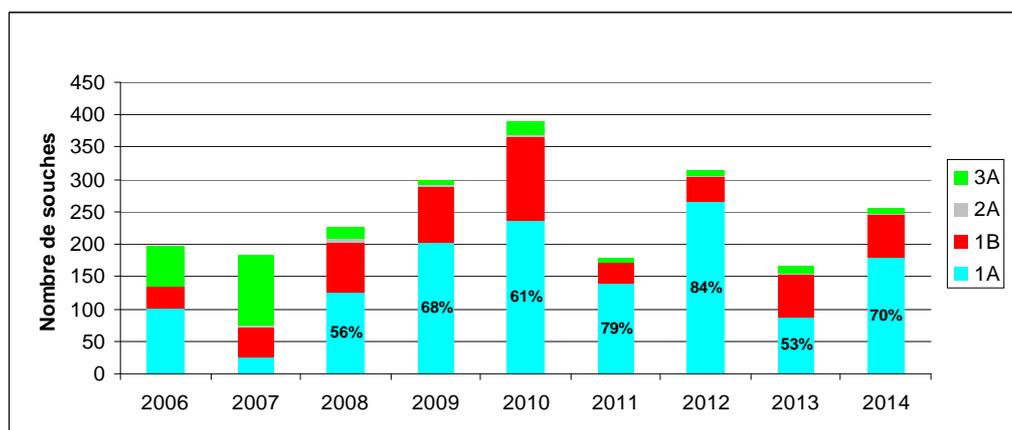
Fig. 3 : Evolution de l'âge moyen des cas diagnostiqués au CNR

L'année 2013 avait été marquée par une augmentation importante de la proportion de cas renseignés avec notion de voyage ou de contact avec un sujet malade ayant voyagé (47.6%) et seulement 2 épisodes de cas groupés. En 2014, cette proportion revient à 26%, c'est-à-dire au niveau des années précédentes, et un nombre plus important de cas groupés est identifié.

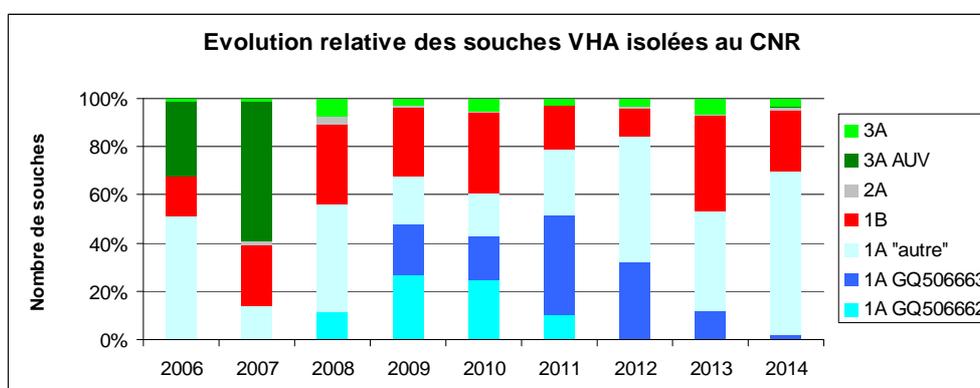
Les souches ont été isolées majoritairement chez des patients résidant en Ile de France (31.1%) et 3 régions (IDF, Languedoc Roussillon et Rhône Alpes) ont contribué à plus de 70% des souches isolées :

Origine des patients virémiques	Nombre de souches	%
Aquitaine	6	2,3%
Auvergne/Limousin	5	1,9%
Haute et Basse Normandie	6	2,3%
Bourgogne	3	1,2%
Bretagne	1	0,4%
Centre	4	1,6%
Languedoc Roussillon/midi Pyrénées	38	15,2%
Ile de France	80	31,1%
Alsace/Lorraine	10	3,9%
Nord Pas de Calais/Picardie	6	2,3%
Provence Alpes Côte d'Azur	19	7,4%
Pays de Loire/ Poitou Charentes	10	3,9%
Rhône Alpes	63	24,5%
Etranger (Afrique du Nord et de l'Ouest)	6	2,33%
TOTAL	257	

L'évolution de la répartition des génotypes circulants montre la ré-augmentation de la proportion des souches de sous-type IA représentant 70% des souches isolées en 2014 :



Cette évolution ne s'accompagne pas de la résurgence des souches « autochtones », en particulier de la souche 1A GQ506663 (en bleu foncé ci-dessous), qui diffusait dans la communauté du voyage :



Les génotypes IIA et IIIA restent minoritaires et associés à un voyage dans 58% des cas, Afrique de l'ouest et Inde/Océan Indien, respectivement. La fréquence de la notion « voyage » est de 35% pour les sous-types IB et de seulement 20% pour les sous-types IA.

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 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 l'éventuelle circulation en France d'une souche isolée dans un autre pays. L'identification d'épidémies transfrontalières associées à un facteur de risque donné, notamment alimentaire est ainsi possible.

4 Activités de surveillance : Hépatite E

• Surveillance à la demande de l'Etablissement Français du Sang (EFS)

○ Caractérisation des pools de plasma positifs de l'EFS

Les pools de plasma de l'EFS servant à la préparation du plasma frais congelé traité par solvant-détergent ont été testés en PCR. Les pools ARN VHE positifs sont ensuite adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification et typage des souches détectées.

○ Enquêtes lors de suspicion de contamination transfusionnelle

Le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse a été sollicité pour réaliser 4 enquêtes avec suspicion de contamination transfusionnelle.

La première enquête a concerné un patient traité par chimiothérapie pour un lymphome non hodgkinien et multi-transfusé ayant développé une hépatite E à Lille. Le patient était infecté par un génotype 3f. Les 64 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR VHE au laboratoire de virologie de Toulouse. Aucun échantillon n'était positif écartant une contamination transfusionnelle.

La 2^{ème} enquête a concerné un patient transplanté à Strasbourg et multi-transfusé ayant développé une hépatite E de génotype 3f. Le patient était infecté par un génotype 3f. Les 67 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR VHE. Aucun échantillon n'était positif écartant une contamination transfusionnelle.

La troisième enquête a concerné une patiente avec myélodysplasie et multi-transfusée ayant développé une hépatite E à Bordeaux. Les 35 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR VHE. Aucun échantillon n'était positif écartant une contamination transfusionnelle.

La quatrième enquête a concerné un patient allogreffé de moelle et multi-transfusé ayant fait une hépatite E à Bordeaux. Les 40 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR VHE. Un donneur était ARN VHE positif mais la souche n'a pas pu être typée en raison de la très faible virémie (176 copies/ml). Les souches du patient et du donneur de sang n'ont pas pu être comparées.

4.1 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, 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, Besançon, Brest, Clermont-Ferrand, Nantes, Nancy, Nice, Nîmes, Poitiers, Saint-Etienne, Reims et Rouen. D'autre part, les CHU de Bordeaux, Caen, Grenoble, Lille, 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.

Les laboratoires d'analyses spécialisées Biomnis et Cerba ont communiqué 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.

Le laboratoire de virologie de Villejuif travaille en collaboration avec les principaux laboratoires parisiens et a fourni le nombre de cas d'hépatite E identifiés en 2014.

Le laboratoire de virologie du CHU de Marseille a également fourni le nombre de cas d'hépatite E identifiés en 2014.

- Caractérisation des souches

Pour 524 échantillons ARN VHE positifs, le génotype a été déterminé par séquençage.

La répartition des génotypes est la suivante :

Génotype	1	2	4	3a	3b	3c	3e	3i	3f	Non typé
Nombre en 2014 (%)	7 1,3%	1 0,2%	7 1,3%	1 0,2%	1 0,2%	115 21,6%	6 1,1%	32 6,1%	276 51,9%	78 14,6%

4.2 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Le laboratoire a étudié les facteurs associés à l'échec du traitement par ribavirine administré pendant 3 mois. Nous avons pu montrer que la persistance de l'excrétion virale dans les selles après 3 mois de traitement est systématiquement associée à une rechute. Ainsi, la prolongation de la durée du traitement au-delà de 3 mois est donc recommandée si l'ARN viral est toujours détectable dans les selles après 3 mois de monothérapie avec la ribavirine (Abravanel, Clin Infect Dis, 2015).

De plus, la cinétique de décroissance de l'ARN viral lors de l'administration de ribavirine a été étudiée. La décroissance de la concentration plasmatique de l'ARN viral dès la première semaine est un facteur prédictif indépendant de la guérison. La baisse d'au moins 0,5 log copies/ml de l'ARN viral plasmatique 7 jours après le début du traitement (J7) a une valeur prédictive positive de guérison de 88%. Aucune corrélation entre les concentrations de ribavirine sanguine mesurée à J7 ou 2 mois après le début du traitement et la guérison n'a été objectivée. Ainsi une décroissance de l'ARN viral rapide est un nouvel outil pour mieux définir la durée optimale du traitement (Kamar et al., sous presse).

Le CNR a mis au point des techniques permettant l'étude des mécanismes de résistance à la ribavirine. Les patients en situation d'échec au traitement par ribavirine en France sont en cours d'analyse au laboratoire.

5 Alerte : Hépatite A

• Procédure d'alerte

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

a) L'INVS redescend au CNR les 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. Deux alertes ont été traitées en 2014, avec réponse conjointe INVS/CNR.

b) Inversement, devant l'identification d'une même souche touchant plusieurs patients, le CNR alerte le réseau HAVNet et l'INVS qui relaie l'information via la plateforme EPIS-FWD.

c) Devant la survenue de cas groupés, les ARS sollicitent le CNR pour l'investigation : en 2014, le CNR a été ainsi sollicité pour l'investigation de 12 épisodes de cas groupés, impliquant au total 95 patients. Certains de ces épisodes sont décrits ci-dessous.

Lors de l'une des enquêtes, une souche ayant fait l'objet d'une alerte Européenne en 2013 a été identifiée, l'information a été aussitôt relayée à l'INVS et au réseau HAVNet.

d) Devant une augmentation du nombre de cas ou la survenue de formes atypiques, un laboratoire peut faire appel au CNR pour leur analyse :

- le laboratoire du CHU de Grenoble nous a sollicités pour augmentation du nombre de cas diagnostiqués (19 cas) ;
- nous avons sollicité une enquête autour d'une hépatite fulminante (5 cas) ;
- l'EFS Ile de France nous a sollicités pour l'expertise d'une suspicion de contamination transfusionnelle.

• Détection et investigation des cas groupés et phénomènes anormaux

Réponse aux alertes européennes

- 27/11/2014 : Notification de cas groupés en Suède associés à la séquence « 14-15830_IA_hVP1 », de sous-type IA. Cette séquence était homologue de la séquence « autochtone » GQ506663-FR09-Yonne, associée à la communauté des gens du voyage, et proche des souches importées d'Afrique du Nord. Seuls 2 enfants ont été infectés par cette souche en 2014, sans notion de voyage, l'un d'eux appartenait à la communauté du voyage.
- 16/12/14: Notification de cas groupés en Allemagne avec suspicion d'origine alimentaire, associés à la séquence « V14-33884_IA_Germany_2014 », de sous-type IA. Pas d'identification de cas similaires en France, mais contribution à l'identification de l'origine géographique supposée, la souche présentant 99.3% d'homologie avec celle d'un sujet ayant voyagé en Slovaquie en 2013.

Cas groupés autour de Maisons d'Accueil Spécialisé dans l'Aisne. Identification d'une souche épidémique transfrontalière transmise par la consommation de fruits rouges surgelés

A l'occasion de l'investigation de cas groupés survenus dans des Maisons d'Accueil Spécialisé de l'Aisne en février 2014, impliquant un adulte handicapé, un aide-soignant et un agent de restauration d'un établissement fournissant les repas pour les MAS, le CNR a identifié la souche de génotype IA KF182323, ayant fait l'objet d'une alerte européenne en 2013.

Cette souche a été initialement responsable de plusieurs centaines de cas en Italie, puis a été identifiée dans d'autres pays (Allemagne, Pologne, Irlande, Pays Bas) et également en France en 2013

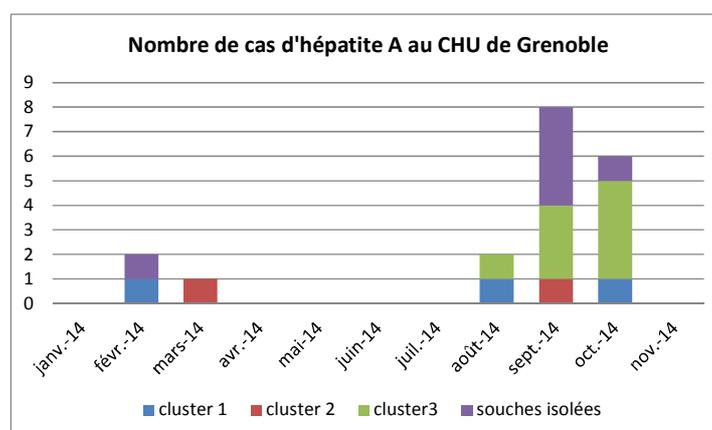
(2 patients). Un questionnaire standardisé avait retrouvé une association avec la consommation de fruits rouges surgelés.

Ce même questionnaire, appliqué aux 3 sujets identifiés, a relevé la consommation de fruits rouges. L'enquête de traçabilité a retrouvé les lots incriminés, dans lesquels l'ARN viral a pu être détecté par le laboratoire de la DGCCRF à Montpellier. Parallèlement, la souche a également pu être détectée dans plusieurs lots en Italie, toutefois la provenance des fruits rouges n'a pu être identifiée avec précision. Les conclusions de l'ECDC sont consultables à l'adresse suivante : <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ROA-Hepatitis%20A%20virus-Italy%20Ireland%20Netherlands%20Norway%20France%20Germany%20Sweden%20United%20Kingdom%20-%20final.pdf>.

