

Rapport annuel d'activité

2019

Centre de national de référence

**Virus des hépatites à
transmission entérique**

**Année d'exercice
2018**

Préambule

Résumé analytique (en français et en anglais)

Le CNR des virus des hépatites à transmission entérique est coordonné par le Pr Jacques Izopet en charge de l'hépatite E, à Toulouse en association avec le Pr Anne-Marie Roque-Afonso en charge de l'hépatite A, à Villejuif.

Concernant le VHA, 2017 avait été marquée par une épidémie de grande ampleur chez les homosexuels masculins (HSH), avec une incitation à une surveillance active des souches responsables d'hépatite A chez des hommes. En 2018, année post-épidémique, cette dynamique d'envoi des souches au CNR s'est poursuivie, avec globalement une surreprésentation des hommes parmi les cas (67%) et l'isolement de souches épidémiques dans près d'un cas sur deux. Ces données sont donc différentes de celles de la Déclaration Obligatoire avec un retour à la normale du sex ratio en 2018. Les cas infectés par ces souches étaient plus souvent des hommes (84.2 vs. 50.5%) et avaient un âge plus élevé que ceux infectés par des souches non épidémiques (n=188) : 40.9 vs. 24.5 ans. Ces différences montrent la complémentarité des systèmes de surveillance.

En 2018, le CNR VHE a évalué les performances de tests d'immunoanalyse (Test antigène VHE de Wantai chez les transplantés d'organe solide et test IgM VHE de Virclia) et de tests moléculaires pour la détection-quantification de l'ARN VHE dans les selles (test Realstar HEV RT-PCR d'Altona associé à 2 systèmes d'extraction de l'ARN viral). Le CNR VHE, en collaboration avec ses partenaires (Centres hospitaliers, laboratoires privés, Etablissement Français du sang) a répertorié 2642 cas d'hépatite E, chiffre en hausse de 17.7 % par rapport à 2017. L'âge moyen des sujets diagnostiqués était de 56,6 ±26,2 ans, avec une majorité d'hommes (64,3%).

Dans le cadre de la surveillance des souches circulant en France, le CNR a caractérisé 737 souches de VHE appartenant très majoritairement au génotype 3 (98%). Les sous-types impliqués étaient principalement le sous-type 3f (54%) et les sous-types 3chi (41.1%). Dix enquêtes dans le cadre de suspicion de contamination transfusionnelle et 2 enquêtes dans le cadre de cas groupés d'hépatite E ont été réalisées.

The Reference Centre for enterically transmitted hepatitis viruses is coordinated by Professor Jacques Izopet in charge of hepatitis E in Toulouse, in association with Professor Anne-Marie Roque-Afonso in charge of the hepatitis A, in Villejuif.

Regarding HAV, 2017 was marked by a large outbreak among homosexual men (MSM) with an incentive for active surveillance of strains causing hepatitis A in men. In 2018, a post-epidemic year, this dynamic of sending strains to the NRC continued, with an overall over-representation of men among cases (67%) and isolation of 2017 epidemic strains in almost one out of two cases. These data are therefore different from those of the Mandatory Notification, with a return to normal of the sex ratio in 2018. The cases infected by epidemic strains were more often men (84.2 vs. 50.5%) and were older than those infected with non-epidemic strains (40.9 vs. 24.5 years)

These differences show the complementarity of surveillance systems.

In 2018, the HEV reference center has evaluated the performance of immunoassays (HEV antigen from Wantai in solid organ transplant recipients and the anti-HEV IgM assay from Virclia) and molecular assays (Realstar HEV Altona RT-PCR assay by Altona associated with 2 extraction methods of viral RNA). The reference center in collaboration with its partners (Hospitals, private labs and French establishment for blood collection, EFS) has listed 2642 cases of hepatitis E infections, representing an increase of 17.7% compared with 2017. The mean age of the cases was 56.6 ±26.2 years.

We have characterized 737 HEV strains from patients that belong for the majority to genotype 3 (98%), mainly subtypes 3f (54%) and 3chi (41.1%). We performed 10 investigations concerning suspected cases of transmission by transfusion of grouped cases.

1. Missions et organisation du CNR

Pour le VHA, un technicien, un ingénieur et 2 biologistes ont été impliqués dans le fonctionnement du CNR : Eric Marchadier, Dr Lisa Mouna, Dr Elise Bouthry et Pr Anne Marie Roque. Le Pr Anne Marie Roque-Afonso coordonne le CNR VHA, le Dr Lina Mouna, ingénieur, assure la fonction de responsable adjoint. Le CNR VHA est accrédité selon la norme ISO 15189 pour les techniques sérologiques.

Pour le VHE, deux ingénieurs et trois biologistes ont été impliqués dans le fonctionnement du CNR : Martine Dubois, Chloé Diméglio, Dr Florence Abravanel, Dr Sébastien Lhomme et Pr Jacques Izopet. Le Pr Jacques Izopet coordonne le CNR des virus des hépatites à transmission entérique et les Dr F. Abravanel et S. Lhomme assurent les fonctions de responsables adjoints.

Le CNR VHE est accrédité selon la norme ISO 15189 pour les techniques sérologiques, la détection et la quantification de l'ARN VHE dans le sang, les selles et le liquide céphalo-rachidien ainsi que le typage par séquençage de la région ORF2.

2. Activités d'expertise

- Evaluation des tests d'immunoanalyse Ag VHE de Wantai chez les patients transplantés et IgM VHE de Virclia
- Caractérisation de 737 souches de VHE transmises par les partenaires du CNR (Centres hospitaliers, laboratoires privés) et 50 souches de donneurs de sang transmises par l'Etablissement Français du sang.

Les techniques disponibles au CNR sont présentées en annexe 2.

2.1 Évolutions des techniques

Pas d'évolution technique en 2018 pour le CNR VHA.

En 2018, le CNR VHE a développé une technique de séquençage haut débit permettant le séquençage de génomes complets du VHE (technologie Oxford Nanopore).

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

- Le CNR VHA évalue actuellement des réactifs de dosage des IgG ou anti-corps totaux anti-VHA.
- Le CNR VHE a évalué l'intérêt de la détection et de la quantification de l'Ag de capsidie libre du VHE dans le sang et les urines de 24 patients transplantés d'organe à la phase aiguë de l'infection à l'aide du test Ag VHE de Wantai. L'antigène de capsidie était détectable chez 23/24 (96%) des patients infectés. Dès la phase aiguë, un seuil de l'index du test Ag VHE de 3,56 log permet de discriminer les transplantés qui vont développer une infection chronique de ceux qui vont guérir spontanément avec une sensibilité de 80% et une spécificité de 100%. La valeur prédictive positive à ce seuil est de 100% et la valeur prédictive négative est de 75% (Marion, J Infection 2019).
- En collaboration avec le Laboratoire Biofusion de Montauban nous avons réalisé une évaluation du test IgM VHE de Virclia. Au cours de l'année 2018, le CNR a reçu du LBM 43 échantillons retrouvé positifs en IgM avec le test Virclia pour confirmation avec la technique Wantai. Parmi ces 43 échantillons, 15 (soit 34.9%) ont été confirmés positifs avec la technique IgM VHE de Wantai. Parmi ces 15 échantillons, 13 ont pu être utilisés pour réaliser la recherche de l'ARN du VHE par PCR : 11/13 (84.6%) ont été retrouvé ARN VHE+. Parmi les 28 échantillons IgM discordants, la recherche de l'ARN du HEV a pu être réalisée pour 18 échantillons (volume insuffisant pour 10 échantillons) : tous étaient ARN VHE négatifs.
- Nous avons comparé les performances de la RT-PCR Realstar HEV RNA d'Altona et de 2 systèmes d'extraction des acides nucléique pour détecter et quantifier l'ARN VHE dans les selles. L'ARN viral a été détecté dans 77/93 (82.8%) avec le test Altona et dans 83/93 (89.2%) avec la RT-PCR accréditée du CNR, des échantillons extraits avec le système QIAamp viral RNA mini kit. L'ARN viral a été détecté dans 67/92 (72.8%) et 66/92 (71.7%) des échantillons extraits avec l'automate MagnaPure 96 de Roche. Les performances du test Altona sont équivalentes à la technique du CNR. Cette évaluation met en lumière l'importance du système d'extraction pour ce type d'échantillon (Abravanel, J Clin Virol 2018).

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

La technique de détection de l'ARN VHE par RT-PCR en temps réel du CNR VHE a été transférée au Dr Richard NJOUM, à l'institut Pasteur de Yaoundé au Cameroun.

2.4 Collections de matériel biologique

La collection de sérums et selles du CNR VHA intègre le CRB Paris Sud à l'année N+1. La collection actuelle comporte des échantillons collectés lors de la période 2013-2016 dont le volume permet une cession pour des analyses complémentaires, ou un éventuel projet de recherche. La cession de matériel est soumise à projet et nécessite l'approbation du Copil du CRB.

Le CNR VHE dispose d'une collection clinique de plus de 1000 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 (certifié AFNOR selon

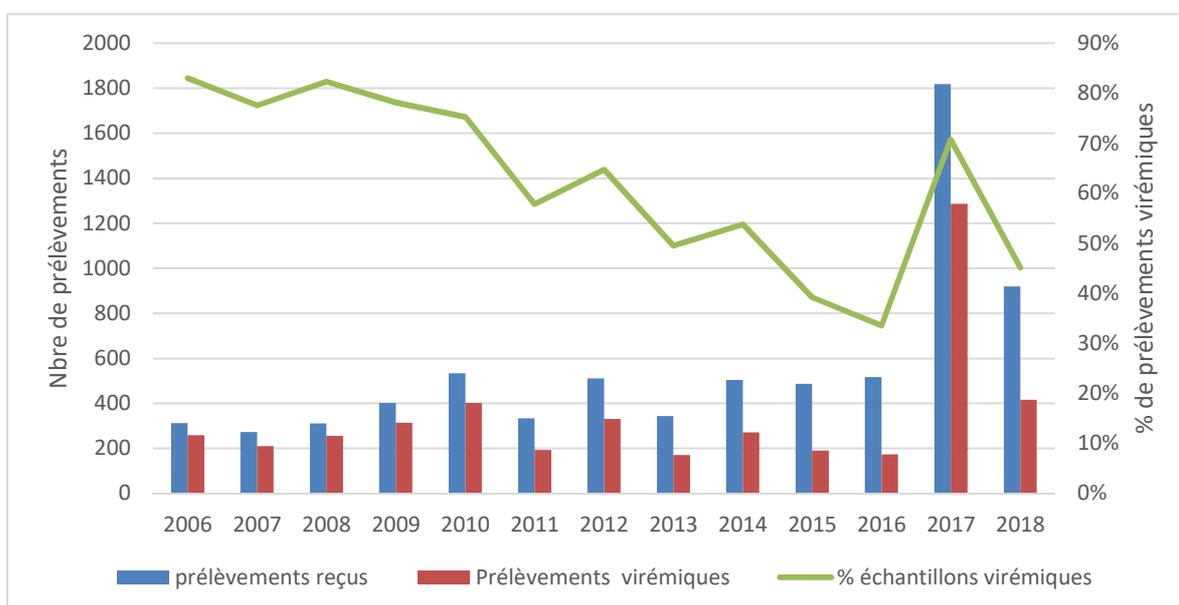
la norme NF S96-900) ainsi que d'une collection de surnageant de culture de souches cliniques (génotypes 1, 3f et 3c).

Le CNR VHE a fourni des échantillons de sérum positifs en IgM VHE aux CH de Lourdes et Tarbes pour la validation des tests sérologiques.

2.5 Activités d'expertise

HEPATITE A

2018, a été une année post épidémique, avec encore un nombre important d'échantillons reçus : 919 vs. 1818 en 2017 et 516 en 2016. Le pourcentage d'échantillons présentant un ARN viral détectable a atteint 45% vs. 71% en 2017.

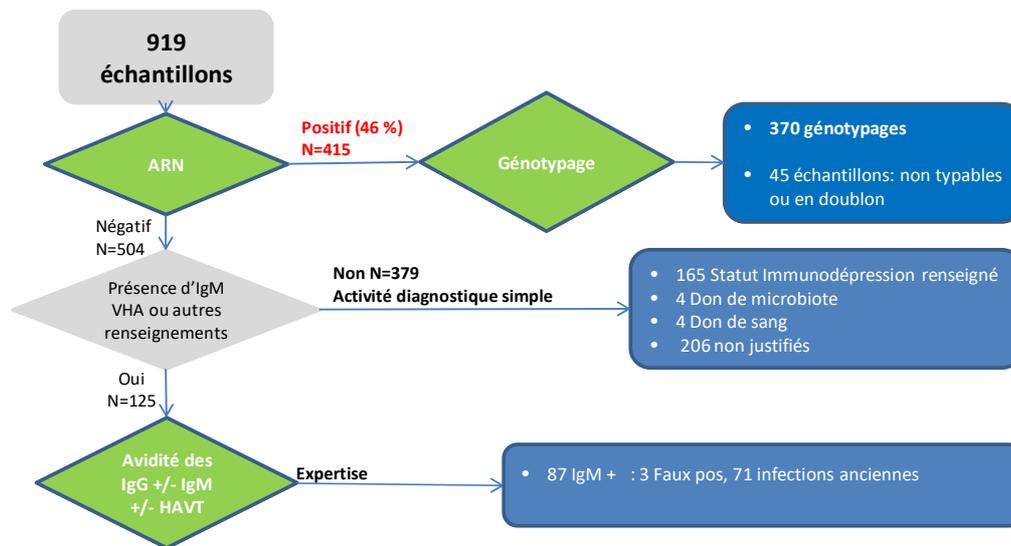


Nombre d'échantillons reçus et fréquence des échantillons virémiques (2006-2018)

La démarche appliquée aux 919 échantillons est présentée ci-dessous.

