

DOSSIER DE CANDIDATURE

**Centre National de Référence
Virus des hépatites à transmission entérique
Hépatites A et E**

Mandature 2023-2027

SOMMAIRE

1. NOTE DE PRESENTATION ET ENGAGEMENTS

- 1.1 Courrier officiel d'acte de candidature
- 1.2 Présentation synthétique
- 1.3 Déclaration publique d'intérêts

2. DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE

- 2.1 Organisation proposée pour répondre au cahier des charges
- 2.2 Moyens du laboratoire et du laboratoire associé affectés au CNR
- 2.3 Descriptif des thématiques de recherche du laboratoire et du laboratoire associé dans le domaine d'expertise du CNR
- 2.4 Capacités techniques du laboratoire et du laboratoire associé

3. ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

- 3.1 Activités au titre de l'expertise microbiologique
- 3.2 Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé
- 3.3 Contribution à la surveillance épidémiologique
- 3.4 Contribution à l'alerte

4. LISTE DES PUBLICATIONS

- 4.1 Publications nationales
- 4.2 Publications internationales
- 4.3 Communications nationales
- 4.4 Communications internationales
- 4.5 Conférences sur invitations
- 4.6 Partenariats ou collaborations avec des structures ou instances nationales ou internationales

5. DESCRIPTION DES PROCESSUS QUALITE ET GARANTIES MISES EN ŒUVRE AU SEIN DU LABORATOIRE

6. DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

7. PROPOSITION DE PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL POUR LA PERIODE 2023-2027

- 7.1 Activités d'expertise
- 7.2 Activités de conseil, formation et information
- 7.3 Contribution à la surveillance épidémiologique
- 7.4 Contribution à l'alerte

8 ANNEXES

- 8.1 Annexe 1 : courriers officiels de candidature
- 8.2 Annexe 2 : DPI des responsables scientifiques des laboratoires candidats
- 8.3 Annexe 3 : CV des responsables scientifiques des laboratoires candidats

1. NOTE DE PRESENTATION ET ENGAGEMENTS

1.1 Courrier officiel d'acte de candidature

Au cours de la précédente mandature (2017-2022), le CNR des virus des hépatites à transmission entérique a associé le laboratoire de virologie de l'Hôpital Paul Brousse Hôpitaux Universitaires Paris-Sud (HUPS) à Villejuif (Pr Anne-Marie Roque-Afonso), en charge de l'hépatite A, et le laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse (Pr Jacques Izopet), en charge de l'hépatite E et de la coordination du CNR.

Pour la prochaine mandature (2023-2027), le Pr Anne-Marie Roque-Afonso et le Pr Jacques Izopet font acte de candidature avec la même répartition des activités en cohérence avec leur compétence et leur expérience. La coordination du CNR sera assurée par le Pr Jacques Izopet.

Les courriers officiels de candidature figurent en annexe 1.

1.2 Présentation synthétique : état de la question scientifique et enjeux de santé publique

- **Hépatite E :**

Le virus de l'hépatite E (VHE) est un petit virus à ARN transmis principalement par voie entérique. Malgré des progrès importants réalisés ces dernières années, de nombreuses facettes de l'infection par le VHE restent encore méconnues. On sait à présent que ce virus est largement répandu à l'échelle mondiale et qu'il est endémique dans de nombreux pays industrialisés, notamment en Europe et en France où la séroprévalence dans la population générale est supérieure à 20 % et augmente avec l'âge.

Dans les pays en développement, en Afrique et en Asie, l'infection liée aux génotypes 1 et 2 se transmet de manière interhumaine par l'ingestion d'eau contaminée. Dans ces pays, où surviennent régulièrement de grandes épidémies, le nombre de cas annuels est estimé à plus de 20 millions et le nombre de décès à plus de 70 000. La mortalité est particulièrement élevée chez la femme enceinte probablement en lien avec une réplication accrue des génotypes 1 et 2 au niveau placentaire.