Suspicion de cas groupés d'hépatite A en Isère

Le laboratoire de virologie du CHU de Grenoble a sollicité le CNR devant une augmentation du nombre d'IgM VHA positives. Il n'y avait pas parallèlement d'augmentation du nombre de cas ayant fait l'objet d'une DO, et il n'y a pas eu d'investigation menée par l'ARS. L'analyse a porté sur 19 patients prélevés entre le 3/02 et le 21/10/2014, d'âge médian 15 ans (5-75). Pour certains, le facteur de risque « sans domicile fixe » et « partage de point d'eau » était signalé ; il n'y avait pas de notion de voyage.

Plusieurs souches ont été identifiées. L'analyse phylogénétique a révélé plusieurs regroupements de séquences (clusters) : 2 clusters de sous-type IA contenant de 2 à 3 séquences, 1 cluster de sous-type IB contenant 9 séquences et 5 séquences uniques (4 de sous-type A et 1 de sous-type B). La répartition de ces souches dans le temps figure ci-dessous :



Au sein des cas observés, seul le cluster 3 (en vert ci-dessus) correspond certainement à l'introduction puis à la transmission secondaire d'une souche importée et donc à des cas groupés.

Cette analyse montre que les cas diagnostiqués entre août et octobre ne correspondaient pas à un épisode unique de transmission. Le nombre important de souches « uniques ou isolées » à cette période correspond à la surincidence habituelle observée à cette période.

Les 2 clusters de sous-type IA dispersés dans le temps : février, août et octobre pour le cluster 1 et mars, septembre pour le cluster 2 peuvent être interprétés comme la persistance de ces souches par transmission asymptomatique ou par des réimportations à partir de la même zone géographique.

Investigation de cas groupés d'hépatite A dans l'Hérault liés à la fréquentation d'une boulangerie

Suite à l'augmentation du nombre de cas signalés, l'ARS Languedoc Roussillon a sollicité le CNR pour réalisation de l'épidémiologie moléculaire. L'analyse a porté sur 36 patients prélevés entre le 22/11/2013 et le 24/02/2014.

L'ARN viral était indétectable chez des patientes de 33, 68 et 69 ans, des avidités >70% ont permis d'exclure une infection récente. Parmi 33 patients virémiques, d'âge médian 36 ans (8-72), une même souche de génotype IA a été retrouvée chez 28 patients n'ayant pas voyagé. Chez les 5 autres patients, des souches uniques de génotype IA et une souche de génotype IIIA ont été identifiées. Dans 2 de ces cas, la notion de voyage était rapportée (Maroc et Liban).

La chronologie des cas infectés par la souche épidémique était compatible avec une transmission à partir du cas index, pâtissier (prélèvement le 22/11) avec des cas secondaires diagnostiqués à partir du 11/12/2013. La souche épidémique n'était pas connue dans la base de données du CNR (2004-2015) et son mode d'introduction reste à déterminer.

A noter que parmi les cas signalés, 3 n'étaient pas des infections récentes et 4 avaient été infectés indépendamment de cet épisode.

Investigation d'une suspicion d'hépatite A transfusionnelle

Une patiente souffrant d'une névrite oculaire auto-immune a eu des échanges plasmatiques le 18/8/14. Trois semaines plus tard, le 3/09/14, une infection aiguë par le virus de l'hépatite A est diagnostiquée sur la base de la positivité des IgM. Cette patiente avait par ailleurs séjourné en zone d'endémie (Mali) dans les 6 semaines précédant l'apparition des IgM, avec un retour en France le 1/8/14.

A la demande de l'AFS, des échantillons séquentiels ont permis de montrer que la patiente était déjà virémique le 18/8 et donc en phase d'incubation au moment des échanges plasmatiques. La transmission transfusionnelle a été exclue. Une souche de génotype IB, génétiquement proche des souches importées d'Afrique de l'ouest a été identifiée, confirmant la contamination lors du voyage au Mali.

Investigation de cas atypiques en région PACA

A la demande de l'ARS Provence Alpes Cote d'Azur, le CNR a expertisé des cas atypiques d'hépatite A ayant fait l'objet d'une Déclaration Obligatoire car ils présentaient des IgM VHA positives, mais présentant des transaminases normales. L'analyse a porté sur 5 patients, prélevés entre le 3/02 et le 27/02/2014.

L'âge moyen des patients concernés est élevé (68+/-14 ans), les transaminases normales ou faiblement élevées (58+/-36 UI/ml) et l'index des IgM VHA au laboratoire déclarant était faible (3+/-1 ; technique Beckman). Ces trois éléments ont fait suspecter des faux positifs IgM. La recherche d'ARN viral était négative et l'avidité des IgG VHA montrait une infection ancienne dans tous les cas, excluant une infection en cours par le VHA.

Dans 4 cas sur 5, la recherche d'IgM VHA par une autre technique était négative. Dans 1 cas, la positivité des IgM pouvait être liée à une réactivation immunitaire.

Ces cas soulignent l'importance de ne prescrire des IgM VHA qu'en cas de symptômes ou d'élévation des transaminases et de solliciter des examens complémentaires auprès du CNR, au moindre doute.

6 Alerte : Hépatite E

o Procédure d'alerte

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

o Détection et investigation des cas groupés et phénomènes anormaux

Suite à l'alerte fin novembre 2013 de plusieurs cas d'hépatite E à Belle-Ile en Mer, les analyses épidémiologiques coordonnées par Mr Yvonnick GUILLOIS, de l'ARS Bretagne, ont été conduites. Elles ont permis de suspecter un repas de mariage comme source commune de contamination. L'ARS a conduit un interrogatoire chez les convives et des analyses sérologiques et moléculaires ont été réalisées par le CNR chez les convives. Un cochon grillé farci a été servi lors du repas. La détection du VHE au sein de l'élevage ayant fourni le cochon a été réalisée par le Dr Pavio de l'ANSES. Cette étude a permis de suspecter comme source de la contamination la farce du cochon grillé servie lors du mariage, composée d'abat du cochon. De plus, Mme Le Guyader, de l'Ifremer a montré que la même souche de virus pouvait être retrouvée dans les eaux usées à Belle-Ile en mer, démontrant la contamination de l'environnement suite à cette épidémie localisée. Les analyses phylogénétiques ont montré le lien entre les souches des patients, celle de l'élevage de cochon et celle présente dans l'environnement (manuscrit en préparation).

En septembre 2014, le CHU de Clermont-Ferrand a alerté l'ARS Auvergne (Mme Emmanuelle VAISSIERE) et le CNR VHE pour 5 cas d'hépatite E survenus en 1 mois. Des analyses phylogénétiques ont été réalisées afin de comparer les souches de ces 5 patients. L'un des patients était infecté par un génotype 3c et les 4 autres par un génotype 3f. Toutefois, les résultats ne montrent pas d'homologie de séquences entre les souches de ces 4 patients. De plus, l'enquête épidémiologique de l'ARS n'a pas mis en évidence de lien entre les patients. Il est donc peu probable que les 5 derniers cas d'hépatite E déclarés au CHU de Clermont Ferrand soient liés entre eux.

Enfin, le CNR a été sollicité par le CHU de Rouen, pour un agent ayant développé environ 6 à 7 semaines après un accident d'exposition au sang (AES) une hépatite E aiguë symptomatique. L'agent s'était blessé avec un patient hospitalisé aux urgences pour une hépatite cytolitique associée à un ictère d'origine inconnue. Le CNR a confirmé le diagnostic d'hépatite E avec un génotype 3c chez l'agent hospitalier mais les analyses sérologiques et de biologie moléculaire ont écarté une hépatite E chez le patient source de l'AES. L'agent hospitalier s'est donc contaminé par une autre source.

7 Activités d'information, de formation et de conseil

• Enseignement, Formation

Les membres du CNR VHE participent aux enseignements concernant le VHE dispensés aux étudiants en Médecine (DFGSM3), 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, M2 recherche et M2 Pro. Il accueille en 2014-2015, 2 étudiants en thèse d'université : Hugo Barrague et Jordi Gouilly.

A Villejuif, Le service de virologie accueille 2 internes par an. Le laboratoire est terrain de stage en M1 et M2. Il a accueilli en 2013-2014, Camélia Mokhtari (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 les chapitres sur le virus de l'hépatite E et le Virus de l'hépatite A pour la version 2015 du REMIC (Référentiel en Microbiologie).

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**

- Consultation d'experts sur la caractérisation moléculaire du VHA et la détection des cas groupés (Expert consultation on molecular characterization of hepatitis A virus for outbreak detection and response), sous l'égide de l'ECDC à Stockholm, les 23 et 24 octobre. (Pr Roque Afonso)
- Journée d'échanges « Virus et Aliments », sous l'égide de la DGAL le 18 novembre (Pr Roque-Afonso)
- Nous avons travaillé avec la société française « rhumatisme et inflammation » afin d'étudier l'impact du VHE chez les patients recevant des traitements immunosuppresseurs pour leur maladie rhumatismale (Bauer et al., Medicine, 2015).

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.

- **Apport d'une technologie basée sur la mesure de l'impédance cellulaire dans la détection précoce de l'infectiosité des souches sauvages de VHA** (coll. ANSES)
- **Rôle de la recombinaison dans la diversification du VHA** : Caractérisation par séquençage profond du virus produit après co-infection en culture cellulaire.

- **Identification de souches recombinantes du VHE**

Le CNR VHE a étudié la région riche en proline de virus prélevés lors de la phase aiguë (n = 59) ou lors de la phase chronique de l'infection (n = 27) chez les patients transplantés d'organe solide. Parmi ces 27 souches, nous avons identifié des événements de recombinaison 12, 34, 48, et 88 mois après l'infection. Les séquences insérées avaient pour origine le génome viral ou le génome humain. Elles étaient enrichies en acides aminés aliphatiques ou basiques conférant de nouveaux sites de régulation pouvant favoriser la réplication virale (Lhomme, J Virol, 2014).

- **Séroprévalence et facteur de contamination chez les donneurs de sang du Sud-Ouest**

Le CNR VHE a étudié 3353 donneurs de sang de Midi-Pyrénées et Languedoc-Roussillon. La prévalence des IgG était de 39,1% et variait de 20% à 71,3% selon les départements. La détection des IgG anti-HEV était corrélée à l'âge ($p < 0,001$), la consommation de saucisses de foie crues ($p < 0,001$), d'abats ($p = 0,003$) ou de moules ($p = 0,02$). La détection des IgM anti-HEV IgM était associée au sexe masculin ($p = 0,01$) et à la consommation de saucisses de foie crues ($p = 0,004$). Le virus de l'hépatite E est hyperendémique dans le Sud-ouest de la France, mais les habitudes alimentaires n'expliquent pas à elles seules l'exposition au virus suggérant d'autres sources de contamination notamment environnementales (Mansuy, Eurosurveillance, sous presse).

- **Séroprévalence et facteur de contamination chez les donneurs de sang de Polynésie Française**

Le CNR VHE a étudié 300 donneurs de sang de Polynésie. La prévalence des IgG était de 7,7% et celle des IgM de 2,3%. L'ARN du virus a été recherché chez tous les donneurs avec des IgM positifs mais aucun échantillon n'était positif. Un questionnaire rempli par tous les participants est en cours d'analyse afin de déterminer les facteurs d'exposition au HEV en Polynésie.

- **Etude nationale de la prévalence des dons ARN VHE positifs**

L'EFS a testé 558 pools correspondant à 53 234 dons. Vingt-deux pools positifs pour l'ARN VHE comprenant 24 donneurs positifs ont été confirmés par le CNR VHE. La prévalence de dons de plasma ARN VHE positif est donc de 0,045%, soit environ 1/2200 donneurs. La majorité des dons (22/24) avaient une recherche des IgG et les IgM anti-HEV négative (Gallian, Emerg Infect Dis, 2014).

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

En 2012-2015, l'équipe de Toulouse a contribué à 7 publications nationales, 28 publications internationales, 11 articles de revue anglophones et 13 communications orales internationales. J Izopet et F. Abravanel ont réalisé 20 conférences sur invitation/séminaires en France.

L'équipe de Villejuif a contribué à 3 publications nationales, 15 publications internationales, 4 communications orales internationales, 2 communications affichées internationales et 3 communications affichées nationales. AM Roque-Afonso a réalisé 16 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

- **Coopération avec les laboratoires de santé animale et d'hygiène alimentaire dont les LNR**

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. Validation inter-laboratoire de la RT-PCR temps réel pour la détection du VHA.

Obtention d'un contrat conjoint DIM-Malinf en 2014 sur les modifications de la signalisation cellulaire suite à l'infection par le VHA

IFREMER

Le CNR VHE collabore avec Soizick Le Guyader avec laquelle nous échangeons nos informations dans le cadre d'enquêtes de cas groupés, dont Belle-Ile-en-Mer en 2013-2014.

ANSES/ENVA

Le CNR VHE collabore avec Nicole Pavio dans le cadre de l'enquête de Belle-Ile-en-Mer pour l'étude du réservoir porcin.

10 Programme d'activité pour les années suivantes

- Une étude 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 par la CNIL en 2014. Elle a débuté en janvier 2015. Il s'agit d'une étude cas-témoin afin d'identifier les facteurs de risque associés à la survenue de l'hépatite E en France métropolitaine. Chaque cas d'hépatite E sera apparié à un témoin, IgG anti-VHE négatives, sur l'âge, le sexe et le département de résidence. Un moniteur d'étude contacte par téléphone les cas et les témoins compléter un questionnaire sur leurs habitudes de vie et leur alimentation. De plus, les patients infectés ayant décrit des troubles neurologiques seront inclus dans une sous-étude visant à déterminer la fréquence et à caractériser ces atteintes neurologiques. Elle sera conduite par le Dr Cintas, neurologue au CHU de Toulouse.
- 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)

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR des virus des hépatites à transmission entérique

1.1 Missions et objectifs majeurs du CNR et des laboratoires associés

Le CNR des hépatites A et E a des missions d'expertise microbiologique, de surveillance épidémiologique et d'alerte.