415 échantillons (45%) avaient un ARN viral détectable, correspondant à 370 patients différents dont les souches ont été génotypées : échantillons adressés dans le cadre de l'observatoire des souches, de l'investigation des cas groupés par les ARS, ou d'expertises du don du sang par l'EFS.

- 379 échantillons (41%) ont été adressés pour simple diagnostic, ou sans renseignements. Aucun cas d'hépatite A n'a été identifié dans ce contexte.
- 125 échantillons (14%) étaient adressés pour expertise, dont 87 présentaient des IgM détectables et un ARN viral indétectable. L'avidité des IgG suggérait une infection ancienne dans 71 cas. Si l'on considère tous les échantillons avec des IgM anti-VHA initialement détectables (415+87), 14% ne correspondaient pas à des infections en cours. Ce pourcentage est habituellement autour de 25%, sauf en cas d'épidémie d'envergure comme en 2017.

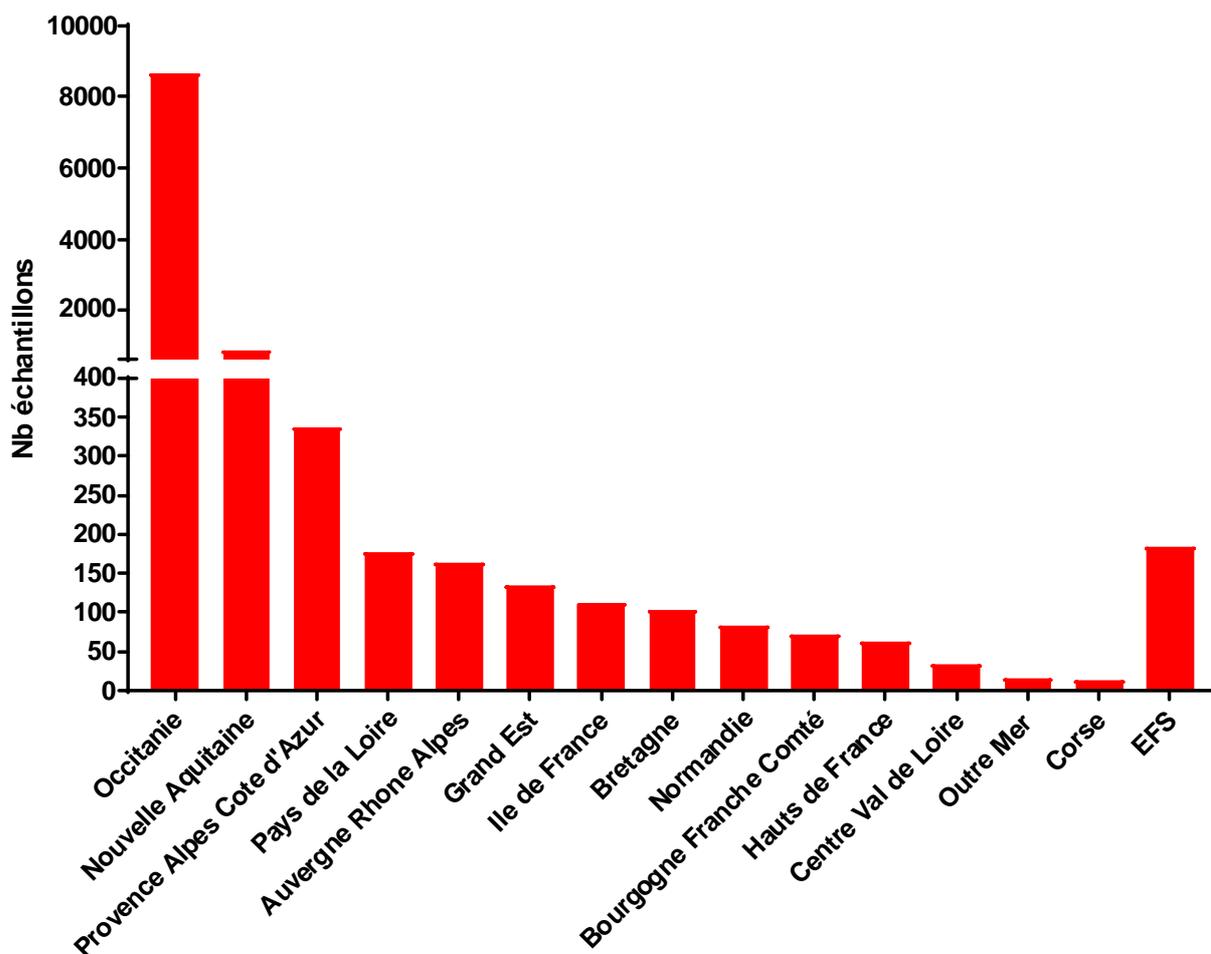


Les analyses disponibles (en vert sur le diagramme) sont Détection de l'ARN viral (délai de rendu 1 sem.), Génotypage (1 à 2 sem.), Avidité des IgG VHA (1 mois), Anticorps totaux VHA et IgM VHA (1 sem.).

HEPATITE E

Prélèvements reçus au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse

En 2018, le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse a réalisé 6955 analyses sérologiques (-4.3% par rapport à 2017) et 6191 tests moléculaires (+0,4% par rapport à 2017) 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, Réunion, Martinique).



Origine des échantillons reçus au CNR VHE

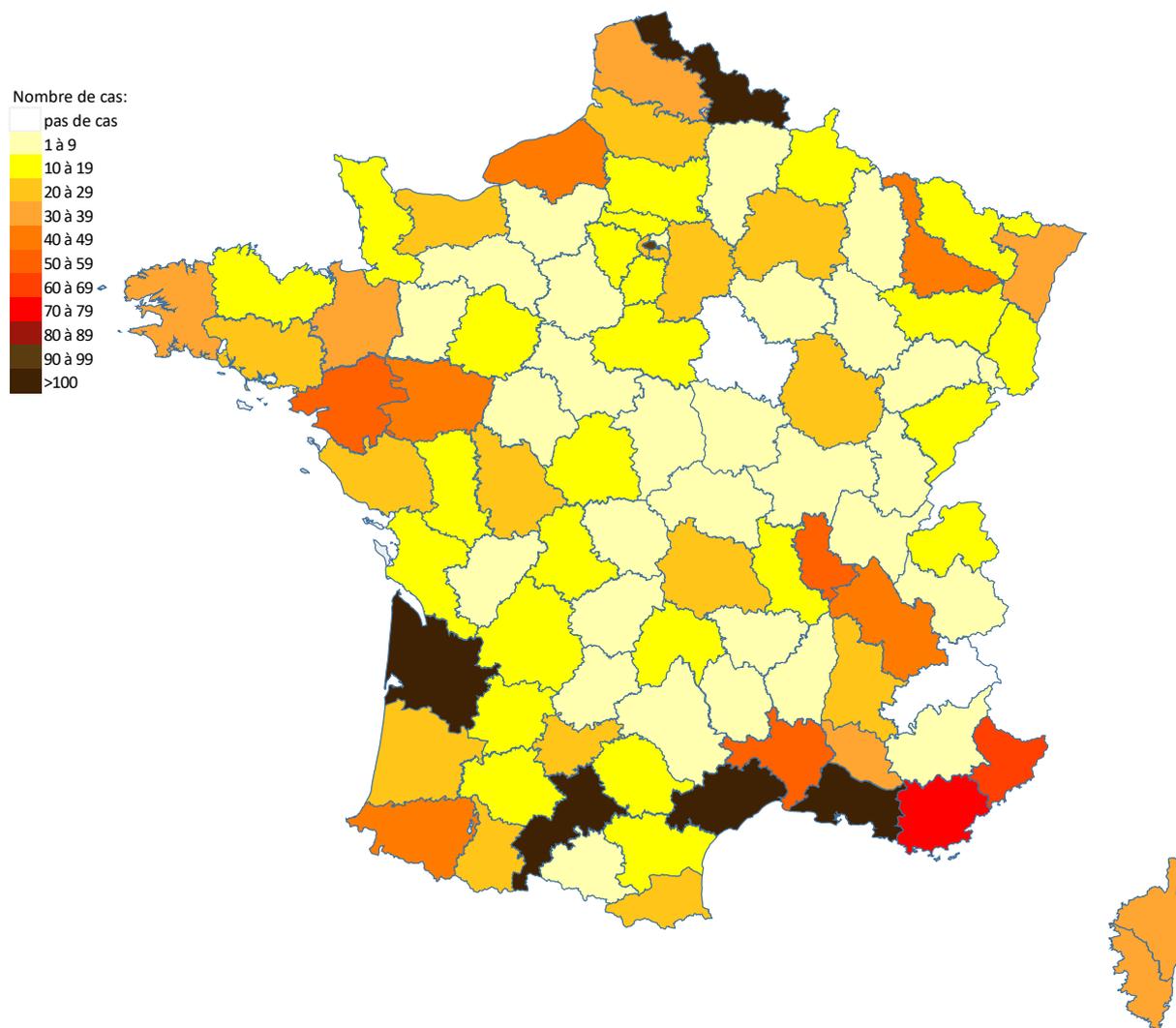
Les délais de rendu des résultats sont de 1 jour pour les tests sérologiques VHE, 3 jours pour la détection-quantification de l'ARN VHE, et 10 jours pour le génotypage VHE.

Prélèvements reçus par les autres laboratoires

L'Hôpital Paul Brousse à Villejuif a réalisé 5745 analyses sérologiques et 3157 tests moléculaires pour le diagnostic et la caractérisation des souches de VHE. Le laboratoire d'analyses spécialisées Cerba a réalisé 30660 analyses sérologiques et 1040 PCR VHE pour des laboratoires privés de France ou des DOM-TOM. Le laboratoire d'analyses spécialisées Biomnis a réalisé 24850 tests IgM anti-VHE et 801 PCR VHE.

Synthèse : en 2018, environ 90 000 patients ont été testés et 2642 cas d'hépatite E symptomatiques ont été diagnostiqués. La majorité des cas sont autochtones. L'âge moyen des sujets diagnostiqués était de $56,6 \pm 26,2$ ans, avec une majorité d'hommes (64,3%). Ces infections sont survenues majoritairement chez des personnes immunocompétentes et dans 19,3% des cas chez des personnes immunodéprimées (transplantés d'organe solide 45,2%, patient d'hémo-oncologie sous chimiothérapie 25,2%, patients

infectés par le VIH 0,6% ou recevant des immunothérapies ou des chimiothérapies anti-cancéreuses 28,7%).
La répartition géographique des cas est illustrée dans la figure ci-dessous :



L'évolution du diagnostic des cas d'hépatite E en France depuis 2002 est présentée dans le tableau ci-dessous :

	Nb patients testés	NB cas certains ou probables			% cas positifs parmi les échantillons testés
		Total	Importés	Autochtones	
<i>2002</i>	209	13	4	9	6,2
<i>2003</i>	155	14	11	3	9,0
<i>2004</i>	233	20	4	16	8,5
<i>2005</i>	327	39	19	20	11,9
<i>2006</i>	583	38	14	24	6,5
<i>2007</i>	1012	107	10	97	10,5
<i>2008</i>	1700	180	21	159	10,5
<i>2009</i>	2150	206	23	183	9,6
<i>2010</i>	2549	232	16	216	9,1
<i>2011</i>	3429	266	19	249	7,6
<i>2012</i>	17566	801	9	801	4,6
<i>2013</i>	35416	1851	3	1848	4,9
<i>2014</i>	44382	1825	12	1813	4,1
<i>2015</i>	66000	2122	4	2118	3,5
<i>2016</i>	76000	2302	10	2292	3
<i>2017</i>	80000	2245	26	2219	2,8
2018	90000	2642	26	2616	2,9

2.6 Activités de séquençage

HEPATITE A

Le CNR VHA n'utilise pas en routine les techniques NGS, et une évolution vers un typage génome entier sur une fraction des souches adressées aux CNR est toujours en projet. Le CNR aura accès à la plateforme de séquençage de l'oncogénétique du groupe hospitalier HUPS (séquenceur Illumina MiSeq). La question de l'expertise bioinformatique est encore en suspens.