Dans les pays industrialisés, l'infection est à l'origine de cas sporadiques liés aux génotypes 3 et 4 transmis à partir d'un large réservoir porcin. Au-delà de la transmission par consommation de viande insuffisamment cuite, la contamination à partir de l'environnement est probable mais elle reste très mal caractérisée. La contamination à partir de produits sanguins labiles pose également un problème de sécurité sanitaire et différentes stratégies de dépistage génomique ont été mises en place en Europe.

La majorité des infections par le VHE sont asymptomatiques. Cependant, les personnes ayant une maladie chronique du foie peuvent présenter une hépatite fulminante et les personnes immunodéprimées développent dans environ 60 % des cas une hépatite chronique pouvant conduire rapidement à une cirrhose. Enfin, des manifestations extra-hépatiques rénales et neurologiques ont été identifiées.

Sur le plan fondamental, la mise au point de systèmes cellulaires robustes et différents modèles animaux ont permis de progresser dans la connaissance du cycle viral, le tropisme tissulaire, et la pathogénèse. Le concept tout à fait nouveau de virus quasi-enveloppé, virus nu entouré d'une bicouche lipidique sans péplomères (protéines codées par le génome viral), proposé initialement pour le VHA (Feng et al, Nature 2013), s'applique également au VHE. Cette caractéristique permet au virus d'échapper à la réponse humorale neutralisante et explique, au moins en partie, un tropisme viral beaucoup plus étendu que ce que l'on pensait jusqu'à présent. L'insertion de fragments de gènes humains dans une région particulière du génome (région codant un domaine riche en proline) contribue probablement à l'adaptation du virus à son hôte. La taille réelle du réservoir animal et les mécanismes de franchissement de la barrière d'espèce restent mal connus. Par exemple, la fréquence des infections humaines impliquant des souches VHE de rat reste à préciser. La classification des souches est en constante évolution et le séquençage de génomes complets du VHE a permis une

actualisation récente de la taxonomie qui distingue au sein de la famille des *Hepeviridae*, 2 sous-familles, celle des *Orthohepevirinae* et celle des *Parahepevirinae*. La sous-famille *Orthohepevirinae* comporte 4 genres (*Paslahepevirus*, *Rocahepevirus*, *Avihepevirus* et *Chirohepevirus*) et celle des *Parahepevirinae* comporte un seul genre (*Piscihepevirus*). Seuls les genres *Paslahepevirus*, comportant 2 espèces (*P. balayani* et *P. alci*), et *Rocahepevirus*, comportant également 2 espèces (*R. ratti* et *R. eothonomi*), contiennent des souches transmissibles à l'homme.

Sur le plan diagnostique, les tests sérologiques et moléculaires ont vu leurs performances améliorées mais des différences notables existent entre les différentes méthodes et des efforts de standardisation grâce à des panels de référence sont nécessaires.

La prise en charge thérapeutique des hépatites E chroniques est désormais mieux codifiée (EASL Journal of Hepatology 2018). Elle implique une réduction de l'immunosuppression et, en cas d'échec, un traitement de courte durée par ribavirine à dose adaptée en fonction du poids. Cependant, 20 % des patients présentent un échec à la ribavirine, y compris après un ou plusieurs traitements prolongés. La découverte de nouveaux antiviraux actifs sur le VHE constitue un enjeu important.

Au-delà des mesures préventives non spécifiques intégrant les données épidémiologiques les plus récentes, un vaccin fondé sur la protéine de capside a été développé. L'efficacité et la tolérance ont été démontrées (Zhu et al, Lancet 2010 ; Zhang et al, New England J Med 2015) mais la disponibilité du vaccin est restreinte à la Chine. Les stratégies d'utilisation de ce vaccin aussi bien dans les pays en développement que dans les pays industrialisés ne sont pas à ce jour définies.