Dans sa mission d'expertise, le CNR évalue des tests commercialisés et développe des tests sérologiques et moléculaires pour le diagnostic et la confirmation des infections et le typage moléculaire des souches ; Il s'attache à caractériser les souches responsables d'hépatites fulminantes et, dans le cas du VHE, celles responsables d'infections chroniques.

Dans sa mission de surveillance, le CNR contribue à l'investigation d'épidémies par la caractérisation des souches épidémiques, la recherche des sources de contamination et la participation aux réseaux de surveillance internationaux.

L'incidence de l'hépatite A est déterminée grâce à la déclaration obligatoire.

L'hépatite E n'est pas une maladie à déclaration obligatoire. Le CNR VHE organise la surveillance des cas d'hépatite E en répertoriant les cas qui lui sont transmis par ses partenaires publics ou privés impliqués dans le diagnostic virologique en France.

Dans sa mission d'alerte, le CNR signale à l'InVS tout phénomène inhabituel : cas groupés, modification des formes cliniques, apparition de nouvelles souches, nouveaux modes de contamination. En particulier, il est impliqué dans les études de transmission transfusionnelle, en collaboration avec l'EFS.

Pour remplir ses missions, le CNR a mis en place un réseau de laboratoires publics et privés, qui adressent des échantillons pour surveillance épidémiologique, diagnostic ou expertise.

1.2 Equipes

Créé en 2002, le CNR des virus des hépatites à transmission entérique a été renouvelé en 2012 sous la direction du Pr Roque-Afonso en charge de l'hépatite A, à Villejuif, en association avec le Pr Izopet en charge de l'hépatite E, à Toulouse. L'activité du CNR est intégrée aux deux laboratoires de Virologie.

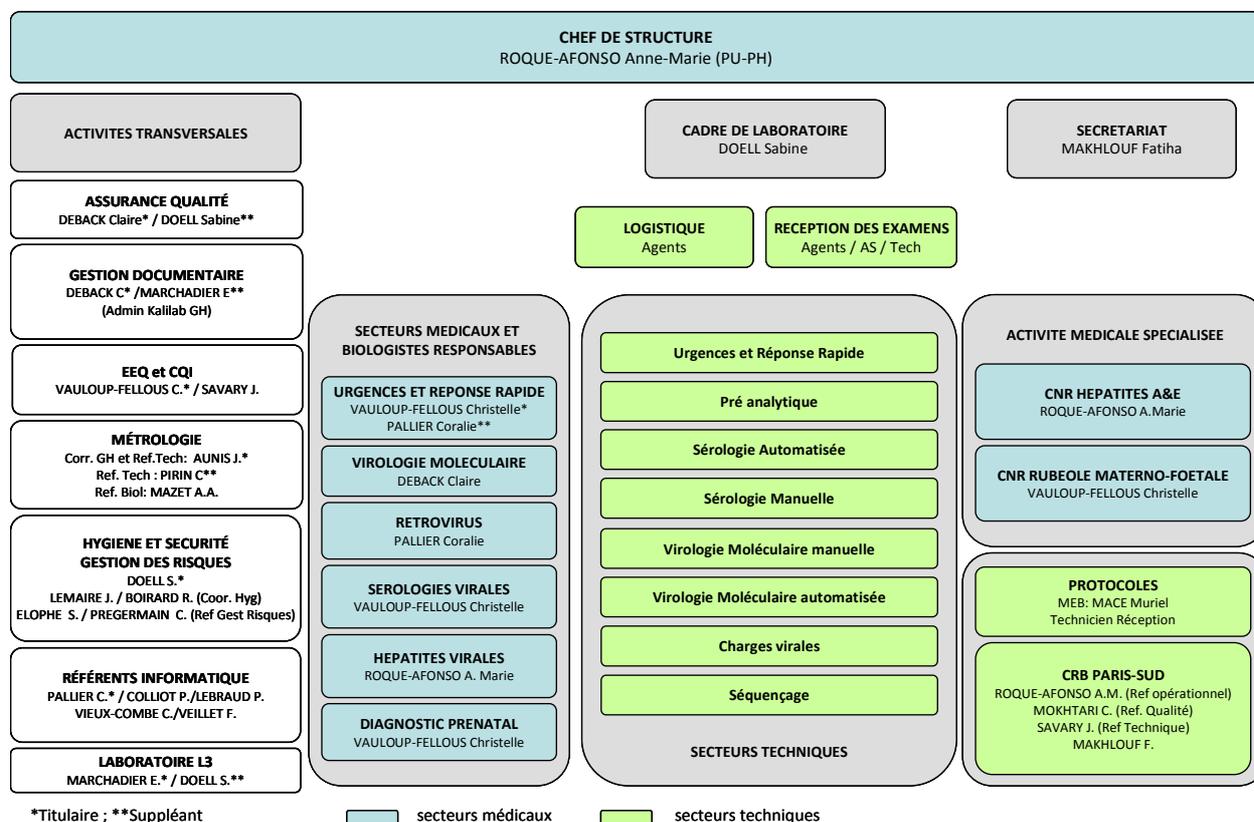
1.2.1 CNR : Pr Roque-Afonso, Villejuif

L'équipe dédiée au CNR à Villejuif est composée de 2 biologistes et d'un technicien :

Personnels :

Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Anne-Marie Roque-Afonso	0.2	Médecin Biologiste	PU-PH / Chef de service	APHP / Université Paris Sud
Muriel Macé	0.2	Pharmacien Biologiste	PA	APHP
Eric Marchadier	1	Technicien		APHP

Organigramme fonctionnel du laboratoire :



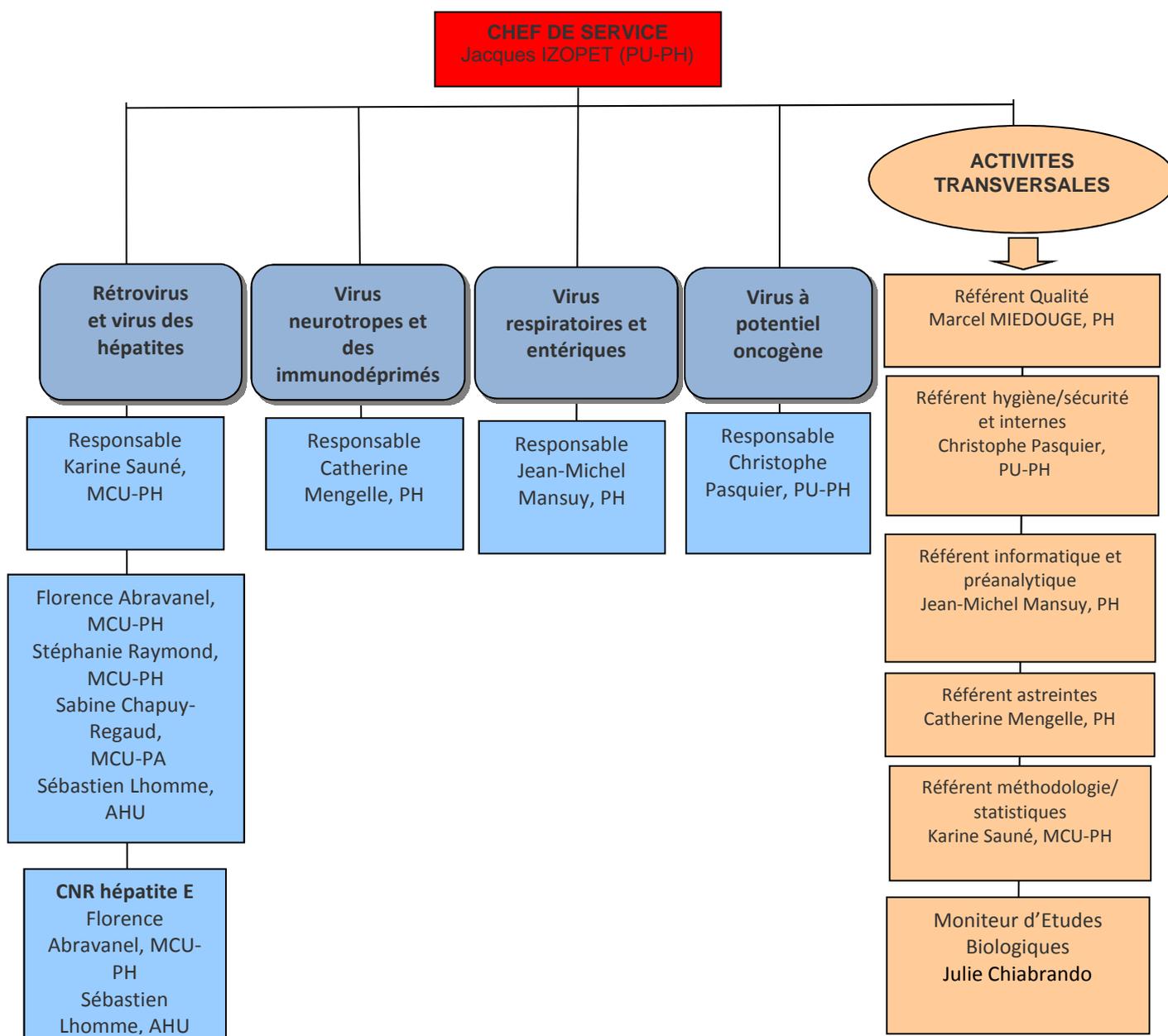
1.2.2 CNR Associé : Pr Izopet, Toulouse

L'équipe dédiée au CNR à Toulouse est constituée de 3 biologistes, et d'un ingénieur :

Personnels :

Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Jacques Izopet	0.2	Biologiste	PU-PH/ Chef de service	CHU Toulouse / Université Toulouse
Florence Abravanel	0.4	Biologiste	MCU-PH	CHU Toulouse / Université Toulouse
Sébastien Lhomme	0.4	Biologiste	AHU	CHU Toulouse / Université Toulouse
Martine Dubois	1	Ingénieur		CHU Toulouse

Organigramme du laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse (Accréditation ISO15189)



1.3 Locaux et équipements

1.3.1 Laboratoire de Virologie des Hôpitaux Paris Sud, Villejuif

Le CNR est intégré au service de Virologie (LBM des Hôpitaux universitaires Paris Sud, **(Accréditation ISO15189)**).

Le laboratoire de virologie est organisé autour d'une réception et de secteurs techniques (Pré-analytique, Protocoles et Centre de Ressources Biologiques, Urgences et réponse rapide, Sérologie manuelle et automatisée, Biologie moléculaire Manuelle et automatisée et Séquençage). Il est équipé d'un laboratoire L3 et possède 3 chambres froides, une laverie et de nombreuses réserves. Quatre salles climatisées (3 au rez-de-chaussée et 1 au sous-sol) accueillent les congélateurs.

Plan du laboratoire (RCH):



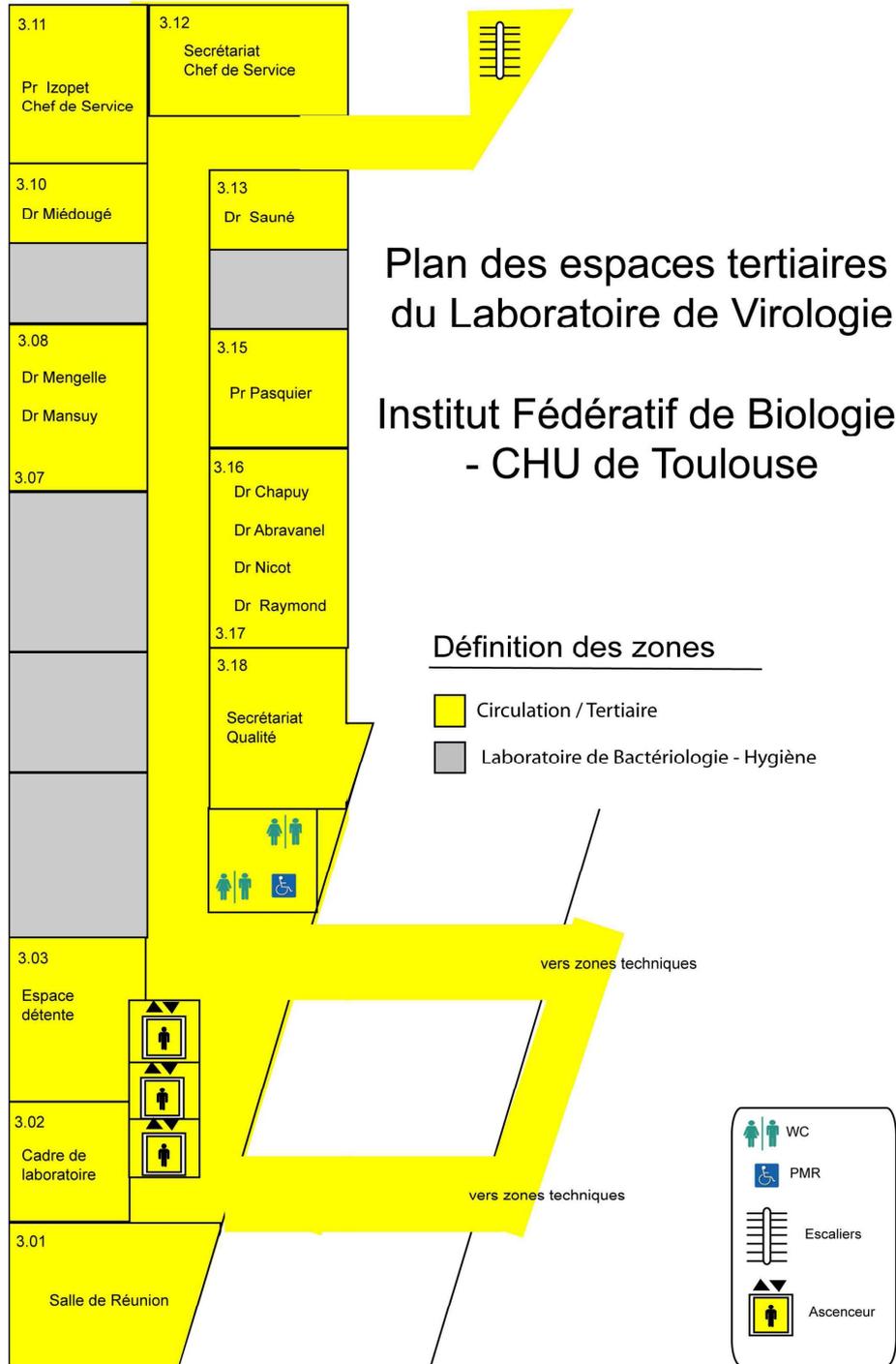
- Congélateurs et réfrigérateurs reliés à une centrale de surveillance des températures (JRI)
- Gestionnaire de microplaques ELISA (Etimax)
- Automates d'immunoanalyse : Vidas (Biomérieux), Liaison XL (Diasorin), Cobas e6000 (Roche)
- Automates d'extraction d'acides nucléiques : 2 QiaSymphony (Qiagen), 2 EasyMag (Biomérieux), 1 Cobas AmpliPrep (Roche), 1 m2000sp (Abbott)
- Appareils de PCR en temps réel (2 7500, 2 VIIA7, 2 RotorGeneQ, 2 m2000rt) et thermocycleurs conventionnels
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : séquenceur conventionnel ABI 3130 16 capillaires (Applied Biosystems) et pyroséquenceur GS Junior (Roche), mutualisés avec la plateforme de génétique des tumeurs (labellisée INCA)
- 1 ultracentrifugeuse (dans le L3)