Actuellement, le CNR fait appel systématiquement au séquençage Sanger pour le génotypage des souches à des fins de santé publique : surveillance et investigation d'épidémie. Celui-ci est actuellement réalisé après amplification et séquençage d'un fragment de 508 nucléotides de la région VP1/2A. La réaction de séquence est lue sur un séquenceur capillaire ABI 3130 qui sera remplacé en 2019 par un séquenceur SeqStudio 4 capillaires. Le génotype est déterminé par analyse phylogénétique. Les séquences sont stockées dans le

logiciel Bionumerics qui permet de comparer toute nouvelle souche à l'ensemble des souches préalablement identifiées.

Les séquences brutes (fluorogramme) et la database Bionumerics sont stockés sur un NAS sécurisé hébergé par le groupe hospitalier, avec 2 sauvegardes journalières. Le dossier informatique a été déclaré à la CNIL (déclaration normale) sous le numéro 2170170. Une partie des séquences sous format fsta est partagée avec le réseau HAVNet.

HEPATITE E

Le CNR VHE dispose d'un accès à 3 types de plateformes de séquençage :

- séquençage Sanger
- séquençage haut débit sur la plateforme génomique/bio-informatique du pôle biologie du CHU de Toulouse fédérant les équipements Illumina et Life Technologies de 2 sites (Purpan et Langlade) et l'ensemble des besoins concernant le calcul, le stockage et l'archivage
- séquençage haut débit sur la plateforme génomique/bio-informatique de Genotoul (INRA) : équipements Illumina, Pacific Biosciences et Oxford Nanopores.

Le CNR VHE a accès à la cellule bio-informatique du pôle biologie constituée de 5 bio-informaticiens dont l'un est dédié aux projets d'infectiologie. Les outils utilisés sont des outils maison et libre accès. Les analyses phylogénétiques sont réalisées avec les logiciels standards (Clustal X2, PhyML, iTOL, Ugene, TreeView).

Le séquençage est utilisé dans le cadre d'investigation de cas groupés ou d'enquêtes transfusionnelles (12 enquêtes réalisées en 2018) et dans le cadre de la surveillance des souches circulant chez les patients symptomatiques ARN VHE positifs ou les donneurs de sang. Le séquençage Sanger a été réalisé de manière systématique (pas de sélection des souches) Nous évaluons actuellement la technologie de séquençage de 3^{ème} génération d'Oxford Nanopore pour le séquençage de génomes complets.

Les séquences brutes obtenues ont été déposées dans deux bases de données fermées (celle du LBM du CHU de Toulouse et HEV Net, base de données internationale RIVM, Bilthoven, Pays-Bas). Les séquences utilisées pour les articles scientifiques ont été déposées dans GenBank.

3. Activités de surveillance

Pour le CNR HAV, 2017 avait été marquée par une épidémie de grande ampleur chez les homosexuels masculins (HSH), avec une incitation à une surveillance active des souches responsables d'hépatite A chez des hommes. En 2018, année post-épidémique, cette dynamique d'envoi des souches au CNR s'est poursuivie, avec une surreprésentation des souches isolées chez des hommes et l'isolement de souches épidémiques.

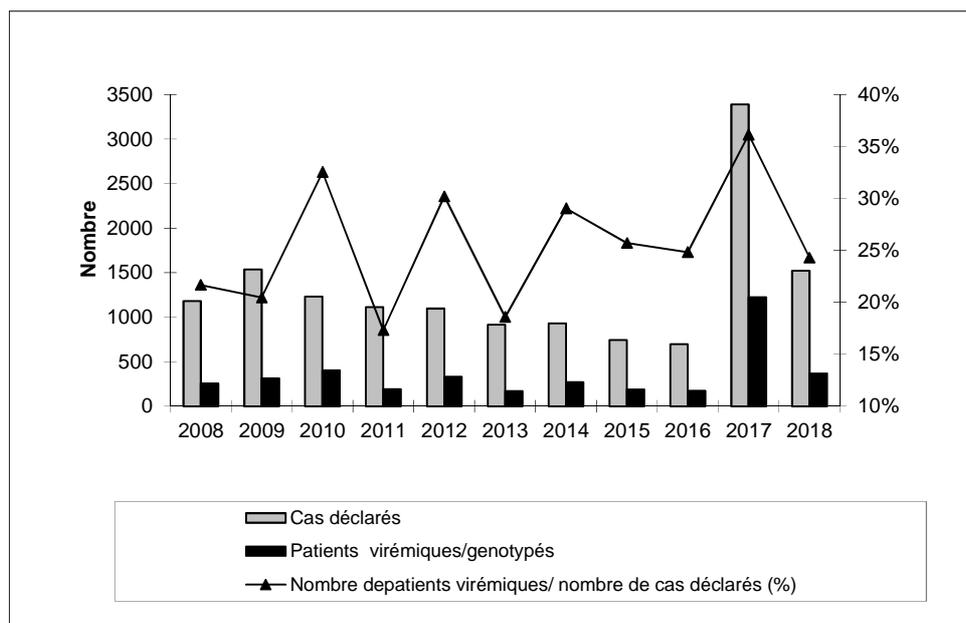
Le CNR VHE, en collaboration avec ses partenaires (Centres hospitaliers, laboratoires privés, Etablissement Français du sang) a répertorié 2642 cas d'hépatite E en 2018, chiffre en augmentation de 17.7% par rapport à 2017. Dans le cadre de la surveillance des souches circulant en France, le CNR a reçu 820 souches de patients symptomatiques et a pu génotyper 737 souches de VHE appartenant très majoritairement au génotype 3 (98.8%). Les sous-types impliqués étaient principalement le sous-type 3f (54%) et les sous-types 3chi (41.1%). Il a également caractérisé 50 souches de donneurs de sang asymptomatiques.

3.1 Description du réseau de partenaires

HEPATITE A

○ Estimation de la couverture du réseau ou représentativité ;

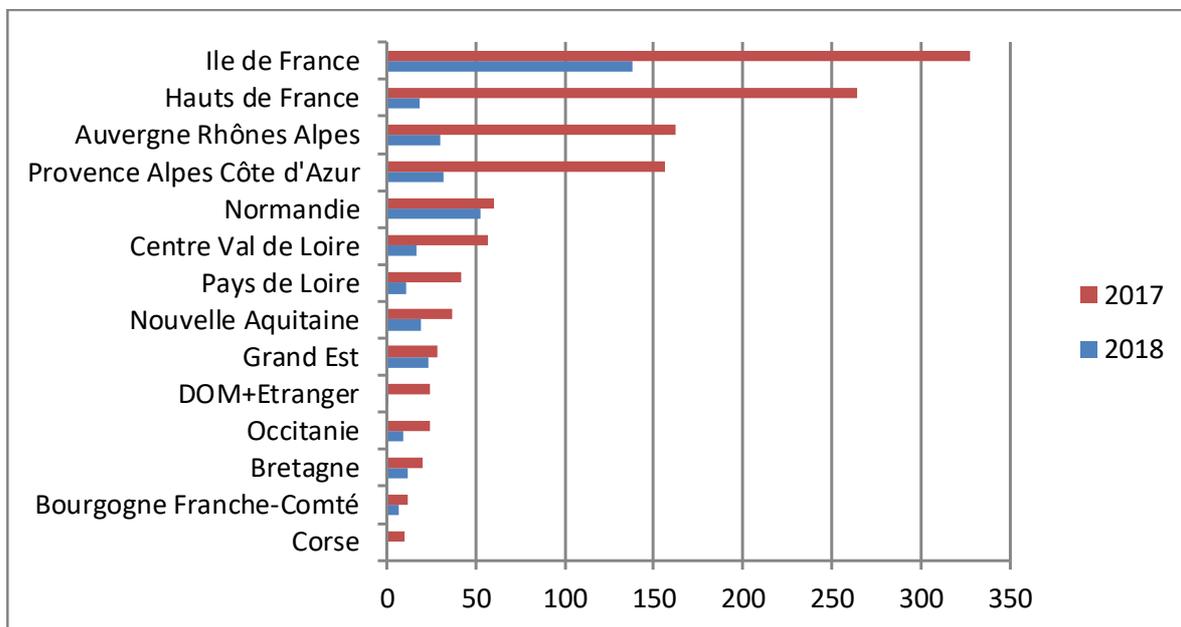
Hors investigations de cas groupés, l'envoi de sérums dans le cadre de l'observatoire des souches par des laboratoires publics ou privés est sur la base du volontariat. 2010, 2012 et 2017 ont été marquées par une recherche active de cas à la demande des ARS. Le nombre de souches analysées par rapport au nombre de cas déclarés varie entre 17 et 36%.



Nombre de patients virémiques par rapport au Nombre de cas déclarés (DO)

○ **Répartition géographique des infections caractérisées au CNR**

En 2018, toutes les régions sont représentées. Les 370 souches génotypées proviennent à plus de 50% d'Ile de France et de Normandie.



Nombre de cas génotypés par région en 2017 et 2018

HEPATITE E

Le laboratoire de virologie de Toulouse travaille en collaboration avec les laboratoires de virologie des CHU, des centres hospitaliers généraux et des structures privées. Il réalise les PCR de détection - quantification de l'ARN VHE et assure la caractérisation des souches identifiées. C'est le cas des CHU d'Angers, Besançon, Brest, Nice, Nîmes, Poitiers, Saint-Etienne, Reims et Rouen.

D'autre part, les CHU de Bordeaux, Caen, Clermont-Ferrand, Dijon, Grenoble, Limoges, Lille, Lyon, Montpellier, Nantes, Nancy, Rennes, Strasbourg et Tours réalisent les tests moléculaires localement et les échantillons positifs sont envoyés au laboratoire de virologie de Toulouse pour 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.

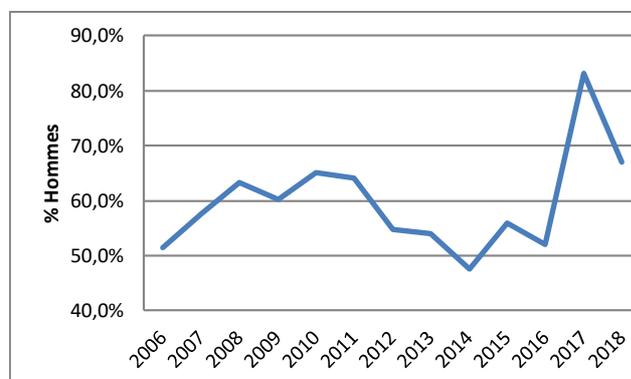
Le laboratoire de virologie de Paul Brousse a communiqué le nombre de cas d'hépatite E identifiés en 2018.

Le laboratoire de virologie du CHU de Marseille a également communiqué le nombre de cas d'hépatite E identifiés en 2018.

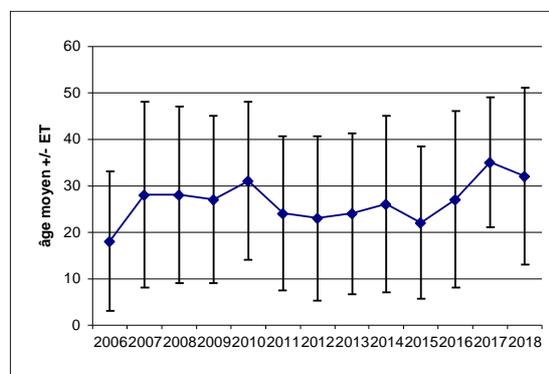
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

HEPATITE A

En 2018 comme en 2017, les patients identifiés au CNR étaient encore très majoritairement de sexe masculin, 67% des cas, et l'âge moyen restait élevé à 32 +/- 19 ans.