Les principales contributions de l'équipe du Pr Jacques Izopet, fondées sur l'optimisation des techniques virologiques depuis une quinzaine d'années, concernent la transmission du virus, la physiopathologie, et la thérapeutique de l'infection à VHE. Les résultats obtenus sont le fruit d'un continuum entre l'activité hospitalière, l'activité CNR à partir de 2012 et l'activité de recherche (INSERM UMR1291 / CNRS UMR5051) :

- Démonstration du caractère autochtone de la transmission du VHE en France à partir du réservoir porcin (Mansuy J Med Virol 2004 ; Mansuy J Clin Microbiol 2004)
- Caractérisation de l'hépatite E chronique chez l'immunodéprimé (Kamar New England J Med 2008)
- Démonstration de l'activité antivirale de la ribavirine (Kamar New England J Med 2014)
- Caractérisation de la réplication du VHE dans le tractus digestif (Marion Gut 2019)

De nombreuses revues et chapitres de livres ont été rédigés.

- **Hépatite A**

Le virus de l'hépatite A (VHA) reste la cause la plus fréquente d'hépatite virale aiguë dans le monde. Selon des estimations de 2005, il serait responsable de 126 millions d'infections chaque année dont 30 à 35000 décès.

Excrété dans les selles des sujets infectés et très résistant dans le milieu extérieur, il est transmis par voie féco-orale directe, inter-humaine, ou indirecte par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par des matières fécales ou par un préparateur infecté. Dans les pays les plus pauvres, le VHA affecte essentiellement les jeunes enfants (<5 ans) sans produire de symptômes. Ailleurs, l'amélioration des conditions d'hygiène entraîne une baisse de la séroprévalence chez les enfants et adolescents et la modification du profil épidémiologique : la contamination survient chez des sujets plus âgés, les infections symptomatiques sont plus fréquentes et plus sévères et le risque d'épidémies d'envergure s'accroît dans des populations qui n'ont jamais rencontré le virus et qui ne sont pas vaccinées. Ainsi, en France, 74% des sujets de 6 à 49 ans ne sont pas immunisés, et plus de la moitié de la population n'est pas immunisée à l'âge de 50 ans. Une baisse régulière de l'incidence était rapportée jusqu'en 2016 par le système de déclaration obligatoire, mais l'impact médico-économique de cette infection (hospitalisations, arrêts de travail) est peu connu en France.

La résolution de l'infection s'accompagne de la mise en place d'une immunité durable qui protège des réinfections. La mortalité globale est estimée entre 0,2% et 0,4% des cas symptomatiques mais elle pourrait atteindre 2% après 40 ans. Des facteurs d'hôte tels que l'âge, une pathologie hépatique sous-jacente ou des polymorphismes du récepteur viral ont été impliqués dans la physiopathologie de ces hépatites fulminantes. Des formes prolongées ou à rechute sont également décrites. Une réplication virale persistante associée au recyclage entéro-hépatique, pourrait contribuer à ces formes prolongées, malgré la mise en place d'une réponse immunitaire. Le traitement reste symptomatique.

Le VHA est un virus à ARN de la famille des *Picornaviridae*, où il occupe une place à part liée à son cycle viral non lytique, ses interactions spécifiques avec la cellule hôte et sa nature quasi-enveloppée dans le sang circulant, sa capsid virale « lisse » qui le rapproche des virus picorna-like des insectes, ainsi que sa très grande stabilité antigénique et génétique. Six génotypes sont décrits dont les cinq génotypes I, II et III, divisés en sous-types A et B, infectent l'homme. L'analyse phylogénétique des séquences virales apporte des précisions en termes de « souches ». Dans les pays d'endémie élevée, la diversité génétique des souches est faible, l'endémicité est maintenue par transmission interhumaine et contamination de l'environnement. L'analyse phylogénétique permet ainsi d'identifier ou suggérer l'origine géographique d'une souche donnée. A l'inverse, la diversité des souches isolées en Europe est importante reflétant leur introduction le plus souvent par des voyageurs, mais également par des aliments importés produits en zone d'endémie. L'identification des cas associés à ces transmissions alimentaires constitue un enjeu européen.