1.3.2 Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

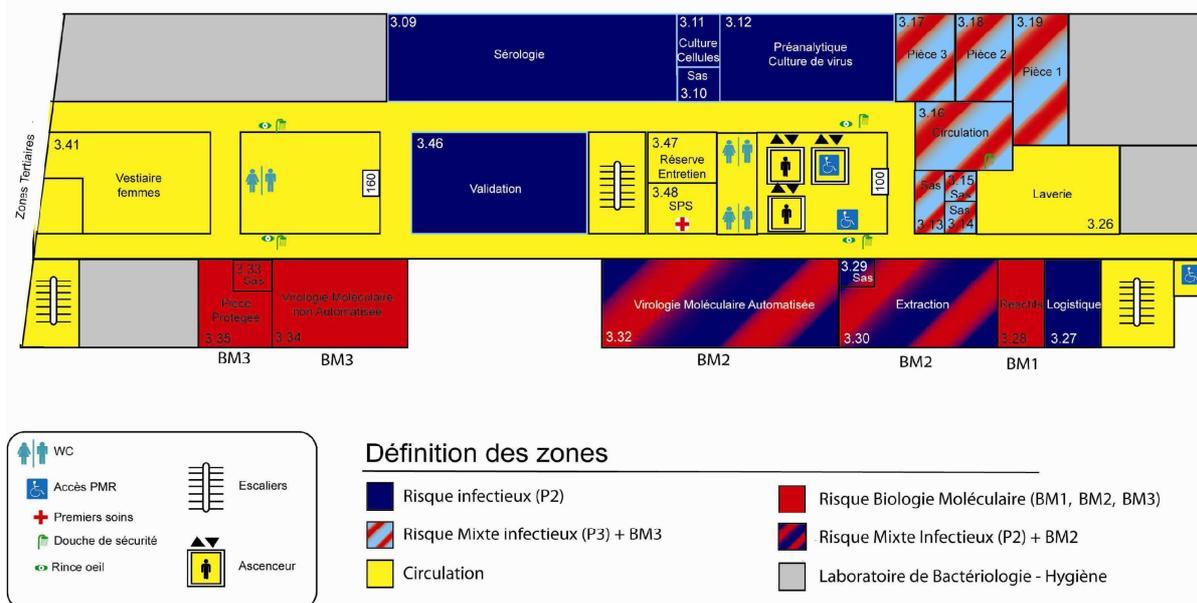
Le CNR hépatite E est intégré au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse appartenant au plateau technique d'infectiologie du CHU de Toulouse localisé dans l'Institut Fédératif de Biologie (IFB), LBM du CHU de Toulouse, site Purpan.

Le laboratoire comporte des espaces tertiaires et 3 plateaux techniques :

- sérologie
- biologie moléculaire
- culture de virus en P2 et P3



Plan des espaces techniques du Laboratoire de Virologie Institut Fédératif de Biologie - CHU de Toulouse



Les secteurs pré-analytiques et logistiques sont des activités mutualisées au sein de l'IFB. Ceci permet un traitement 24h/24h, dimanches et jours fériés, d'échantillons biologiques destinés à des examens virologiques.

Les principaux équipements du laboratoire sont les suivants :

- Congélateurs et réfrigérateurs reliés à une centrale de surveillance de température (Vigitemp®)
- Automates d'extraction d'acides nucléiques : 2 Cobas AmpliPrep et 1 MagnaPure 96
- Thermocycleurs 9700
- Appareils de PCR en temps réel (5 Light Cycler 2, 2 Light Cycler 480)
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : séquenceur conventionnel ABI 3130 16 capillaires (Applied Biosystems) et pyroséquenceur GS Junior (Roche)
- Gestionnaire de microplaques ELISA
- Système Luminex
- Laboratoire de sécurité P3

Nous disposons d'un accès direct à différents plateaux techniques (Inserm U1043) :

- . cytométrie en flux
- . imagerie cellulaire
- . microscopie électronique

1.4 Description de la démarche qualité du laboratoire : GBEA, participation à un contrôle de qualité externe, programmes, accréditation, certification,...

1.4.1 Laboratoire de Virologie des Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Villejuif

Le laboratoire de Virologie est partie intégrante du LBM des Hôpitaux universitaires Paris Sud, accrédité par le COFRAC selon la norme ISO 15189 depuis 2013 (n°8-1128). La gestion documentaire, le suivi des non-conformités et les actions d'amélioration continue sont réalisées grâce au logiciel Kalilab.

Le Laboratoire de Virologie a intégré, en juin 2012, le Centre de Ressources Biologiques Paris-Sud, certifié selon le référentiel AFNOR NF S96-900. Cette activité est auditée sur une base annuelle.

Outre le CNR des hépatites à transmission entérique, le Laboratoire héberge également le CNR des infections rubéoleuses materno-fœtales. Au titre de cette activité, le laboratoire est accrédité en tant que laboratoire National OMS pour la Rubéole depuis février 2014.

1.4.2 Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

L'activité de Virologie du CHU de Toulouse est accréditée par le COFRAC selon la norme ISO 15189 depuis avril 2007 (n° 8-1769). L'accréditation concerne en particulier les techniques sérologiques et les techniques de quantification et de typage de l'ARN VHE.

A la suite de l'audit initial, le laboratoire a été régulièrement audité sur une base annuelle. La gestion documentaire, la gestion des stocks, le suivi des non-conformités et les actions d'amélioration continue sont réalisées grâce à un logiciel spécialisé.

Conformément à la norme ISO 15189, des audits internes, des contrôles de qualité externes et internes, des enquêtes de satisfactions et un suivi des indicateurs pertinents de l'activité du laboratoire sont réalisés.

1.4.3 Démarche commune

Les deux laboratoires du CNR pratiquent des échanges inter-laboratoire pour des marqueurs pour lesquels il n'existe pas d'organisation d'évaluation externe de la qualité : Détection de l'ARN VHA, Génotypage du VHE.

ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR

1.1. Liste des techniques de référence: diagnostic/identification, typage

HEPATITE A

Tests Sérologiques

- Détection et quantification des anticorps totaux (Cobas) et détection des IgM (Vidas HAV IgM, BioMérieux)
- Avidité des IgG VHA (Desbois, J Clin Microbiol 2004 ; Roque-Afonso, Clin Infect Dis 2006). Cette technique est réalisable si le titre d'IgG anti-VHA est > 200 mUI/ml.

Détection et quantification du génome viral

- RT-PCR en temps réel ciblant la région 5'NC pour le screening (Coudray-Meunier C, BMC Microbiology 2014)

Caractérisation des souches

- RT-PCR de la région VP1-2A (500 nucléotides) permettant le génotypage par séquençage et analyse phylogénétique de la région VP1/2A
- Séquençage du génome complet
- Analyse de la quasi-espèce par clonage et séquençage des variants et par NGS

Techniques de culture cellulaire

- Lignées fibroblastiques FRh-K4 et hépatocytaires Huh7. La souche cytopathique HM175-18f et plusieurs souches cliniques sont cultivables sur ces systèmes.

HEPATITE E

Les techniques sérologiques et les techniques de quantification et de typage de l'ARN HEV sont accréditées COFRAC selon la norme ISO 5189 depuis avril 2007 (n° 1-1852).

Conformément à la norme ISO 15189, des audits internes, des contrôles de qualité externes et internes, des enquêtes de satisfactions et un suivi des indicateurs pertinents de l'activité du laboratoire sont réalisés.

Tests Sérologiques

- Test ELISA de détection des anticorps VHE ELISA IgG et IgM de Wantai (Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co, China) (Mansuy, Emerg Infec Dis, 2011, Abravanel J Clin Virol 2013)
- Test ELISA permettant l'étude de l'avidité des IgG VHE (par adaptation de la technique IgG Wantai).
- Test ELISA permettant le titrage des IgG anti-VHE à l'aide du standard international NIBSC 95/584 (par adaptation de la technique IgG Wantai).

Détection et quantification du génome viral

- La RT-PCR en temps réel développée au laboratoire de Toulouse cible la région ORF3 du génome (Abravanel, J Clin Microbiol, 2012).

Caractérisation des souches

- Génotypage par séquençage et analyse phylogénétique de la région ORF2 ou ORF1 (Legrand-Abravanel, Emerg Infec Dis, 2009).
- Séquençage de génomes complets (Legrand-Abravanel, Emerg Infec Dis, 2009 ; Izopet Emerg Infec, Dis 2012)
- Analyse de la quasi-espèce par clonage et séquençage des variants (Kamar, Am J Transplant, 2010 ; Lhomme, J Virol 2012, Lhomme, J Infec Dis 2014)

Techniques de culture cellulaire

Nous disposons des lignées hépatocytaires PLC/PRF-5, HepG2/C3A et de la lignée pulmonaire A549. Plusieurs souches cliniques de génotype 3f et 3c ont été adaptées sur ces systèmes.

1.2. Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence :

Hépatite A

- Collection clinique de plus de 500 sérums ou selles contenant de l'ARN VHA dont la souche a été typée. Ces échantillons sont conservés selon les règles du Centre de Ressources Biologiques Paris Sud (certifié AFNOR selon la norme NF S96-900)
- Collection de surnageants de culture de souches cliniques
- Base de données de séquences sur le logiciel Bionumerics (séquences génotypées et annotées sur l'origine géographique et certains facteurs de risque). Permet le croisement rapide des données en cas d'alerte transfrontalière.

Hépatite E

- Collection clinique de plus de 600 sérums ou selles contenant de l'ARN VHE dont la souche a été typée et stockées selon les règles du CRB du CHU de Toulouse.
- Collection de surnageants de culture de souches cliniques (3f et 3c).
- Banque de séquences accessibles dans GenBank

1.3. Liste des techniques (diagnostic/identification, typage, sensibilité aux anti-infectieux...) recommandées par le CNR

Hépatite A

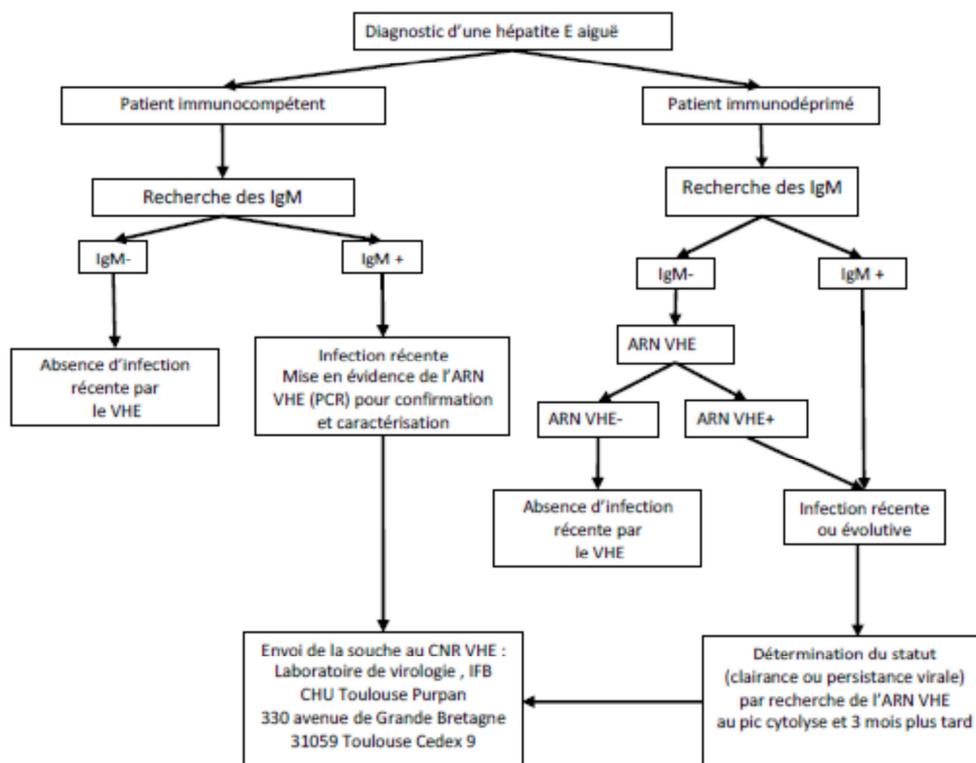
Le CNR a participé à l'élaboration du Contrôle National de Qualité 2012 de l'ANSM sur les paramètres IgM et Anticorps Totaux/IgG anti-VHA, avec des résultats très satisfaisants pour l'ensemble des laboratoires ayant participé au CNQ.