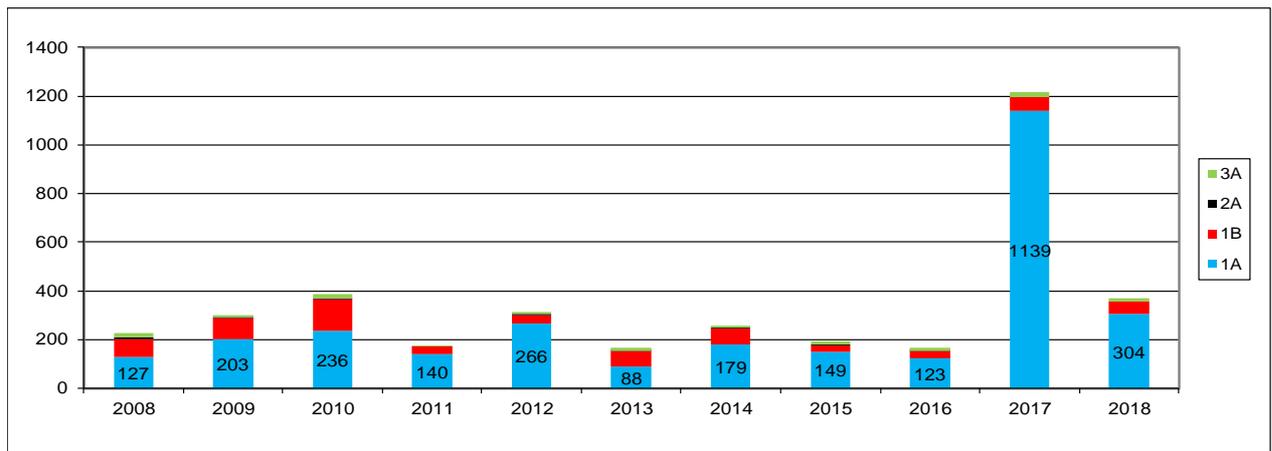


% d'Hommes parmi les infections virémiques



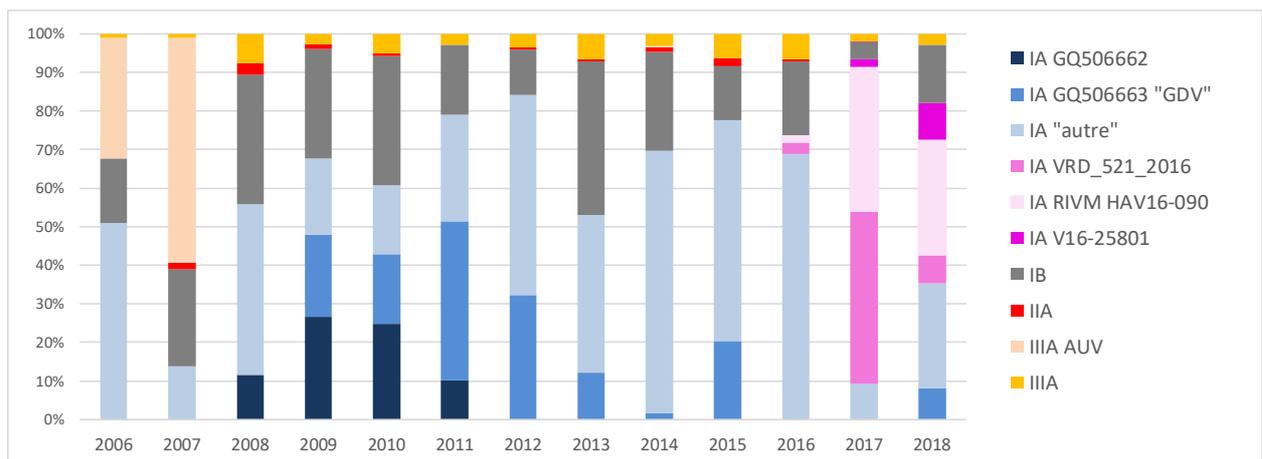
Age moyen des patients virémiques

Comme chaque année depuis 2016, le génotype IA était très largement majoritaire parmi les cas génotypés avec 304 infections (82%), suivi du génotype IB avec 55 infections (15%), et IIIA avec 11 infections (3%).



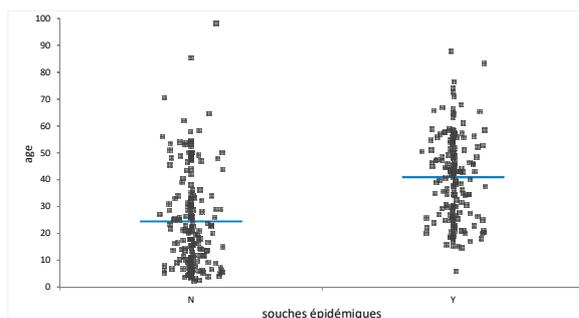
Evolution du nombre de souches par génotypes

Parmi les 370 cas génotypés en 2018, 173 (47%) étaient encore associés à l'une des 3 souches impliquées à l'échelle européenne dans des transmissions au sein de la communauté HSH en 2017 (en rose sur le graphique).

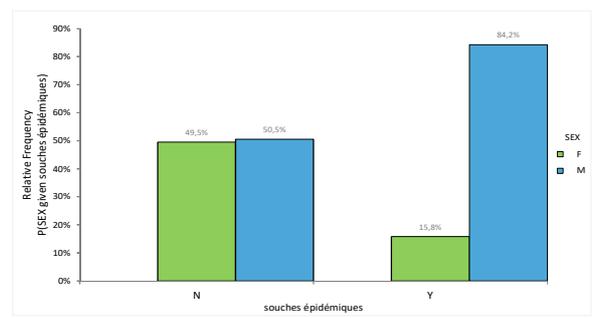


Evolution de la proportion relative des génotypes et souches isolées au CNR

Comme en 2017, les patients infectés par l'une des 3 souches épidémiques en 2018 (n=171) étaient plus souvent des hommes (84.2 vs. 50.5%, $p < 0.0001$) et avaient un âge plus élevé que ceux infectés par des souches non épidémiques (n=188) : 40.9 vs. 24.5 ans ($p < 0.0001$).



Age selon les souches



Sexe selon les souches

Les données cliniques associées aux échantillons adressés au CNR sont le plus souvent partielles. Toutefois un TP <50%, signalant une hépatite aigue sévère, était signalé pour 7 des 370 cas (1.9%).

HEPATITE E

Surveillance nationale dans le cadre du réseau de laboratoires partenaires

Un total de 820 souches étaient disponibles pour cette analyse. Le génotype a été étudié par séquençage pour 820 échantillons ARN VHE positifs. Pour 83 souches, le génotype n'a pas pu être déterminé du fait d'une charge virale trop faible. La classification en génotype et sous-type a été réalisée selon la classification proposée par un groupe d'experts sur la base d'un panel de séquences de référence (Smith et al, J Gen Virol, 2016 ; Nicot Rev Med Virol 2018).

La répartition des génotypes caractérisés était la suivante :

Génotype	1	2	4	3a	3chi	3e	3f	3 lapin	3 Non ss-typé
Nombre en 2018 (%)	2 0.3%	0	7 1%	5 0.7%	303 41.1%	9 1.2%	398 54%	2 0.3%	11 1.5%

Surveillance nationale en collaboration avec l'Etablissement Français du Sang (EFS)

Dans le cadre du dépistage génomique réalisé par l'EFS sur une partie des donneurs de plasma, les échantillons positifs (n=89) ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification et typage des souches.

Les virémies des donneurs allaient de 1,5 à 5.7 log₁₀ UI/ml. La distribution des génotypes retrouvés chez les donneurs virémiques était la suivante :

Génotype	3a	3chi	3f	3 non sous-typé
Nombre en 2018 (%)	1 2%	33 66%	15 30%	1 2%

Pour 39 échantillons, le génotype n'a pas pu être déterminé du fait d'une charge virale trop faible.

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

- Le traitement par ribavirine pendant une durée de 3 mois est désormais recommandé par la société européenne d'étude du foie (EASL, J Hepatol 2019). Lors d'une première étude, nous avons montré

que l'arrêt du traitement alors que le virus était encore excrété dans les selles conduisait systématiquement à une rechute (Abravanel, Clin Infect Dis, 2013). Depuis cette étude, les patients excréant du virus dans les selles après 3 mois de traitement ont vu leur traitement prolongé de 3 mois supplémentaires conduisant à la guérison de 6 sur 7 patients. Les patients rechuteurs sont retraités 6 mois par ribavirine conduisant à l'éradication du virus chez 3 des 4 patients. Ce travail montre l'intérêt du monitoring de l'excrétion du VHE dans les selles lors du traitement de 3 mois par ribavirine afin d'ajuster la durée du traitement (Marion, J Hepatol 2019).

- Il a été rapporté que le Zinc pourrait avoir un effet antiviral in vitro sur le VHE par une action sur la polymérase virale et qu'il pourrait avoir un effet synergique avec la ribavirine. Toutefois, nous avons étudié 2 patients infectés chroniquement par le VHE et avec une réplication persistante du virus sous ribavirine. Chez ces patients, les dosages de zinc intra-érythrocytaires étaient normaux ou élevés suggérant une absence d'efficacité du zinc chez des transplantés immunodéprimés (Marion, Transplant Infect Dis 2019).
- En collaboration avec le réseau de partenaire, une étude multicentrique internationale a inclus 255 transplantés d'organe solide de 30 centres européens afin de préciser l'efficacité de la ribavirine chez les patients infectés chroniquement par le VHE. Le taux de succès thérapeutique était de 81,2%. Une sous-étude virologique a étudié les mutations dans la polymérase virale chez 112 patients qui pourraient avoir un impact sur la réponse au traitement. La fréquence des mutations dans la polymérase était similaire chez les patients en succès thérapeutique (57/82, 69,5%) et chez les patients en échec de traitement 19/30, 63,3%, $p=0.65$). La recherche de mutation dans la polymérase virale avant traitement ne présente pas d'intérêt clinique (manuscrit soumis).

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Le CNR des virus des hépatites à transmission entérique est contacté directement par les ARS/CIRE en cas de cas groupés, avec échange d'informations entre Santé Publique France et CNR. Un retour d'information (nombre de prélèvements reçus, résultats) vers les ARS/CIRE et Santé Publique France est réalisé.

Pour identifier les sources éventuelles à l'origine de cas groupés, le CNR collabore avec l'ANSES (Laboratoire de sécurité des Aliments, unité Virus Eau et Aliments, S Perelle), avec la DGCCRF (Service commun des laboratoires à Montpellier) et avec L'IFREMER (S Leguyader). Des cibles communes pour le typage des souches ont été développées.

La détection de dons de sang positifs pour le VHA ou le VHE par l'Etablissement Français de Sang (EFS) (technologie Grifols) est systématiquement confirmée par le CNR et le génotypage est réalisé.

Le CNR VHA participe au réseau européen de laboratoires animé par le RIVM aux Pays Bas (HAVNet). Le logiciel Bionuméric (base de données de séquences) permet de répondre immédiatement à nos partenaires sur l'éventuelle circulation en France d'une souche isolée dans un autre pays et inversement. L'identification d'épidémies transfrontalières associées à un facteur de risque donné, notamment alimentaire est ainsi possible.

Les alertes européennes issues de l'ECDC font l'objet d'échanges d'informations : Santé Publique France redescend au CNR VHA les données postées sur la plateforme EPIS-FWD (Epidemic Intelligence Information System) ou, pour les alertes alimentaires, le système RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)). Ces données sont le plus souvent relayées par le réseau HAVNet, avec échange de données de séquences. LE CNR VHA a eu 4 requêtes EPIS en 2018, sans identification d'épidémies transfrontalières. Toutefois, une épidémie associée à la consommation de dattes au Danemark était associée à une souche identifiée en France chez 8 patients, sans lien entre eux, dont 4 avaient voyagé au Maroc.

Le CNR VHE participe au réseau européen de surveillance HEVNet en collaboration avec l'ECDC. Un échantillon représentatif des souches circulant en France a été communiqué. Une harmonisation des typages fondée sur l'utilisation des souches de référence proposées par un groupe d'expert (Smith et al 2016) est en cours.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

HEPATITE A

- Hepatitis A immunity in pre-exposure prophylaxis users and HIV-infected MSM before and after an outbreak and an intervention program: Situational analysis and challenge from the field (Robineau et al. Etude en collaboration avec les ARS et Cire Hauts de France et le service de maladies infectieuses de Tourcoing, manuscrit soumis)

Etude rétrospective évaluant l'immunité anti-VHA chez des HSH co-infectés par le VIH et chez les HSH usagers de PrEP avant (2016) et après l'épidémie (2017). Une augmentation de la séroprévalence dans les deux cohortes est observée soit par vaccination, soit par infection passant de 73% à 93% chez les sujets co-infectés VIH avec un taux d'attaque de l'infection de 6% (taux d'attaque particulièrement élevé malgré le taux d'immunisation important), et passant de 48% à 90% chez les usagers de PrEP, avec un taux d'attaque de 9%.

- Hepatitis A outbreak in men who have sex with men in Seine-Maritime district, Normandy, France, 2016-2017. One year of outbreak management. (Le Bourhis-Zaimi, manuscrit soumis)

Evaluation des campagnes de vaccination Hors les Murs, Normandie 2017

- Hépatite A transfusionnelle (abstract soumis au congrès de la SFTS)

Le service de Qualification biologique des dons à l'EFS CPDL identifie un échantillon positif le 7 septembre 2018 pour le VHA, marqueur non obligatoire mais exigé pour le fractionnement du sang. Le don incriminé a été prélevé le 28/08/2018 chez un donneur de 45 ans ayant présenté 5 jours plus tard fièvre et courbatures ayant motivé une information post don. Les produits issus de ce don encore en stock (CGR, PFC sécurisé) ont été détruits. Mais un MCP a été transfusé chez un patient de 66 ans, non immun. L'identité des souches chez receveur et donneur confirme le caractère transfusionnel de cette hépatite A.

HEPATITE E

En collaboration avec le CH de Papeete, une étude de la prévalence des anticorps anti-VHE chez les donneurs de sang de Polynésie associée à un questionnaire sur les facteurs de risques de contamination a été réalisée. La séroprévalence des IgG était de 7,7%. La seroprévalence était associée à l'âge, la consommation d'abat de poulet et de lapin. Inversement, un mode de vie polynésien telle que la consommation de « fafaru » ou la pratique de la pirogue et du surf semblait un facteur protecteur vis-à-vis de l'infection (Dimeglio, PlosOne 2018).