Le diagnostic de l'infection aiguë repose sur la positivité des IgM, qui sont des tests robustes. Toutefois, quand ils sont prescrits en l'absence de cytolysé hépatique ou de contexte épidémiologique, leur valeur prédictive positive est faible ; ainsi plus de 25% des IgM positives ne sont pas des infections aiguës mais correspondent le à des activations polyclonales du système immunitaire ou plus rarement à des faux positifs ; des tests complémentaires (ARN VHA et avidité des IgG) permettent alors d'écarter le diagnostic. L'immunisation antérieure est déterminée par la détection d'IgG ou d'anticorps totaux. Ces tests ne doivent pas produire de faux positifs, pour permettre la vaccination des sujets non immuns. Des vaccins efficaces existent depuis les années 90. Les vaccins inactivés, administrables après l'âge de 1 an, sont les plus employés, et sont fortement immunogènes avec une séroconversion de 98-100% dès la 1^{ère} dose chez l'immunocompétent. En raison de la longue phase d'incubation (2 à 6 semaines), ces vaccins sont également utilisables en prophylaxie post-exposition.

1.3 Déclaration publique d'intérêts

Les déclarations publiques d'intérêts actualisées du Pr Jacques Izopet et du Pr Anne-Marie Roque-Afonso figurent sur le site <http://dpi.santepubliquefrance.fr> et en Annexe 2.

2. DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE

2.1 Organisation proposée pour répondre au cahier des charges

Le laboratoire du CHU de Toulouse (Pr Jacques Izopet) sera en charge de l'activité hépatite E et le laboratoire du groupe hospitalier HUPS, à Villejuif (Pr Anne-Marie Roque-Afonso) sera en charge de l'activité hépatite A. La coordination sera assurée par le Pr Izopet. Les compétences des deux laboratoires pour le VHE et le VHA sont complémentaires et permettent de répondre avec efficacité aux missions d'expertise, de conseil et d'alerte. Pour la mission de surveillance, les deux laboratoires s'engagent à renforcer la synergie sur les aspects logistiques, technologiques et scientifiques. Les évolutions prévues pour la prochaine mandature sont les suivantes :

- Mise en commun du réseau de laboratoires avec partage des mêmes correspondants pour les hôpitaux universitaires, les hôpitaux généraux et les laboratoires privés afin de faciliter le transfert des souches et des informations. Une animation commune VHE/VHA pour ce réseau avec des réunions annuelles est également prévue.
- Organisation en commun de dossiers cliniques pour les laboratoires partenaires concernant le VHE et le VHA.
- Utilisation pour le VHE et le VHA de la plateforme de séquençage haut débit et des compétences bio informatiques du laboratoire de virologie du CHU de Toulouse.
- Conception de projets communs notamment avec le CNR des virus des gastroentérites et le CNR Entérovirus dans le domaine de l'étude des virus de l'environnement, à l'image de ce qui a été réalisé pour le SARS-CoV-2 lors de la crise sanitaire.

Expérience du laboratoire de virologie du CHU de Toulouse dans le domaine de l'hépatite E