Le diagnostic de l'infection aiguë repose sur la détection des IgM spécifiques. Toutefois, la valeur prédictive positive de ce marqueur est faible en l'absence de cytolysse et en dehors d'un contexte aigu. Le CNR propose la démarche diagnostique suivante (Roque-Afonso, Future Virology 2010) :

Situation clinique	Indication des IgM	Que faire d'un résultat positif	Diagnostic à évoquer
Symptomatologie aiguë / transaminases élevées +/- ictère et	Définition d'une hépatite aiguë	Excellente VPP des IgM VHA +	Hépatite A aiguë
Absence de symptômes / transaminases normales	Indication non ciblée (erreur) ou dépistage autour d'un cas	Recherche d'une virémie VHA Avidité des IgG VHA si virémie négative	Virémie détectable : infection asymptomatique Virémie indétectable +/- avidité élevée : faux positif ou activation polyclonale
Transaminases élevées et faible probabilité épidémiologique d'hépatite A	Hépatite	Recherche d'une virémie VHA Avidité des IgG VHA si virémie négative	Virémie détectable : infection aiguë Virémie indétectable +/- avidité élevée : faux positif ou activation polyclonale ⇒ Rechercher d'autres causes de cytolysse

Hépatite E

Les performances des trouses de détection des IgM anti-HEV (Adaltis et Wantai) ont été évaluées l'an dernier (Abravanel J Clin Virol, 2013) et nous ont conduits à proposer l'algorithme de diagnostic suivant dès 2013 :



Annexe 3 : Les publications et communications réalisées ou prévues en lien avec les activités du CNR (au 1^{er} avril 2015)

Equipe du Pr Roque-Afonso

(i) Publication Nationales

Articles Originaux Francophones

1. D Desbois, L. Grangeot-Keros, B. Roquebert, AM Roque-Afonso, V. Mackiewicz, JD Poveda, E. Dussaix. Usefulness of specific IgG avidity for diagnosis of hepatitis A infection. **Gastroenterol Clin Biol**, 2005 ; 29 :573-76.
2. P Santa-Olalla, AM Roque-Afonso, E Couturier, B Cottrelle, C Drougard, C Lecadet-Morin, P Lebraud, J Beytout, D Lévy-Bruhl, E Dussaix, E Delarocque-Astagneau. Utilisation de tests salivaires dans l'investigation d'une épidémie d'hépatite A, Auvergne, décembre 2004. **BEH** n° 2-3/2006; 13-15.
3. E Couturier, MJ Letort, AM Roque, E Dussaix, E Delarocque-Astagneau. Hépatite aigue A an France en 2006 : première année de surveillance par la déclaration obligatoire. **BEH** n°29-30/2007 : 253-256.
4. C Chakvetadze, F Bani-Sadr, L Slama, G Pialoux, AM Roque-Afonso, E Dussaix. Sustained alanine aminotransferase increase during hepatitis A due to concomitant lymphogranuloma venereum infection in an HIV-1 positive patient. **Gastroenterol Clin Biol** 2008 ; 32 :657-59.
5. A Berlioz-Arthaud, S. Barny, J.F. Yvon, AM Roque-Afonso, E. Dussaix Surveillance biologique de l'hépatite A en Nouvelle-Calédonie : de l'endémie à l'épidémie (1986-2007). **Bull Soc Path Ex** 2008 ; 101 : 336-342.
6. D Desbois, E Couturier, V Mackiewicz, A Graube, MJ Letort, E Dussaix, AM Roque-Afonso. Genetic diversity of a rare hepatitis A virus genotype. **Path Biol** 2011;59(1):57-65
7. O Ronan, AM Roque, E Nuiaouët, MT Rousseau, B Hubert. Analyse croisée des cas identifiés par la DO et par le CNR des hépatites dans les Pays de la Loire en 2012. **BVS** 2013 ; 14 :13-15
8. Bani-Sadr F, Chakvetadze C, Galperine T, Lassel L, Bonnard P, Lependeven C, Roque-Afonso AM, Pialoux G. Biphasic hepatitis A with severe cholestasis and thrombocytopenic purpura in an HIV-1-infected male patient. *Med Mal Infect.* 2014

Articles de revue francophones

1. E Dussaix et AM Roque Afonso. Le virus de l'Hépatite A. **mt pédiatrie** ; déc 1998 ;vol 1 hors série :4-9.
 2. V Mackiewicz, AM Roque-Afonso, E Dussaix. Hépatite A : de l'évidence au piège diagnostique. **Revue Française des Laboratoires** 2006 ; 382 : 51-56.
 3. AM Roque-Afonso, V Mackiewicz, E Dussaix. Le virus de l'hépatite A : Actualités. **IBS.** 2006 ; 21 :202-209.
 4. V Mackiewicz, AM Roque-Afonso, E Dussaix. Hépatite A: de l'évidence au piège diagnostique. **RFL** 2006
 6. E Dussaix, V Mackiewicz, AM Roque Afonso. Epidémiologie de l'hépatite A : qu'en est-il en 2007 ? **Virologie** 2007 ; 11 :361-9.
 7. C Renou, A Pariente, AM Roque-Afonso, E Nicand. Hépatite E autochtone : une maladie émergente mais encore méconnue. **Rev Prat.** 2012 ; 62 :903-8.
- 11- Izopet J, Lhomme S, Abravanel F, Roque AM, Kamar N. Hepatitis E virus. *Presse Med.* 2015 sous presse.

(ii) Publications internationales

Articles Originaux Anglophones

- 1- G Rezende, AM Roque-Afonso, D Samuel, M Gigou, E Nicand, V Ferré, E Dussaix, H Bismuth, C Féray. Viral and clinical factors associated with the fulminant course of hepatitis A infection. **Hepatology** 2003; 38: 613-8.
- 2- V Mackiewicz, E Dussaix, MF Le Petitcorps, AM Roque-Afonso. Detection of Hepatitis A Virus RNA in Saliva. **J Clin Microbiol** 2004; 42: 4329-31.
- 3- AM Roque-Afonso, L Grangeot-Keros, B Roquebert, D Desbois, JD Poveda, V Mackiewicz, E Dussaix. Diagnostic relevance of IgG avidity for Hepatitis A Virus. **J Clin Microbiol** 2004; 42: 5121-4.
- 4- V Mackiewicz, AM Roque-Afonso, E Marchadier, E Nicand, L Fki-Berrajah , E Dussaix. Rapid Investigation of Hepatitis A Virus Outbreak by Single Strand Conformation Polymorphism Analysis. **J Med Virol**; 2005; 76:271-278.
- 5- AM Roque-Afonso, V Mackiewicz, E Dussaix. Detection of Immunoglobulin M Antibody to Hepatitis A Virus in Patients without Acute Hepatitis A: The Usefulness of Specific Immunoglobulin G Avidity. **Clin Infect Dis.** 2006; 42:887-8.
- 6- D Desbois, P Vaghefi, J Savary, E Dussaix, AM Roque-Afonso. Sensitivity of a rapid immuno-chromatographic test for Hepatitis C antibodies detection. **J Clin Virol** 2008; 41:129-133.

- 7- Schwarz NG, Revillion M, Roque-Afonso AM, Dussaix E, Giraud M, Liberpre C, Couturier E, Delarocque-Astagneau A. A food borne outbreak of hepatitis A virus (HAV) in a secondary school in Upper Normandy/France in November 2006. **Euro Surveill** 2008; 13. pii: 18885.
- 8- Couturier E, Roque-Afonso AM, Letort MJ, Dussaix E, Vaillant V, de Valk H. Cluster of cases of hepatitis A with a travel history to Egypt, September-November 2008, France. **Euro Surveill**. 2009 Jan 22 ;14(3). pii : 19094
- 9- Guillois-Bécel Y, Couturier E, Le Saux JC, Roque-Afonso AM, Le Guyader FS, Le Goas A, Pernès J, Le Behec S, Briand A, Robert C, Dussaix E, Pommepuy M, Vaillant V. An oyster-associated hepatitis A outbreak in France in 2007. **Euro Surveill**. 2009;14(10):pii=19144.
- 10- D Desbois, AM Roque-Afonso, P Lebraud, E Dussaix. Use of dried serum spots for serological and molecular diagnosis of hepatitis A virus. **J Clin Microbiol** 2009; 47: 1536- 42.
- 11- B Syhavong, B Rasachack, L Smythe, KSA Myint, JM Rolain, AM Roque-Afonso, K Jenjaroen, V Soukhaserm, S Phongmany, R Phetsouvanh, S Soukhaserm, T Thammavong, M Mayxay, SD Blacksell, E Barnes, P Parola, D Raoult, E Dussaix, I Humphreys, Paul Klenerman, NJ White, PN Newton. The infective causes of hepatitis and jaundice amongst hospitalised patients in Vientiane, Laos. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. 2010
- 12- D Desbois, E Couturier, V Mackiewicz, A Graube, MJ Letort, E Dussaix, AM Roque-Afonso. Epidemiology and genetic characterisation of Hepatitis A virus genotype IIA. **J Clin Microbiol**. 2010; 48: 3306-15.
- 13- V Mackiewicz, A Cammas, D Desbois, E Marchadier, S Pierredon, F Beaulieux, E Dussaix, S Vagner, AM Roque-Afonso. Nucleotide variability and translation efficiency of the 5'untranslated region of hepatitis A virus: an update from clinical isolates associated with mild and severe hepatitis. **J Virol**, 2010; 84: 10139-147.
- 14- Guet L, Desbois D, Roque-Afonso AM, Germain JM, Merle V. Investigation of a severe nosocomial outbreak of hepatitis A among healthcare workers and adult patients. **J Hosp Infect**, 2011;78(1):70-1.
- 15- C Gallot, L Grout, AM Roque-Afonso, E Couturier, P Carrillo-Santisteve, J Pouey, MJ Letort, S Hoppe, P Capdepon, S Saint-Martin, H De Valk, V Vaillant. Hepatitis A Associated with Semidried Tomatoes, France, 2010. **Emerging Infectious Diseases**, 2011; 17: 566-67.
- 16- Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, Garrigue V, Pischke S, Chauvet C, Dumortier J, Cannesson A, Cassuto-Viguiet E, Thervet E, Conti F, Lebray P, Dalton HR, Santella R, Kanaan N, Essig M, Mousson C, Radenne S, Roque-Afonso AM, Izopet J, Rostaing L. Factors Associated with Chronic Hepatitis in Patients with Hepatitis E Virus Infection Who Have Received Solid Organ Transplants. **Gastroenterology** 2011; 140(5):1481-9.
- 17- Arcangeletti MC, Dussaix E, Ferraglia F, Roque-Afonso AM, Graube A, Chezzi C. Multicentric evaluation of new commercial enzyme immunoassays for the detection of IgM and total antibodies against hepatitis A virus. **Clin Vaccine Immunol** 2011; 8:1391-4.
- 18- S Haim-Boukobza, MP Ferey, AL Vétillard, A Jebblaoui, E Pélissier, G Pelletier, L Teillet, AM Roque-Afonso. Transfusion-transmitted hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug-induced toxicity. **J Hepatol** 2012, 57:1374-8.
- 19- A Jebblaoui, S Haim-Boukobza, E Marchadier, C Mokhtari, AM Roque-Afonso. Genotype 4 Hepatitis E Virus in France: an autochthonous infection with a more severe presentation. **Clin Infect Dis** 2013; 57(4):e122-6.
- 20- A Coilly, S Haim-Boukobza, T Antonini, A Pause, C Mokhtari, A Becq, H Farahmand, L Hauser, JC Duclos-Vallée, D Samuel, R Adam, AM Roque-Afonso. Post-transplantation Hepatitis E: Transfusion-transmitted hepatitis rising from the ashes. **Transplantation** 2013; 96:e4-6.
- 21- Mokhtari C, Marchadier E, Haïm-Boukobza S, Jebblaoui A, Tessé S, Savary J, Roque-Afonso AM. Comparison of real-time RT-PCR assays for hepatitis E virus RNA detection. **J Clin Virol**. 2013; 58:36-40.
- 22- Mallet V, S Le Mener, Roque-Afonso AM, Tsatsaris V, Mamzer MF. Chronic hepatitis E infection cured by pregnancy. **J Clin Virol** 2013 ; 58 :245-7.
- 23- Féray C, Pawlotsky JM, Roque-Afonso AM, Samuel D, Dhumeaux D. Should we screen blood products for hepatitis E virus RNA ? **Lancet**. 2014 ; 383 : 218.
- 24- Hauser L. Roque-Afonso AM, Beyloune A, Simonet M, Deau Fischer B, Burin des Rozières N, Mallet V, Tiberghien P, Bierling P. Hepatitis E transmission by transfusion of Intercept blood system treated plasma. **Blood**. 2014, 123 :796-7.
- 25- Kamar N, Izopet J, Tripon S, Bismuth M, Hillaire S, Dumortier J, Radenne S, Coilly A, Garrigue V, D'Alteroche L, Buchler M, Couzi L, Lebray P, Dharancy S, Minello A, Hourmant M, Roque-Afonso AM, Abravanel F, Pol S, Rostaing L, Mallet V. **N Engl J Med**. 2014, 370: 1111-20.
- 26- Renou C, Gobert V, Locher C, Moumen AO, Timbely O, Savary J, Roque-Afonso AM. Prospective study of Hepatitis E Virus infection among pregnant women in France. **Virol J**. 2014 Apr 9;11(1):68.
- 27- Renou C, Roque-Afonso AM, Pavo N. Foodborne transmission of HEV from raw pork liver sausage in France. **Emerg Infect Dis** 2014 ; 20 :1945-6.
- 28- Coudray-Meunier C, Fraise A, Mokhtari C, Martin-Latil S, Roque-Afonso AM, Perelle S.* Hepatitis A virus subgenotyping based on RT-Qpcr assays. **BMC Microbiology** 2014, 296:
- 29- Haim-Boukobza S, Coilly A, Sebah M, Bouamoud M, Antonini T, Yordanova O, Savary J, Saliba F, Duclos-Vallee JC, Samuel D, Ichai P, Roque-Afonso AM. Hepatitis E infection in patients with severe acute alcoholic hepatitis. **Liver Int**, 2015; 35:870-5.