4 Alerte

4.1 Procédure d'alerte

Le CNR et ses correspondants de Santé publique France (Dr J. Figoni) échangent immédiatement sur tout phénomène anormal. Les cas d'hépatite E ne font pas l'objet de déclaration obligatoire.

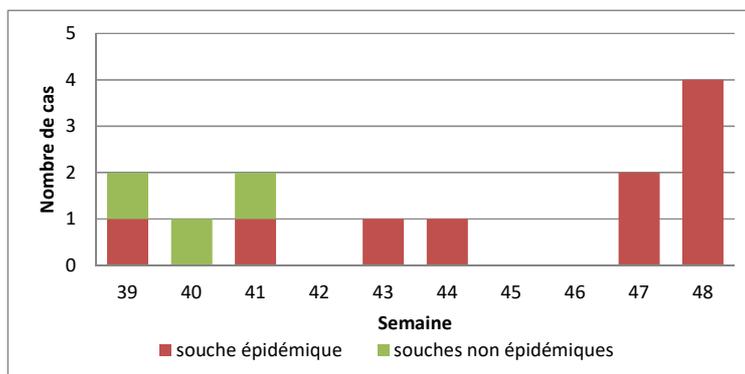
4.2 Détection et investigation des cas groupés et phénomènes anormaux

HEPATITE A

- Investigation de cas groupés à Orléans :

Suite au signalement de 5 cas à Orléans en lien avec la fréquentation d'un bar, le CNR a reçu les sérums des patients concernés ainsi que ceux d'autres hépatites A du département : 13 échantillons chez 12 adultes (9 hommes et 3 femmes) et un enfant ayant été diagnostiqués avec des IgM VHA positives entre le 26/9/18 et le 28/11/18. L'ARN viral était détectable dans l'ensemble des échantillons avec des souches de génotype IA.

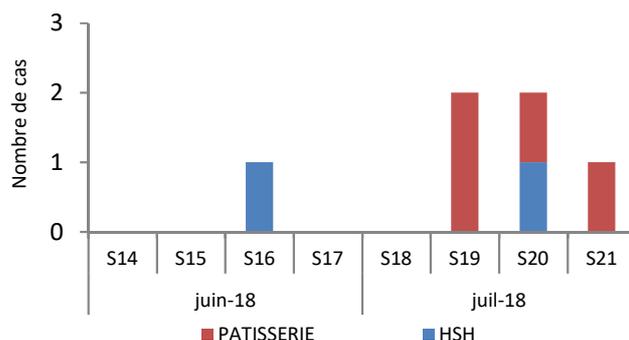
Trois souches uniques sont retrouvées chez 3 patients (2 souches importées et une souche V16-25801), non reliés aux cas groupés, et une souche « épidémique » (RIVM HAV16-090) est retrouvée chez 10 patients, dont le patient index supposé, diagnostiqué en semaine 39. Les cas survenus en semaines 43/44 et 47/48 sont probablement des cas secondaires. Le cas diagnostiqué en semaine 41 pourrait être un cas secondaire ou un cas contaminé antérieurement à la fréquentation du bar.



Distribution des semaines de diagnostic et souches en cause à Orléans (2018)

- Investigation de cas groupés en lien avec une pâtisserie, Le Tholonet (13), Provence Alpes Côte d'Azur

Le CNR a reçu les échantillons de 6 patients âgés de 17 à 55 ans avec des dates de prélèvement allant du 16/04 au 23/05/2018. Une même souche de génotype IA a été identifiée chez les 6 patients, indépendamment de la fréquentation de la pâtisserie. Il s'agit de l'une des trois souches épidémiques isolées en 2017 au sein de la communauté HSH : VRD_521_2016, dite « UK travel to Spain ». Le cas index a un prélèvement antérieur de 3-5 semaines à ceux des cas secondaires, et une charge virale déjà faible au moment du diagnostic. Il est à noter que ce cas a voyagé avec son conjoint et sa fille en Espagne, où cette souche circule encore actuellement de manière importante.



- Investigation de cas groupés possiblement en lien avec des écoles maternelles en Gironde (33) :

Le CNR a reçu les échantillons de 4 patients avec des dates de diagnostic d'hépatite A allant du 28/5 au 16/6/18, chez des sujets âgés de 4 à 22 ans. Une même souche de génotype IB (V18-16428) a été identifiée. Proche génétiquement des souches en provenance du Maroc, cette souche a été retrouvée dans plusieurs pays d'Europe en lien avec un voyage au Maroc ou la consommation de produits en provenance de ce pays (dattes). En 2018, cette souche a été isolée chez 17 sujets, dont donneurs de sang, répartis sur toute la France.

HEPATITE E

Enquêtes lors de suspicion de contamination transfusionnelle

En 2018, le CNR a été sollicité pour réaliser 10 enquêtes avec suspicion de contamination transfusionnelle.

- Patient avec une pathologie onco-hématologique au CHU de Lyon. Le patient était infecté par un virus de génotype 3c. Les 34 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Un donneur était ARN VHE positif (11 800 UI/mL) avec un génotype 3c. Les résultats ont montré une homologie de séquences entre les souches VHE 3c du donneur et du receveur.
- Patient hospitalisé dans le service de médecine interne du CHU de Nice. Le patient était infecté par un virus de génotype 3f. Les 2 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Un donneur était ARN positif (23 400 UI/mL) avec un génotype 3f. Les résultats ont montré une homologie de séquences entre les souches VHE 3f du donneur et du receveur.
- Patient avec une pathologie onco-hématologique au CHU de Lille. Le patient était infecté par un virus de génotype 3c. Les 26 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Un donneur était ARN VHE positif (386 000 UI/mL) avec un génotype 3c. Les

résultats ont montré une homologie de séquences entre les souches VHE 3c du donneur et du receveur.

- Patient avec une pathologie onco-hématologique au CHU de Bordeaux. Le patient était infecté par un virus de génotype 3c. Les 42 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Un donneur était ARN VHE positif (15 400 UI/mL) avec un génotype 3f.
 - Patiente du CHU de Grenoble. Le virus n'a pas pu être typé pour cette patiente du fait de la faible virémie (205 UI/mL). Les 9 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Un donneur était ARN VHE positif (26 900 UI/mL) avec un génotype 3c.
 - Patiente greffée cardiaque du CHU de Bordeaux. La patiente était infectée par un virus de génotype 3f. Les 34 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Deux donneurs étaient ARN VHE positif (29 et 32 UI/mL). La comparaison des souches n'a pas été possible.
 - Patient hospitalisé dans le service d'hépatogastroentérologie du CHU de Bordeaux. Le patient était infecté par un virus de génotype 3f. Les 3 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Les dons étaient tous négatifs.
 - Patient hospitalisé dans le service de réanimation du CH de Dunkerque. Le virus n'a pas pu être typé pour ce patient. Les 11 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Les dons étaient tous négatifs.
 - Patient avec une pathologie cardiaque au CH de Guingamp. Le patient était infecté par un virus de génotype 3f. Les 18 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Les dons étaient tous négatifs.
 - Découvert d'une séropositivité VHE chez une patiente transfusée au CHRU de Nantes avec un MCP provenant de l'EFS IDF. Les 5 donneurs de produits sanguins labiles administrés à la patiente ont été testés en PCR. Les dons étaient tous négatifs.
- Investigation des cas groupés
- En Aout 2018, le laboratoire Oxabio de Cambrai, partenaire du CNR VHE a signalé 2 cas d'hépatite E chez 2 patientes après un voyage en Corse en juillet. Les 2 patientes étaient infectées par un virus de génotype 3f. Les analyses phylogénétiques des 2 souches ont montré une grande homologie de séquence suggérant une source commune de contamination. Des investigations réalisées par la CIRE de Corse, Mr Quiterie Mano, ont montré que les patientes et leurs conjoints avaient tous consommé de la charcuterie Corse achetée dans un supermarché en Corse. Une sérologie VHE a été également réalisée chez les conjoints des patientes en septembre 2018. Les 2 conjoints présentaient une immunité ancienne (IgG positif et IgM négatif).
 - En septembre 2018, le biologiste du CHU de Nantes a signalé à l'ARS du Pays de Loire et à Santé Publique France un grand nombre de cas d'infections par le VHE faisant suspecter une source commune de contamination en Pays de la Loire. L'ARS a interrogé les cas sur leurs risques d'infection. Il a été noté une consommation importante de moules parmi les patients (consommation de charcuterie mais peu de produits « à risque »). Cependant, l'origine diverse des moules consommées et un biais de mémoire des patients n'a pas permis d'établir de lien
-

entre les sujets. Le CNR a analysé 21 échantillons reçus mais plusieurs sous-types différents et sans homologie de séquence ont été retrouvés ne pouvant confirmer une source commune. Des analyses d'Ifremer dans les zones de pêche à pied déclarées par 1 cas se sont avérées négatives, tout comme les analyses des eaux usées autour des habitations de quelques cas rapprochés géographiquement (lieu de résidence). L'une des hypothèses serait que ces cas pourraient être liés aux pluies importantes dans le courant du mois de juillet – août ayant pu conduire à un débordement d'eaux usées dans les zones de culture de moules concernées.

5 Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

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).

Le CNR a rédigé les chapitres sur l'hépatite A et sur l'hépatite E de la nouvelle mouture du Traité de Virologie Médicale paru début 2019.

Le CNR a rédigé la mise à jour 2018 du Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC) pour l'hépatite A et l'hépatite E.

Le CNR a rédigé le chapitre Hepatitis A and E Viruses in Manual of Clinical Microbiology, 12th edition.

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

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/>), créé en 2012 qui comporte tous les rapports d'activité de 2011 jusqu'à 2017, présente les informations récentes 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.

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

- **Activités de conseil aux professionnels de santé** : Les biologistes du CNR VHE sont disponibles de 9h à 19h en semaine et le samedi de 9h jusqu'à 16h pour réceptionner les appels ou les e-mails. Le CNR VHE transmet des informations ou des résultats par mails ou par téléphone environ 2 à 4 fois par jour.
-

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Le CNR VHE a une activité d'expertise auprès de Santé Publique France et des ARS auprès de qui il transmet des informations. Le Pr Jacques Izopet participe au groupe de travail de l'ANSM sur l'évaluation du risque de transmission du VHE par transfusion. Il participe également au groupe HEVNet mis en place par l'ECDC (ECDC meeting 26-27 October 2017, RIVM, Bilthoven ; et 22 mars 2019 ; travaux en cours).

Le CNR VHE a été audité par l'HAS dans le cadre des recommandations publiées en 2017 (actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic et au suivi de l'hépatite E).

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Des séminaires pour les biologistes libéraux ont été réalisés.

6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

HEPATITE A

- L'hépatite A chez les donneurs de sang : Dans la suite de l'étude publiée en 2018 sur la prévalence de l'ARN VHA en période pré-épidémique et épidémique 2015-2017 (Gallian, EuroSurveill 2018), l'évolution de la prévalence de l'ARN VHA en 2018, année post-épidémique, sera montrée.
- Performance des réactifs actuels de dosage des IgG ou anticorps totaux VHA : manuscrit en préparation

HEPATITE E

- Caractérisation du bourgeonnement du VHE dans des cellules hépatiques polarisées
Nous avons étudié le bourgeonnement vectoriel du VHE dans un modèle d'hépatocytes polarisés. Le virus produit au niveau des canalicules biliaires (coté apical de l'hépatocytes) est associé à des lipides et est plus infectieux que le virus excrété dans le sang (coté baso-latéral de l'hépatocytes). Ceci a été observé pour le génotype 1 comme pour le génotype 3 (Capelli, J Virol 2018).
 - Etude de la prévalence des cryoglobulines lors d'infections VHE chez le transplanté
Nous avons étudié la prévalence de cryoglobulinémie chez des transplantés lors de l'infection par le VHE. La prévalence de la cryoglobulinémie était plus élevée chez les patients au stade chronique de l'infection (52,9%) qu'au stade aiguë (36,4%) ou que chez des transplantés non infectés (23,6%). Après élimination du virus grâce au traitement par ribavirine, la prévalence de la cryoglobuline diminue à 20,9%. La fonction rénale des patients avec un cryoglobuline était plus altérée que celle des patients sans cryoglobuline
-

(Marion, Liver Int 2018).

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Equipe du Pr Roque-Afonso

(i) Publication Nationales

1. E Couturier, L Mouna, MJ Letort, D Van Cauteren, AM Roque-Afonso, H De Valk. Dix premières années de surveillance de l'hépatite A par la déclaration obligatoire, France 2006-2015. Bull Epidemiol Hebd. 2018 ; (5) :68-77.
2. L Mouna, E Bouthry, AM Roque-Afonso. Epidémiologie et diagnostic de l'hépatite A; Feuillet de Biologie 2018. N° 344
3. AM Roque-Afonso. Les enjeux de la vaccination contre l'hépatite A. Rev Prat. 2018. Tome 68_N°3 : 291-2.