- 30- Frange P, Roque-Afonso AM, Neven D, Moshous D, Touzot F, Cavazzana M, Fischer A, Leruez-Ville M, Blanche S. Hepatitis E virus in hematopoietic stem cell donors: towards a systematic HEV screening of donors? **J Infect** 2015; pii: S0163-4453(15)00067-5
- 31- Sane J, MacDonald E, Vold L, Gossner C, Severi E; Outbreak Investigation Team. Multistate foodborne hepatitis A outbreak among European tourists returning from Egypt--need for reinforced vaccination recommendations, November 2012 to April 2013. **Euro Surveill.** 2015 Jan 29;20(4). pii: 21018.
- 32- H Bauer, C Luxembourger, JE Gottenberg, S Fournier, F Abravanel, A Cantagrel, E Chatelus, P Claudepierre, C Hudry, J Izopet, S Fabre, G Lefevre, L Marguerie, A Martin, L Messer, A Molto, B Pallot-Prades, YM Pers, AM Roque-Afonso, C Roux, C Sordet, M Soubrier, C Veissier, D Wendling, JM Péron, J Sibilia. Outcome of hepatitis E virus infection in patients with inflammatory arthritides treated with immunosuppressants: a French retrospective multicenter study. 2015 *Medicine* ® sous presse. Outcome of hepatitis E virus infection in patients with inflammatory arthritides treated with immunosuppressants: a French retrospective multicenter study. **Medicine** 2015; in press

Article de Revue Anglophone

- 1. AM Roque-Afonso, D Desbois, E Dussaix. Hepatitis A virus: serology and molecular diagnostics. **Future Virology** 2010; 5: 233-42.

(iii) Communications orales

Nationales

- 1- V Mackiewicz, E Dussaix, MF Le Petitcorps, AM Roque-Afonso. Détection du virus de l'hépatite A dans la salive. **RICAI**, Paris 2003
- 2- V Mackiewicz, AM Roque-Afonso, P Lebraud, B Cotterel, P Santa-Ollala, E Delarocque-Astagneau, E Dussaix. Première épidémie d'hépatite A de génotype III en France. **RICAI**, Paris 2005.
- 3- L Guet, AM Roque-Afonso, V Merle, M Dubuisson, D Thillard, JM Germain, A Carbonne. Cas groupés d'hépatite A nosocomiale. **RICAI**, Paris 2008.
- 4- E Couturier, AM Roque-Afonso, MJ Letort, E dussaix, V Vaillant. Adoption internationale et hépatite A aigue, France 2008. **Journées Nationales d'Infectiologie**, Marseille 2009.

Internationales

- 1- P Santa-Ollala, AM Roque-Afonso, B Cottrelle, V Mackiewicz, E Couturier, J Beytout, E Dussaix, E Delarocque-Astagneau. Sequential saliva testing used in the investigation of hepatitis A outbreak. Auvergne (France), December 2004. **International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases (ISVHLD)**, Paris, 2006.
- 2- Gallot C, Grout L, Roque-Afonso AM, Couturier E, Carrillo P, Pouey J, Agbessi A, Letort MJ, Hoppe S, Capdepon P, Saint-Martin S, Guillo-Bellanger ML, Lardon Z, De Valk H, Vaillant V. Hepatitis A outbreak associated with semi-dried tomatoes, France, 2010. **International Conference on Emerging Infectious Diseases (ICEID)**, Atlanta, Georgia, USA, July 11 - 14, 2010.
- 3- N. Kamar, C. Garrouste, EB. Haagsma, V. Garrigue, S. Pischke, C. Chauvet, J. Dumortier, A. Cannesson, E. Cassuto-Viguier, E. Thervet, F. Conti, P. Lebray, HR. Dalton, R. Santella, N. Kanaan, M. Essig, C. Mousson, S. Radenne, AM. Roque-Afonso, J. Izopet, L. Rostaing. Predictive factors, natural history and outcome of chronic hepatitis E virus infection in solid-organ transplant patients: A retrospective multicenter study. **46th EASL – Berlin** (2011).
- 4- A Jebblaoui, A Pausé, C Mokhtari, E Nicand, AM Roque-Afonso. Emerging Hepatitis E genotype 4 infection in France. **European Society for Clinical Virology (ESCV)**, Madrid, Spain, Sept 2012.
- 5- Haim-Boukobza S, Férey MP, Vétillard AL, Pelissier A, Pelletier G, Teillet L, Roque-Afonso AM. Transfusion-transmitted Hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug induced liver toxicity. **ESCV**, Madrid, Spain, Sept 2012.
- 6- M Macé, AM Roque-Afonso. Molecular epidemiology of Hepatitis A virus in France, 2004-2012. **5th European Congress of Virology**, Lyon, France, Sept 2013.
- 7- C Renou, AM Roque Afonso, N Pavio. First case of direct evidence of a HEV autochthonous and zoonotic transmission in a Western European country. **ESCV Prague Rep Tchéque**, Sept 2014

(iv) Conférences sur invitation, séminaires

Conférences sur invitation nationales

- 1- 2005 Séminaire BioRad, Marnes-la-Coquette :Evaluation des tests Monolisa Hépatite A.
- 2- 2008 1^{ère} journée Jean-Gérard Guillet de vaccinologie clinique. Hôpital Cochin, Paris : Hépatite B : efficacité vaccinale et mutants d'échappement.
- 3- 2008 Semaine de la vaccination, Hôpital Paul Brousse, Villejuif : Vaccination contre l'hépatite A et l'hépatite B.
- 4- 2011, Juin, Journées du Centre Hépatobiliaire, Paris: Hépatite A et E : nouveaux aspects épidémiologiques et thérapeutiques.
- 5- 2011, oct, Journée du réseau hépatites virales : Caen.Actualités hépatite A.

- 6- 2012, janv, Biologiste TV, Montpellier : Actualités diagnostiques des hépatites A et E.
- 7- 2012, Juin, Rencontres Virologiques Gilead, Boulogne : Actualités post EASL : Hépatite E, quoi de neuf ?
- 8- 2012 Septembre : 13èmes journées RHEVIR, La Grande Motte: L'hépatite E : nouveautés et diagnostic
- 9- 2012, Nov 20, Rencontres Microbio-cliniques (RMC), Paris : Hépatite E : outils diagnostiques.
- 10- 2012, Nov 22, RICAI, Paris : L'hépatite E : l'autre hépatite à transmission orale
- 11- 2013, Juin 7, Journées Hépatato-Biliaires, Paris : L'hépatite E, un problème émergent

Conférences sur invitation internationales

- 1- 2013, Oct 11, Preceptorship on Liver Transplantation, Villejuif : Hepatitis E after Liver Transplantation
- 2- 2013, 23-25 oct, Journées Franco-Maghrébines de Virologie, Marrakech, Maroc.: Hépatite A, Epidémiologie et Physiopathologie.

Séminaires

- 1- 2010, Janvier. Hépatologie. Hôpital Cochin, Paris : Hépatite A : l'expérience du CNR.
- 2- 2010, Mai, Hépatologie, Antoine Béclère, Clamart. : Hépatite B : mise-au point.
- 3- 2011, Mai 31 Cancérologie, IGR, Villejuif : Réactivation du VHB sous chimiothérapie.
- 4- 2012, Fev. Maladies Infectieuses, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre : Hépatite E le renouveau d'une vieille maladie.
- 5- 2012, mai. Hépatologie, Hôpital J Verdier, Bondy : Hépatite E le renouveau d'une vieille maladie.
- 6- 2012, Oct 24 Staff anatomo-clinique, Villejuif: Hépatite E : Epidémiologie et diagnostic,
- 7- 2012, Déc 3, Staff multidisciplinaire CHR Orléans : Hépatite E : Epidémiologie, diagnostic et particularités cliniques.
- 8- 2013, Oct 16, Hépatologie Hôpital Henri Mondor, Créteil : Hépatite E et Transplantation hépatique
- 9- 2013, Nov. 21 Hépatologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris : Hépatite E et transplantation hépatique
- 10- 2014, Janv. 21, Hépatologie, Hôpital Beaujon, Clichy : Hépatite E et Transplantation hépatique
- 11- 2014, Juin. , Médecine Interne, Hôpital Amboise Paré, Boulogne. Hépatite E : mise au point
- 12- 2015, 20 fév. , Médecine Interne, Hôpital Raymond Poincaré, Garches. Hépatites à transmission entérique.
- 13- 2015, 9 avr. , Médecine Interne, Hôpital Tenon, Paris. Hépatites à transmission entérique.

Equipe du Pr Izopet

Articles Originaux Francophones

- 1 - JM. Peron, JM. Mansuy, H. Poirson, C. Bureau, J. Izopet, JP. Vinel. Hépatite aiguë chez la femme enceinte : il faut rechercher le virus de l'hépatite E. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2005;29:87.
- 2 - JM. Peron, JM. Mansuy, H. Poirson, C. Bureau, E. Dupuis, L. Alric, J. Izopet, JP. Vinel. L'hépatite E est une maladie autochtone dans les pays industrialisés : analyse de 23 malades sur une période de 13 mois dans le Sud-Ouest de la France et comparaison avec l'hépatite A. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2006;30:757-762.
- 3 - M. Metais, N. Kamar, J. Izopet, S. Malavaud. Virus de l'hépatite E : un nouveau risque viral à prendre en compte dans les établissements de santé ? *Hygiènes* 2009;6:453-456.
- 4 - N. Kamar, F. Abravanel, JM. Mansuy, JM. Péron, J. Izopet, L. Rostaing. Infection par le virus de l'hépatite E en dialyse et après transplantation. *Néphrologie & Thérapeutique* 2010;6:83-87.
- 5 - C. Merviel, JM. Mansuy, M. Dubois, J. Izopet. Mise au point d'une technique multiplex de dépistage génomique VHE-HAV. *Pathologie Biologie* 2012. 60(2):95-105

Articles de revue francophones

- 1 - JM. Peron, JM. Mansuy, J. Izopet, JP. Vinel. Une hépatite émergente : l'hépatite E. *Santé* 2006;16:239-243.
- 2 - J. Izopet, N. Kamar. Hépatite E : de la transmission zoonotique du virus à l'évolution chronique de l'infection chez l'immunodéprimé. *Médecine/Sciences* 2008;24:1023-1025.
- 3 - JM. Mansuy, C. Mengelle, M. Miédougé, F. Abravanel, J. Izopet. Hépatite virale E. *Archives de pédiatrie* 2009;16:717-720.
- 4 - J. Izopet, N. Kamar, F. Abravanel, M. Dubois, S. Lhomme, JM. Mansuy, L. Alric, JM. Peron, L. Rostaing. L'hépatite E chronique. *Virologie* 2009;13:317-325.
- 5 - F. Legrand-Abravanel, C. Garrouste, JM. Mansuy, N. Kamar, JM. Peron, L. Rostaing, J. Izopet. L'hépatite E : une infection virale sous-estimée dans les pays industrialisés. *La Lettre de l'Infectiologue* 2010. Tome XX V ; n° 1.
- 6 - J. Izopet, F. Legrand-Abravanel, N. Kamar. L'hépatite E. *Antibiotiques* 2011
- 7 - Bonnet, D., N. Kamar, J. Izopet, and L. Alric. 2012. [Hepatitis E: an emerging disease]. *Rev Med Interne* 33:328-34.
- 8 - Abravanel F, Lhomme S, Dubois M, Peron JM, Alric L, Kamar N, Izopet J. 2013. Hepatitis E virus. *Med Mal Infect.* 43(7):263-70
- 9 - S. Lhomme, F. Abravanel, S. Chapuy-regaud, M. Dubois, J.-M. Mansuy, J.-M. Péron, L. Rostaing, N. Kamar, J. Izopet. L'hépatite E : une infection virale de mieux en mieux connue. 2014. *Feuillets de Biologie*, vol 312 – 23-30
- 10- S. Lhomme, F. Abravanel, S. Chapuy-Regaud, M. Dubois, JM Mansuy , JM Peron, L. Alric, L. Rostaing, N. Kamar, J. Izopet. L'hépatite E. *Encyclopédie Médicaux Chirurgicales (EMC)* 2014.
- 11- Izopet J, Lhomme S, Abravanel F, Roque AM, Kamar N. Hepatitis E virus. *Presse Med.* 2015 sous presse.
- 12- Kamar N, Rostaing L, Alric L, Peron JM, Izopet J. Treatment of hepatitis E virus infection. *Presse Med.* 2015 sous presse.