(ii) Publications internationales

1. M Guillaume, L Mouna, F Coustillères, V Lemée, AM Roque-Afonso, T Mourez, R Lefaucheur. Invasive meningoencephalitis as the first manifestation of hepatitis A. J Viral Hepat, in press.
 2. L Izquierdo, G Mellon, C Buchaillet, C Fac, MP Soutière, C Pallier, A Dulioust, AM Roque-Afonso. Prevalence of hepatitis E virus and reassessment of HIV and other hepatitis virus seroprevalences among French prison inmates. PlosOne, in press
 3. T Enkirch, E Severi, H Vennema, L Thornton, J Dean, ML Borg, AR Ciccaglione, R Bruni, I Christova, SL Ngui, K Balogun, V Němeček, M Kontio, M Takács, A Hettmann, R Korotinska, A Löve, A Avellón, M Muñoz-Chimeno, R de Sousa, D Janta, J Epstein, S Klamer, S W. Aberle, H Holzmann, K Mellou, J Lundberg Ederth, L Sundqvist, AM Roque-Afonso, S Kurečić Filipović, M Poljak, L Vold, K Stene-Johansen, S Midgley, T Kølsten Fischer, M Faber, JJ Wenzel, J Takkinen, K Leitmeyer. Improving preparedness to respond to cross-border hepatitis A outbreaks in the European Union/European Economic Area: towards comparable sequencing of hepatitis A virus. EuroSurveill in press
 4. P Ndumbi, G. S. Freidl, C. Williams, O. Mardh, C. Varela, A. Avellón, I. Friesema, H. Vennema, K. Beebeejaun , S. L. Ngui, M. Edelstein, A. Smith-Palmer, N. Murphy, J. Dean, M. Faber, J. Wenzel, M. Kontio, L. Müller, S. Midgley, L. Sundqvist, J. Ederth, A. Roque-Afonso, E. Couturier, S. Klamer, J. Rebolledo, V. Suin, S. W. Aberle, D. Schmid, R. de Sousa, G. F. Augusto, V. Alfonsi, M. Del Manso, A. Ciccaglione, K. Mellou, C. Hadjichristodoulou, A. Donachie, M. Borg, M. Sočan, M. Poljak, Ettore Severi and The European Hepatitis A outbreak team. Hepatitis A outbreak disproportionately affecting men who have sex with men (MSM) in the European Union and European Economic Area (EU/EEA), June 1st 2016 – May 31st 2017. Eurosurveill. 2018 Aug; 23(33). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.33.1700641
 5. E Bouthry, A Benachi, AJ Vivanti, E Letamendia, C Vauloup-Fellous, AM Roque-Afonso. Mild course of autochthonous Hepatitis E during pregnancy in France. Emerg Infect Dis. 2018 Aug;24(8):1586-1587. doi: 10.3201/eid2408.180105
 6. Gallian P, Barlet V, Mouna L, Gross S, Le Cam S, Ricard C, Wind F, Pouchol E, Fabra C, Flan B, Visse C, Djoudi R, Couturier E, De Valk H, Tiberghien P, Roque-Afonso AM. Hepatitis A: an epidemiological survey in blood donors, France 2015-2017. Eurosurveill. 2018;23(21):pii=1800237. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.21.1800237>
 7. M Kaiser, D Delaune, O Chazouillères, J Blümel, AM Roque-Afonso, S. A. Baylis. A World Health Organization human hepatitis E virus reference strain related to similar strains isolated from rabbits. *Genome Announc*. 2018 Apr 19;6(16). pii: e00292-18. doi: 10.1128/genomeA.00292-18
 8. R Sberro, AM Roque-Afonso, A Vallet-Pichard, B Deau-Fischer, A Portal, ML Chaix, L Hauser, A Beylouné, A Mercadier, J Izopet, C Legendre, S Pol, V Mallet. Transmission of hepatitis E virus with plasma exchange in
-

kidney-transplant recipients: a retrospective cohort study. *Transplantation*. 2018 Mar 20. doi: 10.1097/TP.0000000000002185. [Epub ahead of print

9. Todesco E, Mazzola A, Akhavan S, Abravanel F, Poynard T, Roque-Afonso AM, Peytavin G, Marcelin AG, Calmus Y, Lecuyer L, Guillemain R, Conti F. Chronic Hepatitis E in a heart transplant patient: sofosbuvir and ribavirin regimen not fully effective. *Antivir Ther*. 2018 Mar 5. doi: 10.3851/IMP3227.

(iii) Communications Nationales

1. L Izquierdo, G Mellon, C Fac, MP Soutière, C Pallier, C Buchaillet, A Dulioust, AM Roque-Afonso. Prévalence de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine et les virus des hépatites chez les personnes incarcérées en France. *JFV Paris* 24-25 mars 2018

(iv) Communications Internationales

- L Izquierdo, G Mellon, C Fac, MP Soutière, C Pallier, C Buchaillet, A Dulioust, AM Roque-Afonso. Prevalence of human immunodeficiency virus and hepatitis viruses among French prison inmates. *ECCMID*, Madrid, Spain Apr 2018
- L Mouna, E Boutry, G Decombe, AM Roque-Afonso. Description of hepatitis A confirmed cases, France, 2016 to 2017. *ESCV*, Athens, Greece Sept 2018
- Y. Lambert, P. Rolland, L. Mouna, M. Charron, A. Bernadou, V. Le Gaillard, P. Fabre, AM. Roque-Afonso, S. Vandentorren. Relevance of sex ratio in the early detection of a foodborne hepatitis A outbreak in a context of an epidemic among men who have sex with men, Bordeaux, France, June-July 2017. European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (*ESCAIDE*), Malta, 21-23 Nov. 2018

(v) Conférences sur invitation, séminaires

- 2018, 4 mai. Journées Hépatobiliaires (DPC), Paris : Nouvelles épidémiologie de l'Hépatite A
- 2018, 18 mai. Journée annuelle du groupe vaccination-prévention de la SPLIF, Paris. Point sur l'épidémie européenne d'hépatite A
- 2018, 31 mai, Paris. Actualités et Conséquences Pratiques dans les Hépatites Virales, Paris. Recommandations Vaccinales et Cirrhose
- 2018, 3 oct. Congrès National de la Société Française de Microbiologie, Paris Virus entériques et environnement : focus sur les hépatites A et E
- 2018, 5 oct. Synergies. Aix en Provence. Hépatites A et E
- 2018, 6 déc. GEMHEP. Paris. Hépatite A : formes cliniques
- 2019, 4 Fév. SMIT Hôpital St Antoine. Hépatite E : y pensons-nous suffisamment ?

Equipe du Pr J. Izopet

Publications nationales

1. J. Izopet. HEV et risque de transmission par transfusion. *Annales pharmaceutiques* 2018
 2. O. Marion, J. Izopet, N. Kamar. Hépatite E : Désormais première cause d'hépatite aiguë virale en France. *La Revue du Praticien* 2018
 3. S.Lhomme, F. Abravanel, N. Capelli, O. Marion, H. El Costa, N. Jabrane-Ferrat, Q. Chen, J. Gouilly, É. Champagne, S. Chapuy-Regaud, N. Kamar, J. Izopet. Virus de l'hépatite E : de l'organisme infecté à la réponse cellulaire. *Virologie*, 2018
 4. E Couturier, F Abravanel, J Figoni, D van Cauteren, A Septfons, S Lhomme, J Durand, J Izopet, H De Valk. Surveillance de l'hépatite E en France, 2002-2016, *BEH* 2018
-

Publications internationales

1. H. Dalton, J. Izopet. Transmission and Epidemiology of HEV genotype 3 and 4 infections. Cold Spring Harb Perspect Med 2018.
 2. C. Montpellier, C. Wychowski, IM. Sayed, JC. Meunier, JM. Saliou, M. Ankavay, A. Bull, F. Abravanel, F. Helle, E. Brochot, H. Drobecq, R. Farhat, CM. Aliouat, J. Izopet, P. Meuleman, A. Goffard, J. Dubuisson, L. Cocquerel. Hepatitis E Virus lifecycle and identification of 3 forms of the ORF2 capsid protein. Gastroenterology 2018;154:211-223.
 3. M. Bisseux, J. Colombet, A. Mirand, AM. Roque-Afonso, F. Abravanel, J. Izopet, C. Archimbaud, H. Peigue-Lafeuille, D. Debroas, JL. Bailly, C. Henquell. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: results of a one-year experiment in Central France, 2014-2015. EuroSurveillance 2018;23:7.
 4. N. Kamar, A. Del Bello, J. Izopet. Should persistent hepatitis E virus replication in transplant patients be tolerated? Transplantation 2018;102:e84-e85.
 5. V. Mallet, R. Sberro-Soussan, AM. Roque-Afonso, A. Vallet-Pichard, B. Deau, A. Portal, ML. Chaix, L. Hauser, A. Beylouné, A. Mercadier, J. Izopet, C. Legendre, S. Pol. Transmission of hepatitis E virus with plasma exchange in kidney-transplant recipients: a retrospective cohort study. Transplantation 2018;102:1351-1357.
 6. E. Todesco, A. Mazzola, S. Akhavan, F. Abravanel, T. Poynard, AM. Roque-Afonso, G. Peytavin, AG. Marcelin, Y. Calmus, L. Lecuyer, R. Guillemain, F. Conti. Chronic hepatitis E in a heart transplant patient: sofosbuvir and ribavirin regimen not fully effective. Antiviral Therapy 2018;23:463-465.
 7. X. Yin, D. Ying, S. Lhomme, Z. Tang, C. Walker, NS. Xia, Z. Zheng, Z. Feng. Origin, antigenicity, and function of a secreted form of ORF2 in hepatitis E virus infection. PNAS 2018.115/4773-4778
 8. Marion O, Abravanel F, Del Bello A, Esposito L, Lhomme S, Puissant-Lubrano B, Alric L, Faguer S, Izopet J, Kamar N. Hepatitis E virus-associated cryoglobulinemia in solid-organ-transplant recipients. Liver Int 2018;38:2178-2189
 9. Gouilly J, Chen Q, Siewiera J, Cartron G, Levy C, Dubois M, Al-Daccak R, Izopet J, Jabrane-Ferrat N, El Costa H. Genotype specific pathogenicity of Hepatitis E Virus at the Human Maternal-Fetal Interface. Nat Commun 2018;9:4748.
 10. Abravanel F, Pique J, Couturier E, Nicot F, Dimeglio C, Lhomme S, Chiabrando J, Sauné K, Péron JM, Kamar N, S. Evrard S, H. De Valk H, P. Cintas P, Izopet J. Acute hepatitis E in French patients and neurological manifestations. J Infect 2018;77:220-226.
 11. Charre C, Ramière C, Dumortier J, Abravanel F, Lhomme S, Gincul R, Scholtes C. Chronic genotype 3 hepatitis E in pregnant woman receiving infliximab and azathioprine. Emerg Infect Dis 2018;24:941-943.
 12. Nicot F, Jeanne N, Roulet A, Lefebvre C, Carcenac R, Manno M, Dubois M, Kamar N, Lhomme S, Abravanel F, Izopet J. Diversity of Hepatitis E virus genotype 3. Rev Med Virol 2018;28:e1987.
 13. Dimeglio C, Beau F, Broult J, Gouy P, Izopet J, Lastère S, Abravanel F. Hepatitis E prevalence in French Polynesian blood donors. PLoS One. 2018 Dec 7;13(12):e0208934.
 14. Abravanel F, Lacipière A, Lhomme S, Dubois M, Minier L, Peron JM, Alric L, Kamar N, Izopet J. Performance of a commercial assay for detecting and quantifying HEV RNA in faeces. J Clin Virol. 2018 Dec;109:1-5
-

15. Marion O, Abravanel F, Del Bello A, Esposito L, Lhomme S, Puissant-Lubrano B, Alric L, Faguer S, Izopet J, Kamar N. Hepatitis E virus-associated cryoglobulinemia in solid-organ-transplant recipients. *Liver Int* 2018;38:2178-2189
16. Marion O, Abravanel F, Izopet J, Kamar N. Failure to respond to ribavirin despite elevated intra-erythrocyte zinc level in transplant-patients with chronic hepatitis E virus infection. *Transpl Infect Dis*. 2019 Jan 21:e13050.
17. Marion O, Capelli N, Lhomme S, Dubois M, Pucelle M, Abravanel F, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E virus genotype 3 and capsid protein in the blood and urine of immunocompromised patients. *J Infect*. 2019 Mar;78(3):232-240.
18. Marion O, Lhomme S, Abravanel F, Izopet J, Kamar N. Should 12 or 24 weeks post-ribavirin follow-up be considered to define sustained virological response in transplant-patients treated for chronic hepatitis E virus infection? *Transpl Infect Dis*. 2019 Mar 12:e13065.
19. Abravanel F, Goutagny N, Joffray R, Eichenlaub E, Baron S, Aversenq A, Bourg S, Mercier L, Larue Triolet A, Poirault D, Loubet M, Daniel S, Luciani F, Pothion C, Tourneur C, Dugua JM, Lhomme S, Izopet J. Performance characteristics of the VIDAS® ANTI-HEV IgM and IgG assays. *J Clin Virol*. 2019 Mar;112:10-14
20. Marion O, Lhomme S, Del Bello A, Abravanel F, Esposito L, Hébral AL, Lavayssière L, Cointault O, Ribes D, Izopet J, Kamar N. Monitoring hepatitis E virus fecal shedding to optimize ribavirin treatment duration in chronically infected transplant patients. *J Hepatol*. 2019 Jan;70(1):206-209.
21. Capelli N, Marion O, Dubois M, Allart S, Bertrand-Michel J, Lhomme S, Abravanel F, Izopet J, Chapuy-Regaud S. Vectorial Release of Hepatitis E Virus in Polarized Human Hepatocytes. *J Virol*. 2019 Feb 5;93(4).

Communications nationales

1. S. Lhomme. Biomarker days. Biomarqueurs-hépatite E. Montpellier (2018)

Communications internationales

1. Izopet J, Treatment for HEV infections. European Society for Clinical Virology, Hepatitis Workshop, Copenhagen, Denmark, 2018.
 2. Izopet J, Hepatitis E & new serologic assays, Hepatitis E Advisory Board Meeting, Munich, Germany, 2018.
 3. Izopet J, Diversity and replication of HEV, 16th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Global Hepatitis Summit, Toronto, Canada, 2018.
 4. Izopet J, HEV infection in Europe, 21st European Society for Clinical Virology Annual Meeting, Athènes, Greece, 2018.
 5. Izopet J, HCV and HEV infections in hemodialysis, Colloque Romand de Néphrologie, Genève, Switzerland, 2018.
 6. Abravanel F, Hepatitis E, Casablanca, Maroc, 2018.
 7. Lhomme S, Hepatitis E virus infection in immunocompromised patients, 4th International congress of Viral Infection in Immunocompromised Patients, Varese, Italy, 2018.
 8. Izopet J, When and how to screen for HEV infection? The International Liver Congress, Wien, Austria, 2019.
-

9. Izopet J, Transmission and pathogenesis of HEV infection, European Society of Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition, Monothematic Conference, Florence, Italy, 2019.
10. Izopet J, Chair HEV Virology & Immunology, 1st Essen Hepatitis Symposium, Essen, Germany, 2019.

Livres

1. Izopet J, Roque-Afonso AM. Virus de l'hépatite E (HEV) – Rémic 6.1 - Référentiel en microbiologie médicale. Société Française de Microbiologie – 2018
2. Roque-Afonso AM, Izopet J. Virus de l'hépatite A. REMIC 6.1. Référentiel en microbiologie médicale. Société Française de Microbiologie – 2018
3. Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Abravanel F, Izopet J. Virus de l'Hépatite E - Traité de Virologie Médicale. – Editions ESTEM – 2019
4. Izopet J, Kamar N. Hepatitis A and E viruses – 12th Edition of Manual of Clinical Microbiology– edited by KC Carroll and M. Pfaller - ASM Press – 2018

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

IFREMER

- Les CNR VHA et VHE collaborent avec Soisick LEGUYADER, pour ce qui touche la détection du VHA et du VHE dans les coquillages et les effluents et les enquêtes épidémiologiques autour de cas groupés impliquant des coquillages: échanges de souches, de techniques (séquençage).

ANSES/Laboratoire de sécurité des aliments

- Les CNR VHA et VHE collaborent avec Sylvie Pérelle, ANSES, pour ce qui touche 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.
- Les CNR VHA et VHE collaborent avec Nicole Pavio, ANSES Maisons-Alfort, dans le cadre d'enquêtes alimentaires et dans le cadre du réseau CoVetLab.

8 Programme d'activité pour les années suivantes

HEPATITE A

- Analyse et publication de la description des formes cliniques observées lors de l'épidémie 2017, comparaison aux années 2016 et 2018
 - Développement du séquençage du génome entier par NGS
-

HEPATITE E

○ **Evaluation des techniques sérologiques et moléculaires proposées par les industriels**

Compte tenu de la fréquence et de l'impact en santé publique désormais reconnus des infections par le VHE dans les pays industrialisés dont la France, de nombreuses firmes développent des tests d'immunoanalyse et des tests moléculaires pour la détection et la quantification du VHE. Ces nouveaux dispositifs présentent de nouvelles caractéristiques en termes d'automatisation ou de miniaturisation.

○ **Etude de la présence du VHE dans l'environnement**

L'ARN du VHE a été détecté dans les eaux usées, dans de l'eau de rivière, et dans les coquillages. Nous ne disposons pas de données quantitatives et le caractère infectieux du matériel détecté n'a pas été déterminé. Une étude nationale suggère que la transmission hydrique du VHE est probable en France (Mansuy, Hepatology 2016). Cette source de transmission a d'ailleurs été récemment à l'origine de cas groupés, dont un fatal, dans le Cantal. Le VHE a été également détecté par des techniques moléculaires dans des eaux usées du centre de la France (M. Bisseux, Eurosurveillance 2018). Cependant, la relation entre la quantification génomique et l'infectiosité n'a pas été étudiée. Nous souhaitons mettre en place un travail dans la région Occitanie, région de forte endémie pour le VHE, mais qui se caractérise par une grande hétérogénéité de la séoprévalence des IgG dans la population générale en fonction des départements (Mansuy, Eurosurveillance 2015). D'une manière générale, nous pensons que cette thématique pourra faire l'objet d'une collaboration avec le CNR des virus entériques et le laboratoire de l'ANSES tant sur le plan méthodologique que technologique.

○ **Développement de méthodes spécialisées**

En biologie moléculaire, ce volet concernera surtout les protocoles de séquençage sur les plateformes haut débit de 2^{ème} génération (Illumina) ou 3^{ème} génération (Pacific Biosciences/Roche et Oxford nanopore) ainsi que le développement de pipelines bioinformatiques.

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.

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 Santé Publique France 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

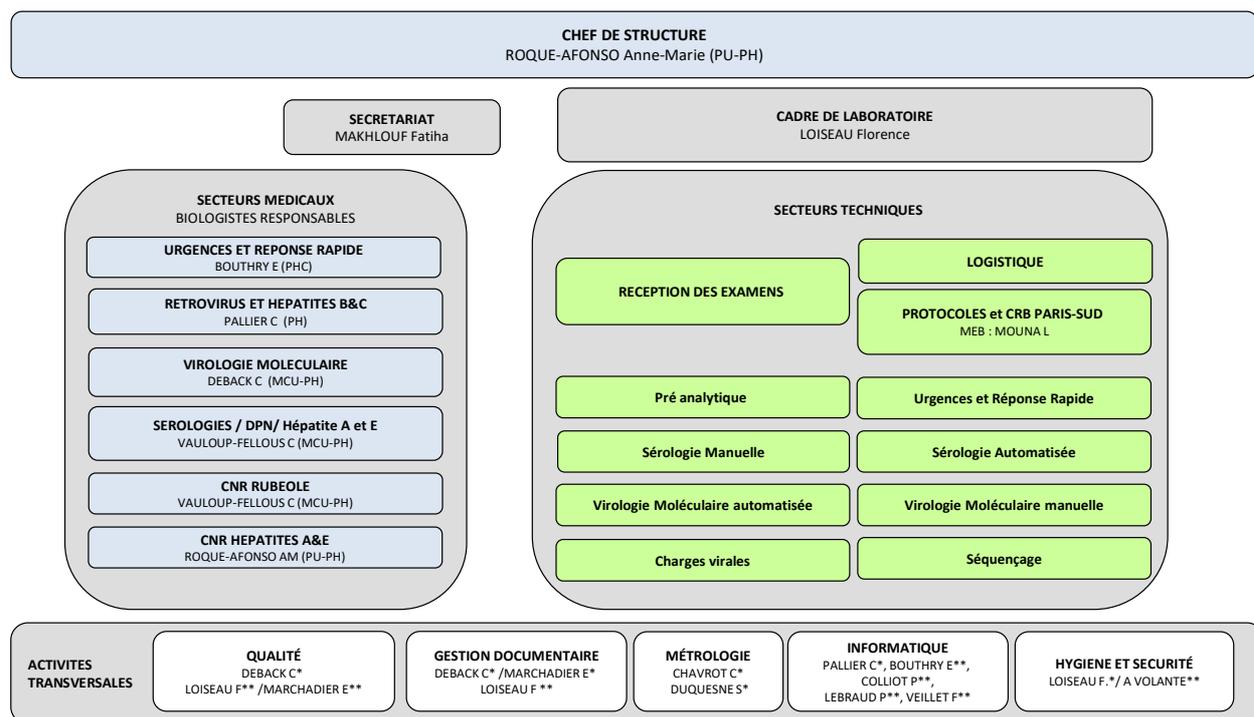
Créé en 2002, le CNR des virus des hépatites à transmission entérique a été renouvelé en 2016 sous la direction du Pr Izopet en charge de l'hépatite E (Toulouse) en association avec le Pr Roque-Afonso en charge de l'hépatite A (Villejuif). L'activité du CNR est intégrée aux deux laboratoires de Virologie.

CNR VHA Laboratoire Associé –Villejuif

Personnels :

Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Anne-Marie Roque-Afonso	0.2	Médecin Biologiste	PU-PH / Chef de service	APHP / Université Paris Sud
Lina Mouna	0.2	PhD	Ingénieur	APHP
Eric Marchadier	1	Technicien		APHP

Organigramme fonctionnel du laboratoire :



*Titulaire ; **Suppléant

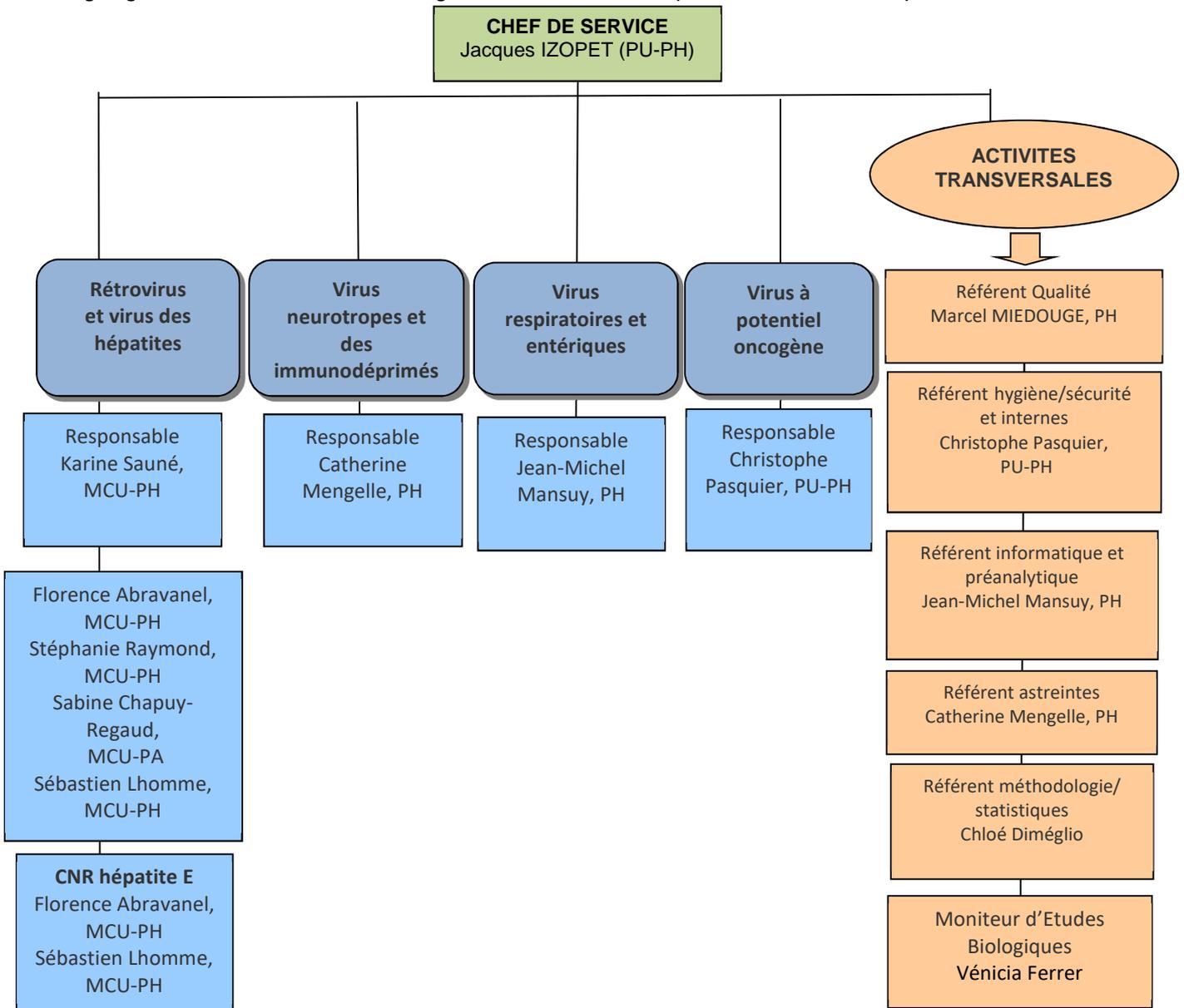
CNR VHE: Pr Izopet, Toulouse

L'équipe dédiée au CNR à Toulouse est constituée de 3 biologistes et de 2 ingénieurs :

Personnels :

Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Jacques Izopet	0.2	Biologiste	PU-PH/ Chef de service	CHU Toulouse / Université Toulouse
Florence Abravanel	0.2	Biologiste	MCU-PH	CHU Toulouse / Université Toulouse
Sébastien Lhomme	0.2	Biologiste	MCU-PH	CHU Toulouse / Université Toulouse
Martine Dubois	0.2	Ingénieur		CHU Toulouse
Chloé Diméglio	0.8	Ingénieur	Biostatisticienne	CHU Toulouse

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



Locaux et équipements

HEPATITE A

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

Le laboratoire de virologie (500 m2) 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, dont ceux du Centre de Ressources Biologiques.