Articles Originaux Anglophones

- 1 - JM. Mansuy, JM. Peron, F. Abravanel, H. Poirson, M. Dubois, M. Miédougé, F. Vischi, L. Alric, JP. Vinel, J. Izopet. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *Journal of Medical Virology* 2004;74:419-424.
- 2 - JM. Mansuy, JM. Peron, C. Bureau, L. Alric, JP. Vinel, J. Izopet. Immunologically silent autochthonous acute hepatitis E virus infection in France. *Journal of Clinical Microbiology* 2004;42:912-913.
- 3 - N. Kamar, JM. Mansuy, L. Esposito, F. Legrand-Abravanel, JM. Peron, D. Durand, L. Rostaing, J. Izopet. Acute hepatitis and renal function impairment related to infection by hepatitis E virus in a renal allograft recipient. *Am J Kidney Dis.* 2005 Jan;45(1):193-196.
- 4 - JM. Peron, JM. Mansuy, C. Recher, C. Bureau, H. Poirson, L. Alric, J. Izopet, JP. Vinel. Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006;21:1223-1224.
- 5 - JM. Peron, C. Bureau, H. Poirson, JM. Mansuy, L. Alric, J. Selves, E. Dupuis, J. Izopet, JP. Vinel. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France : description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *Journal of Viral Hepatitis* 2007;14:298-303.
- 6 - JM. Peron, M. Danjoux, N. Kamar, R. Missouri, H. Poirson, JP. Vinel, JM. Mansuy, C. Bureau, J. Izopet, P. Brousset, J. Selves. Liver histology in patients with sporadic acute hepatitis E : a study of 11 patients from South-West France. *Virchows Archives* 2007;450:405-410.
- 7 - JM. Mansuy, F. Abravanel, JP. Calot, JM. Peron, L. Alric, S. Agudo, H. Rech, F. Destruel, J. Izopet. High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from south west france. *Journal of Medical Virology* 2008;80:289-293.

- 8 - N. Kamar, J. Selves, JM. Mansuy, L. Ouezzani, JM. Peron, J. Guitard, O. Cointault, L. Esposito, F. Abravanel, M. Danjoux, D. Durand, JP. Vinel, J. Izopet, L. Rostaing. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *New England Journal of Medicine* 2008;358:811-817.
- 9 - N. Kamar, JM. Mansuy, O. Cointault, J. Selves, F. Abravanel, M. Danjoux, P. Otal, L. Esposito, D. Durand, J. Izopet, L. Rostaing. Hepatitis E virus-related cirrhosis in kidney- and kidney-pancreas-transplant recipients. *American Journal of Transplantation* 2008;8:1744-1748.
- 10 - JM. Mansuy, F. Abravanel, M. Miédougé, C. Mengelle, C. Merviel, M. Dubois, N. Kamar, L. Rostaing, L. Alric, J. Moreau, JM. Peron, J. Izopet. Acute hepatitis E in south-west France over a 5-year period. *Journal of Clinical Virology* 2009;44:74-77.
- 11 - JM. Mansuy, A. Huynh, F. Abravanel, C. Recher, JM. Peron, J. Izopet. Molecular evidence of patient-to-patient transmission of hepatitis E virus in a haematology ward. *Clinical Infectious Diseases* 2009;48:373-374.
- 12 - F. Legrand-Abravanel, JM. Mansuy, M. Dubois, N. Kamar, JM. Peron, L. Rostaing, J. Izopet. Hepatitis E virus genotype 3 diversity in France. *Emerging Infectious Diseases* 2009;15:110-114.
- 13 - F. Legrand-Abravanel, I. Thevenet, JM. Mansuy, K. Sauné, F. Vischi, JM. Peron, N. Kamar, L. Rostaing, J. Izopet. Good performance of immunoglobulin M assays in diagnosing genotype 3 hepatitis E virus infections. *Clinical and Vaccine Immunology* 2009;15: 772-774.
- 14 - N. Kamar, L. Rostaing, F. Abravanel, C. Garrouste, L. Esposito, I. Cardeau-Desangles, JM. Mansuy, J. Selves, JM. Peron, P. Otal, F. Muscari, J. Izopet. Pegylated alpha-interferon for treating chronic hepatitis E virus infection after liver transplantation. *Clinical Infectious Diseases* 2010;50:e-30-33.
- 15 - N. Kamar, J. Izopet, P. Cintas, C. Garrouste, E. Uro-Coste, O. Cointault, L. Rostaing. Hepatitis E virus-induced neurological symptoms in a kidney-transplant patient with chronic hepatitis. *American Journal of Transplantation* 2010;10:1321-1324.
- 16 - F. Legrand-Abravanel, N. Kamar, K. Sandres-Saune, C. Garrouste, M. Dubois, JM. Mansuy, F. Muscari, F. Sallusto, L. Rostaing, J. Izopet. Characteristics of autochthonous hepatitis E virus infection in French solid-organ transplant recipients. *Journal of Infectious Diseases* 2010;202:835-844.
- 17 - N. Kamar, F. Abravanel, J. Selve, C. Garrouste, L. Esposito, L. Lavayssière, O. Cointault, D. Ribes, I. Cardeau, MB. Nogier, JM. Mansuy, F. Muscari, JM. Peron, J. Izopet, L. Rostaing. Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of hepatitis-E virus infection after solid-organ transplantation. *Transplantation* 2010;89: 353-360.
- 18 - L. Alric, D. Bonnet, G. Laurent, N. Kamar, J. Izopet. Chronic hepatitis E virus infection : successful virologic response to pegylated interferon-alpha therapy. *Annals of Internal Medicine* 2010;153:135-136.
- 19 - N. Kamar, L. Rostaing, F. Abravanel, C. Garrouste, S. Lhomme, L. Esposito, G. Basse, O. Cointault, D. Ribes, MB. Nogier, L. Alric, JP. Peron, J. Izopet. Ribavirin therapy inhibits viral replication in patients with chronic hepatitis E virus infection. *Gastroenterology* 2010;139:1612-1618.
- 20 - N. Kamar, F. Abravanel, C. Garrouste, I. Cardeau-Desangles, JM. Mansuy, H. Weclawiak, J. Izopet, L. Rostaing. Threemonth pegylated interferon-alpha-2a therapy for chronic hepatitis E virus infection in a haemodialysis patient. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2010;25:2792-2795.
- 21 - S. Tavitian, JM. Péron, A. Huynh, JM. Mansuy, L. Ysebaert, F. Huguet, JP. Vinel, M. Attal, J. Izopet, C. Recher. Hepatitis E virus excretion can be prolonged in patients with hematological malignancies. *Journal of Clinical Virology* 2010;49:141-144.
- E. Fourquet, JM. Mansuy, C. Bureau, C. Recher, JP. Vinel, J. Izopet, JM. Péron. Severe thrombocytopenia associated with acute autochthonous hepatitis E. *Journal of Clinical Virology* 2010;48:73-74.
- 22 - F. Legrand-Abravanel, N. Kamar, K. Sandres-Sauné, S. Lhomme, JM. Mansuy, F. Muscari, F. Sallusto, L. Rostaing, J. Izopet. Hepatitis E virus infection without reactivation in solid-organ transplant recipients, France. *Emerging Infectious Diseases* 2011;17:30-37.
- 23 - N. Kamar, RP. Bendall, JM. Peron, P. Cintas, L. Prudhomme, JM. Mansuy, L. Rostaing, F. Keane, S. Ijaz, J. Izopet, HR. Dalton. Neurological disorders: an emerging extra-hepatic manifestation of hepatitis E virus infection. *Emerging Infectious Disease* 2011, 17:173-179.
- 24 - A. Kenfak-Foguena, F. Schöni-Affolter, P. Bürgisser, A. Witteck, KEA. Darling, H. Kovari, L. Kaiser, JM. Evison, L. Elzi, V. Gurtner-De La Fuente, J. Jost, D. Moradpour, F. Abravanel, J. Izopet, M. Cavassini and the Swiss HIV Cohort Study. Hepatitis E virus seroprevalence and chronic infection in HIV-infected patients with unexplained ALT elevation : the Swiss HIV Cohort Study. *Emerging Infectious Diseases* 2011 17:1074-1078.
- 25 - N. Kamar, C. Garrouste, E. Haagsma, V. Garrigue, S. Pischke, C. Chauvet, J. Dumortier, S. Dharancy, E. Cassuto-Viguiet, E. Thervet, F. Conti, P. Lebray, H. Dalton, R. Santella, N. Kanaan, M. Essig, C. Mousson, S. Radenne, AM. Roque-Afonso, J. Izopet, L. Rostaing. Predictive factors for hepatitis E virus infection in solid-organ-transplant patients : A retrospective multicenter study. *Gastroenterology* 2011;140:1481-1489.
- 26 - JM. Péron, H. Dalton, J. Izopet, K. Nassim. Acute autochthonous hepatitis E in western patients with underlying chronic liver disease : a role for ribavirin. *Journal of Hepatology* 2011 54:1323-1324
- 27 - JM. Mansuy, R. Bendall, F. Legrand-Abravanel, JP. Calot, M. Miédougé, V. Ellis, H. Rech, F. Destruel, HR. Dalton, N. Kamar, J. Izopet. Seroprevalence in blood donors indicates a high endemicity of hepatitis E in South West France *Emerging Infectious Diseases* 2011;17:2309-2312
- 28 - L. Alric, D. Bonnet, O. Beynes-Rauzy, J. Izopet, N. Kamar. Definitive clearance of a chronic hepatitis E virus infection with ribavirin treatment *American Journal of Gastroenterology* 2011;106:1562-1563.

- 29 - F. Legrand-Abravanel, JM. Mansuy, A. Huynh, JM. Péron, C. Récher, J. Izopet. Low risk of hepatitis E virus reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Clinical Virology* 2012;54:152-155.
- 30 - N. Kamar, H. Wecklawiak, C. Guilbeau-Frugier, F. Legrand-Abravanel, O. Cointault, D. Ribes, L. Esposito, I. Cardeau-Desangles, J. Guitard, L. Lavyssière, MB. Nogier, F. Sallusto, F. Muscari, J. Izopet, L. Rostaing. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients *Transplantation* 2012;93:617-623.
31. Abravanel, F., J. M. Mansuy, A. Huynh, N. Kamar, L. Alric, J. M. Peron, C. Recher, and J. Izopet. Low risk of hepatitis E virus reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Virol* 2012 54:152-5.
32. Abravanel, F., K. Sandres-Saune, S. Lhomme, M. Dubois, J. M. Mansuy, and J. Izopet. 2012. Genotype 3 diversity and quantification of hepatitis e virus RNA. *J Clin Microbiol* 2012. 50:897-902.
33. Delarocque-Astagneau, E., F. Abravanel, A. Moshen, L. Le Fouler, R. R. Gad, M. El-Daly, E. M. Ibrahim, S. El-Aidy, T. Lashin, M. El-Hoseiny, J. Izopet, M. K. Mohamed, A. Fontanet, and M. Abdel Hamid. Epidemiological and virological characteristics of symptomatic acute hepatitis E in Greater Cairo, Egypt. *Clin Microbiol Infect* 2012. 18:982-8.
34. Izopet, J., M. Dubois, S. Bertagnoli, S. Lhomme, S. Marchandeu, S. Boucher, N. Kamar, F. Abravanel, and J. L. Guerin. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. *Emerg Infect Dis* 2012. 18:1274-81.
35. Kamar, N., J. Izopet, and L. Rostaing. 2012. No reactivation of hepatitis e virus after kidney retransplantation. *Am J Transplant* 2012. 12:507-8.
36. Kamar, N., H. Wecklawiak, C. Guilbeau-Frugier, F. Legrand-Abravanel, O. Cointault, D. Ribes, L. Esposito, I. Cardeau-Desangles, J. Guitard, F. Sallusto, F. Muscari, J. M. Peron, L. Alric, J. Izopet, and L. Rostaing. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. *Transplantation* 2012. 93:617-23.
37. Legrand-Abravanel, F., N. Kamar, K. Sandres-Saune, S. Lhomme, J. M. Mansuy, F. Muscari, F. Sallusto, L. Rostaing, and J. Izopet. Hepatitis E virus infection without reactivation in solid-organ transplant recipients, France. *Emerg Infect Dis* 2012. 17:30-7.
38. Lhomme, S., F. Abravanel, M. Dubois, K. Sandres-Saune, L. Rostaing, N. Kamar, and J. Izopet. Hepatitis E virus quasispecies and the outcome of acute hepatitis E in solid-organ transplant patients. *J Virol*; 2012, 86:10006-14.
39. Schnegg A, Bürgisser P, André C, Kenfak-Foguena A, Canellini G, Moradpour D, Abravanel F, Izopet J, Cavassini M, Darling KE An analysis of the benefit of using HEV genotype 3 antigens in detecting anti-HEV IgG in a european population *Plos One*. 2013; 57:222-226
40. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Dubois M, Peron JM, Alric L, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Performance of two commercial assays for detecting HEV RNA in acute or chronic infections. *J Clin Microb*, 2013; 51:1913-1916
41. Kamar N, Rostaing L, Legrand-Abravanel F, Izopet J. How Should Hepatitis E Virus Infection Be Defined in Organ-Transplant Recipients? *Am J Transplant*. 2013 ; 13 :1935-1936.
42. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Miedougé M, Péron JM, Alric L, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Performance of anti-HEV assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. *J Clin Virol* 2013; 58:624-628.
43. Kamar N, Izopet J. Does chronic hepatitis E virus infection exist in immunocompetent patients? *Hepatology*; 2014;60:427.
44. Lhomme S, Garrouste C, Kamar N, Sauné K, Abravanel F, Mansuy JM, Dubois M, Rostaing L, Izopet J. Influence of polyproline region and macro domain genetic heterogeneity on HEV persistence in immunocompromised patients. *J Infec Dis*, 2014; 209:300-303
45. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Muscari F, Sallusto F, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients can evolve to chronic infections. *J Infec Dis*, 2014,
46. Kamar N, Izopet J, Tripon S, Bismuth M, Hillaire S, Dumortier J, Radenne S, Coilly A, Garrigue V, D'Alteroche L, Buchler M, Couzi L, Lebray P, Dharancy S, Minello A, Hourmant M, Roque-Afonso AM, Abravanel F, Pol S, Rostaing L, Mallet V. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients, *New England J Med*, 2014, . 2014;370:1111-20.
47. S. Laperche, J. Izopet, JJ. Lefrère. Safety measures to prevent hepatitis E virus transmission by blood transfusion. *Transfusion* 2014;54:2134-2135
48. Robbins, D. Lambert, F. Erhard, V. Brodard, M. Hentzien, D. Lebrun, Y. Nguyen, T. Tabary, JM. Peron, J. Izopet, F. Bani-Sadr. Severe acute hepatitis E infection in an HIV infected patient: Successful treatment with ribavirin. *Journal of Clinical Virology* 2014;60:422-423.
49. P. Gallian, S. Lhomme, Y. Piquet, K. Sauné, F. Abravanel, A. Assal, P. Tiberghin, J. Izopet. High rate of HEV viremia in blood donors, France. *Emerging Infectious Diseases* 2014;20:1914-1917
50. S. Lhomme, F. Abravanel, M. Dubois, K. Sandres-Sauné, JM. Mansuy, L. Rostaing, N. Kamar, J. Izopet. Characterization of the polyproline region of the Hepatitis E virus in immunocompromised patients. *Journal of Virology* 2014;88:12017-12025.
51. F. Abravanel, S. Lhomme, L. Rostaing, N. Kamar, J. Izopet. Protracted faecal shedding of HEV during ribavirin therapy predicts treatment relapse. *Clinical Infectious Diseases* 2015;60:96-99
52. JM. Mansuy, K. Sauné, H. Rech, F. Abravanel, C. Mengelle, S. Lhomme, F. Destruel, N. Kamar, J. Izopet. Seroprevalence in blood donors reveals widespread, multi-source exposure to hepatitis E virus in southern France. *Eurosurveillance sous presse*
53. Hélène Bauer, Cécile Luxembourger, Jacques-Eric Gottenberg, Sophie Fournier, Florence Abravanel, Alain Cantagrel, Emmanuel Chatelus, Pascal Claudepierre, Christophe Hudry, Jacques Izopet, Sylvie Fabre, Guillaume Lefevre, Laurent Marguerie, Antoine Martin, Laurent Messer, Anna Molto, Béatrice Pallot-Prades, Yves-Marie Pers, Anne-Marie Roque-