Plan du service de virologie de l'hôpital Paul Brousse (RCH):



Principaux équipements

- Congélateurs et réfrigérateurs reliés à une centrale de surveillance des températures (JRI)
- Gestionnaire de microplaques ELISA (Etimax)
- Automates d'immunoanalyse : Vidas3 (Biomérieux), Liaison XL (Diasorin), Cobas e6000 (Roche)
- Automates d'extraction d'acides nucléiques : 3 QiaSymphony (Qiagen), 2 EasyMag (Biomérieux),
- Appareils de PCR en temps réel (2 7500, 2 VIIA7, 4 RotorGeneQ, 2 m2000rt) et thermocycleurs conventionnels
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : séquenceur conventionnel ABI 3130 16 capillaires (Applied Biosystems) et NGS (MiSeq), mutualisés avec la plateforme de génétique des tumeurs (labellisée INCA)
- 1 ultracentrifugeuse (dans le L3)

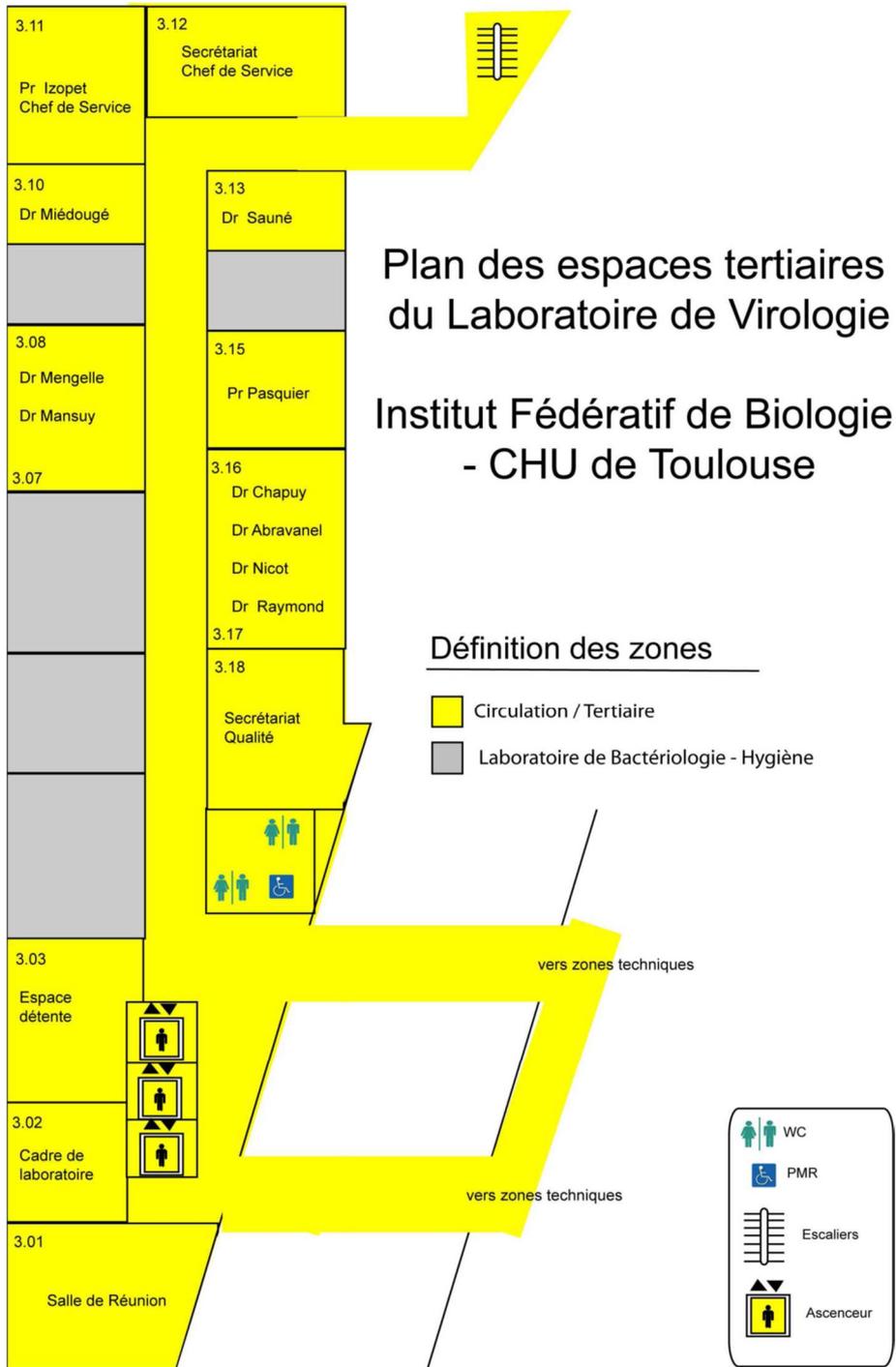
HEPATITE E

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

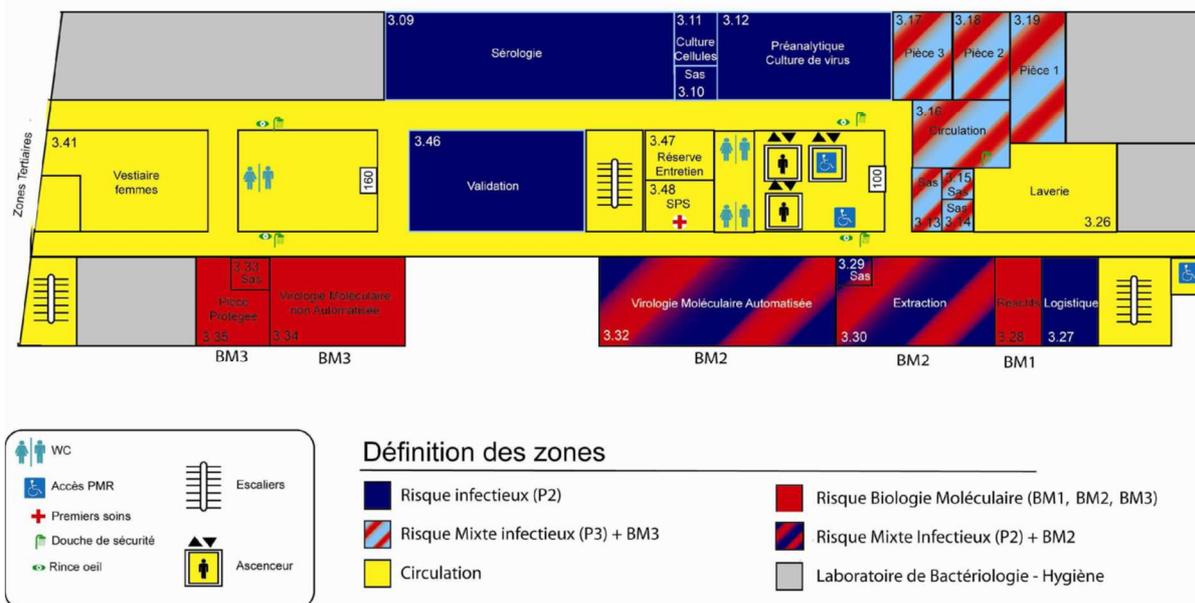
Le CNR hépatite E est intégré au laboratoire de virologie appartenant au plateau technique d'infectiologie à l'Institut Fédératif de Biologie (IFB), sur le site de Purpan du LBM du CHU de Toulouse.

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 : MagnaPure 96
- Thermocycleurs 9700
- Appareils de PCR en temps réel (5 Light Cycler 2, 4 Light Cycler 480)
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : séquenceur conventionnel ABI 3130 16 capillaires (Applied Biosystems) et séquenceurs NGS (Illumina, Life Technologies)
- Gestionnaire de microplaques ELISA
- Système Luminex
- Laboratoire de sécurité P3

Le laboratoire dispose d'un accès direct à différents plateaux techniques (Inserm U1043/CNRS 5282) :

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

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

HEPATITE A, Laboratoire de virologie CHU Paul Brousse, 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.

Les techniques réalisées exclusivement dans le cadre du CNR (Avidité des IgG VHA, Charge virale VHA et géotypage par séquençage) seront progressivement accréditées dans les délais requis selon la gestion de portée flexible.

HEPATITE E, Laboratoire de Virologie du CHU Purpan, 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 98 % des examens virologiques incluant en particulier les techniques sérologiques (IgM et IgG anti-VHE) 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.

1.3.1 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, géotypage du VHE.

ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR

2.1 Liste des techniques de référence

HEPATITE A

Tests Sérologiques

- Détection et quantification des anticorps totaux (ECLIA Cobas Roche et ELISA Diasorin) et détection des IgM (Vidas HAV IgM, BioMérieux et ELISA DiaSorin) – **techniques accréditées**
- Avidité des IgG VHA (Desbois, J Clin Microbiol 2004 ; Roque-Afonso, Clin Infect Dis 2006).

Détection et quantification du génome viral

- RT-PCR en temps réel ciblant la région 5'NC pour le screening (HAV realStar, Altona Diagnostics)

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

- Lignée fibroblastiques FRh-K4. La souche cytopathique HM175-18f et plusieurs souches cliniques sont cultivables sur ce système.
- .

HEPATITE E

Les techniques sérologiques et les techniques de quantification et de typage de l'ARN HEV sont accréditées COFRAC selon la norme ISO 15189.

Tests Sérologiques

- Test ELISA de détection des anticorps VHE ELISA IgM et IgG 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).
- Test ELISA sandwich permettant la détection de l'antigène de capsid du VHE (Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co ; China).

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).
- RT-PCR en temps réel RealStar HEV RNA version 2 d'Altona

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, Nicot, Review Med Virol 2018)
- 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 ; Lhomme, Antimicrobiol Agent and chemother 2015)

Techniques de culture cellulaire

Nous disposons des lignées hépatocytaires PLC/PRF-5, HepG2/C3A et de la lignée pulmonaire A549. Plusieurs souches cliniques de génotypes 1, 3f et 3c ont été adaptées sur ces systèmes.

1.1 Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence :

HEPATITE A

Le CNR possède une collection clinique de plus de 500 sérums ou selles contenant de l'ARN VHA dont la souche a été typée ainsi qu'une collection de surnageants de culture de souches cliniques. Il détient également une collection de sérums présentant des IgM anti-VHA d'activation polyclonale (ARN négatif et avidité des IgG >70%)

Ces échantillons sont conservés au sein du Centre de Ressources Biologiques Paris Sud (numéro BRIF : BB-0033-00089), certifié AFNOR selon la norme NF S96-900). Dans sa charte, il garantit la qualité, la traçabilité de ces ressources biologiques et le respect de la réglementation en vigueur. <http://maladiesrares-paris-sud.aphp.fr/centre-de-ressources-biologiques/>

HEPATITE E

- Collection clinique de plus de 1000 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 (certifié AFNOR selon la norme NF S96-900).
- Collection de surnageants de culture de souches cliniques (1, 3f et 3c).
- Banque de séquences accessibles dans GenBank

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

Hépatite A

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 cytolyse 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 cytolyse

Hépatite E

Les performances des trousse de détection des IgM anti-VHE (Legrand-Abravanel Clin Vaccine Immunol, 2009 ; Abravanel J Clin Virol, 2013 ; Abravanel J Clin Virol, 2015) et de l'ARN VHE (Abravanel J Clin Microbiol 2012 ; Abravanel J Clin Microbiol 2013) ayant fait l'objet de plusieurs évaluations par le CNR, un algorithme diagnostique des infections par le VHE a été proposé dès 2013 (Kamar Clin Microbiol Rev 2014). Cet algorithme a permis d'accroître de manière substantielle le nombre d'infections à VHE répertoriées en France.