Afonso, Christian Roux, Christelle Sordet, Martin Soubrier, Claire Veissier, Daniel Wendling, Jean-Marie Péron, Jean Sibilia
Outcome of hepatitis E virus infection in patients with inflammatory arthritides treated with immunosuppressants: a French retrospective multicenter study. 2015 *Medicine* ® sous presse.

54. Del Bello A, Guilbeau-Frugier C, Josse AG, Rostaing L, Izopet J, Kamar N. Successful treatment of hepatitis E virus-associated cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis with ribavirin. *Transpl Infect Dis*. 2015 sous presse.

55. Lhomme S, Top S, Bertagnoli S, Dubois M, Guerin JL, Izopet J, Wildlife: a Hepatitis E Virus Reservoir in South-West France, *Emerging Infectious Diseases*, 2015, sous-presse.

56. Blasco Perrin H, Cintas P, Abravanel F, Gérolami R, d'Alteroche L, Raynal JN, Alric L, Dupuis E, Prudhomme L, Vaucher E, Couzigou P, Liversain JM, Buscail L, Bureau C, Vinel JP, Kamar N, Izopet J, Peron JM, Neurological disorders in non-immunocompromised patients with autochthonous acute hepatitis E *Emerging Infectious Diseases*, 2015 sous presse.

Articles de Revue Anglophone

1- Kamar, N., R. Bendall, F. Legrand-Abravanel, N. S. Xia, S. Ijaz, J. Izopet, and H. R. Dalton. Hepatitis E. *Lancet* 2012; 379:2477-88.

2- Kamar, N., F. Legrand-Abravanel, J. Izopet, and L. Rostaing. Hepatitis E virus: what transplant physicians should know. *Am J Transplant* 2012; 12:2281-7.

4- Lhomme S, Dubois M, Abravanel F, Top S, Bertagnoli S, Guerin JL, Izopet J. Risk of zoonotic transmission of HEV from rabbits. *J Clin Virol*, 2013; 58:357-362

5- Kamar N, Izopet J, Rostaing L. Hepatitis E virus infection. *Curr Opin Gastroenterol*, 2013; 29: 271-278.

6- Kamar N, Rostaing L, Izopet J. Hepatitis e virus infection in immunosuppressed patients: natural history and therapy. *Semin Liver Dis*. 2013; 33 :62-70.

7- Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microb Rev*, 2014; 27: 116-138

8- Arends JE, Ghisetti V, Irving W, Dalton HR, Izopet J, Hoepelman AL, Salmon D. Hepatitis E: an emerging infection in high income countries. *J Clin Virol* 2014; 59:81-88

9- H. Dalton, N. Kamar, J. Izopet. Hepatitis E. *Future Microbiology* 2014;9:1361-1372

10- N. Kamar, F. Abravanel, S. Lhomme, L. Rostaing, J. Izopet. Hepatitis E virus: chronic infection, extra-hepatic manifestations, and treatment. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 2015;39:20-27

11- Kamar N, Izopet J, Dalton HR. Chronic hepatitis E virus infection and treatment. *J Clin and Exp Hepatology*; sous presse

Communications orales nationales

- H. Poirson, JM. Peron, JM. Mansuy, L. Alric, C. Bureau, E. Dupuis, S. Metivier, J. Izopet, JP. Vinel. Hépatite aiguë E en Midi-Pyrénées : une étude de 17 malades consécutifs sur une période de 13 mois. Association Française pour l'Etude du Foie –Paris (2003).
- JM. Mansuy, JM. Peron, M. Miédougé, C. Mengelle, C. Pasquier, M. Dubois, J. Izopet. Infection autochtone par le virus de l'hépatite E dans la région Midi-Pyrénées. VIème Congrès de la Société Française de Microbiologie – Bordeaux (2004).
- JM. Mansuy, G. Martin-Blondel, F. Abravanel, C. Mengelle, M. Miédougé, C. Merviel, M. Dubois, N. Kamar, L. Rostaing,
- JM. Peron, L. Alric, J. Izopet. Les hépatites E aiguës en Midi-Pyrénées de 2003 à 2007. 58^{ème} Congrès Français de Médecine Interne – Bordeaux (2008).
- J. Izopet. Diagnostic biologique de l'infection à HEV. XX^{ème} Colloque de Virologie de Versailles – Paris (2008).
- J. Izopet. Hépatite E : de la transmission zoonotique à l'infection chronique chez l'immunodéprimé. Séminaire de l'IFR48 « Maladies infectieuses » - Marseille (2008).
- J. Izopet. L'hépatite E : une nouvelle pathologie virale pour les pays industrialisés. Congrès de microbiologie – Paris (2009)
- J. Izopet. Hépatite E : de la transmission zoonotique à l'infection chronique chez l'immunodéprimé. Congrès "Virus émergents" – Monastir – Tunisie (2009).
- J. Izopet. Sécurité biologique et virus de l'hépatite E. Colloque Fondation Alliance BioSécure – Paris (2010)
- Izopet J. Hepatitis E and transfusion risk, symposium CERUS 2012, Nantes.
- Izopet J. Hépatite E : Emergence ou infection méconnue ? Réunion Abbott, la biologie médicale en 2012 : innovations et perspectives 2012, Paris.
- Abravanel F. Epidémiologie et diagnostic du VHE. Journées de Biologie Médicales Toulousaines organisées par l'association des biologistes de Midi-Pyrénées. Mai 2012 Toulouse
- Abravanel F. Présentation des outils diagnostics pour le VHE aux journées des Actions Coordonnées 11/12 et 33 de l'ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites virales), novembre 2012 Paris

- Abravanel F. Le virus de l'hépatite E. Journées de Physiopathologie de Strasbourg. décembre 2012. Strasbourg
- Izopet J. Hépatite E. Assemblée générale de la fédération régionale des chasseurs de Midi-Pyrénées, Caussens 2013
- Izopet J. HEV : état des connaissances et risques infectieux. Congrès de la société française de Transfusion sanguine 2013, Paris.
- Izopet J. Hépatite E : quels test en pratique, GemHep 2013, Paris.
- Izopet J. Hépatite E, Workshop Virosem 2013, Bordeaux.
- Izopet J. Hépatite E. Journées des Actions Coordonnées 11/12 et 33 de l'ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites virales), Janvier 2014, Paris.
- Izopet J. Hépatite E, Symposium Biomérieux 2013, Marcy l'Etoile
- Izopet J Hépatite E – Groupe Hospitalier Cochin – Paris (2014)
- Izopet J Hépatite E : une infection sexuellement transmissible ? 6^{ème} Congrès national des IST - Toulouse –(2014)
- Izopet J. Transmission zoonotique du VHE - Séminaire FRES – Ajaccio (2014)
- Izopet J. Le VHE dans sa problématique transfusionnelle - Journée de la Société Française de Transfusion Sanguine – Paris (2014)
- Izopet J. Hepatitis E virus - Cross-Border Symposium on Viral Hepatitis - Lille (2014)
- Izopet J. Hépatite E - Réunion ANRS AC11/AC12/AC33 – Paris (2014)
- Izopet J. Actualités en diagnostic sérologique - Diagnostic et suivi des maladies Infectieuses – Innovation & Perspectives - Paris – 05/06/2014
- Izopet J. Hépatite E – Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière – Paris (2015)
- Izopet J. Hepatitis E virus - Réseau National Hépatites - ANRS – Paris (2015)

Communications orales internationales

- JM. Mansuy, JM. Peron, F. Legrand-Abravanel, M. Miédougé, C. Mengelle, C. Pasquier, M. Dubois, J. Izopet. Autochthonous hepatitis E in Midi-Pyrenees region (south west of France). Winter Meeting of European Society of Clinical Virology – Copenhagen (2004).
- H. Poirson, JM. Peron, R. Missouri, J. Selves, JM. Mansuy, C. Bureau, J. Izopet, JP. Vinel. Liver histology in patients with sporadic acute hepatitis E : a study of 11 patients from south west France. 51^{ème} Congrès de l'American Association for the Study of Liver Diseases – Dallas (2004).
- JM. Mansuy, F. Legrand-Abravanel, JP. Calot, JM. Peron, L. Alric, K. Sandres-Sauné, S. Agudo, H. Rech, F. Destruel, J. Izopet. Anti-Hepatitis E and anti-Hepatitis A IgG antibodies among volunteer blood donors from the south west France. 1^{er} Colloque Tuniso-Français – Monastir (2005).
- J. Izopet. Hepatitis E : monitoring and treatment. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases – Vienne (2010).
- J. Izopet. Hepatitis E. Sino-French Workshop on Biosafety and Biosecurity – Pekin (2010).
- N. Kamar, EB. Haagsma, V. Garrigue, S. Pischke, C. Chauvet, J. Dumortier, A. Cannesson, E. Cassuto-Viguié, E. Thervet, F. Conti, P. Lebray, HR. Dalton, J. Izopet, L. Rostaing and the hepatitis E virus transplant study group. Predictive factors, natural history and outcome of chronic hepatitis E virus infection in solid-organ-transplant patients: A retrospective multicenter study. American Transplant Congress – Philadelphia (2011).
- N. Kamar, C. Garrouste, EB. Haagsma, V. Garrigue, S. Pischke, C. Chauvet, J. Dumortier, A. Cannesson, E. Cassuto-Viguié, E. Thervet, F. Conti, P. Lebray, HR. Dalton, R. Santella, N. Kanaan, M. Essig, C. Mousson, S. Radenne, AM. Roque-Afonso, J. Izopet, L. Rostaing. Predictive factors, natural history and outcome of chronic hepatitis E virus infection in solid-organ-transplant patients: A retrospective multicenter study. 46th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver – Berlin (2011).
- Abravanel F., Lhomme S., Chapuy-Regaud S, Miedouge M., Grégoire D, Muscari F., Sallusto, F., Rostaing L., N Kamar, Izopet J. Hepatitis E virus reinfections in solid-organ transplant recipients having anti-HEV antibodies. AASLD 2012, Boston Izopet J. Diagnosis, prevention and management of HEV infection. 22nd European congress of clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2012, Londres.
- Izopet J. Hepatitis E IPFA/PEI international workshop on surveillance and screening of Blood borne Pathogens, 2012, Budapest.
- Izopet J., Dubois M., Bertagnoli S., Lhomme S., Marchandeu S., Boucher S., Kamar N., Abravanel F., Guerin JL. Risk of zoonotic transmission of HEV from rabbits. 15th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology 2012, Madrid
- Izopet J. Hepatitis E and development of an HEV infectivity assay, PDA European virus and safety Forum, 2013, Berlin.
- Izopet J. Hepatitis E infection. 1^{ère} journées Franco-Maghrébines de Virologie 2013, Marrakech.
- Izopet J. HEV-update and considerations for transfusion screening - Grifols Diagnostics Symposium – Barcelone, Octobre 2014
- Izopet J. SD plasma and neutralization of HEV antibodies - EMA Workshop on viral safety – Londres, Octobre 2014

- Izopet J. Hepatitis E in developing and developed countries - ISMD 2014 - Graz – Mai 2014
- Izopet J. Prevalence of silent HEV infections in blood donors - 17th Annual Meeting of ESCV - Prague –Octobre 2014
- Izopet J. Conférence de presse HEV- Londres, Novembre 2014
- Izopet J. Hepatitis E virus - Center for Virus Research Irvine University - Irvine USA, Février 2015