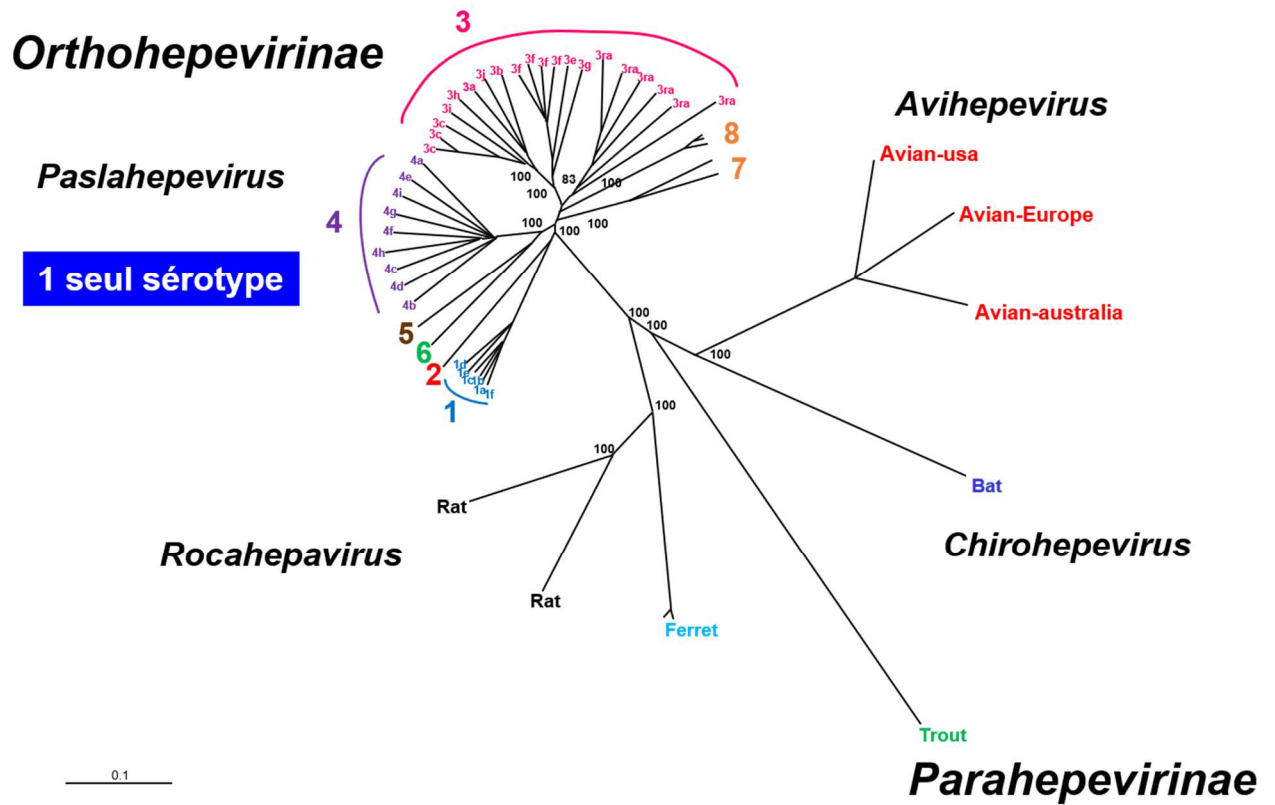
Transmission du VHE :

- Première description d'une série de cas autochtones d'hépatite E en France grâce au développement d'une technique de PCR en temps réel permettant de pallier aux limites des tests sérologiques de dépistage (Mansuy et al, J Med Virol 2004 ; Mansuy et al, J Clin Microbiol 2004) ; évaluation des techniques de mise en évidence des IgM anti-VHE (Legrand-Abravanel et al, Clin Vaccine Immunol 2009 ; Abravanel et al, J Clin Virol 2013 ; Abravanel et al, J Clin Virol 2015) et de quantification de l'ARN VHE (Abravanel et al, J Clin Microbiol 2012) ; évaluation des premiers tests sérologiques automatisés Biomérieux et Diasorin (Abravanel J Clin Virol 2017 ; Abravanel J Clin Virol 2019 ; Abravanel, Viruses 2022) ; participation à des études collaboratives internationales visant à standardiser la détection de l'ARN VHE et le séquençage génomique (Baylis et al, J Clin Microbiol 2011 ; Baylis et al, Emerg Infect Dis 2013 ; Baylis Clin Chem 2021) ; évaluation des premières trousse commerciale de détection de l'ARN VHE (Abravanel et al, J Clin Microbiol 2013 ; Abravanel J Clin Virol 2018) ; évaluation de la mesure de l'antigène de capsid (Tremeaux et al, J Clin Virol 2016 ; Marion J Infect 2019).

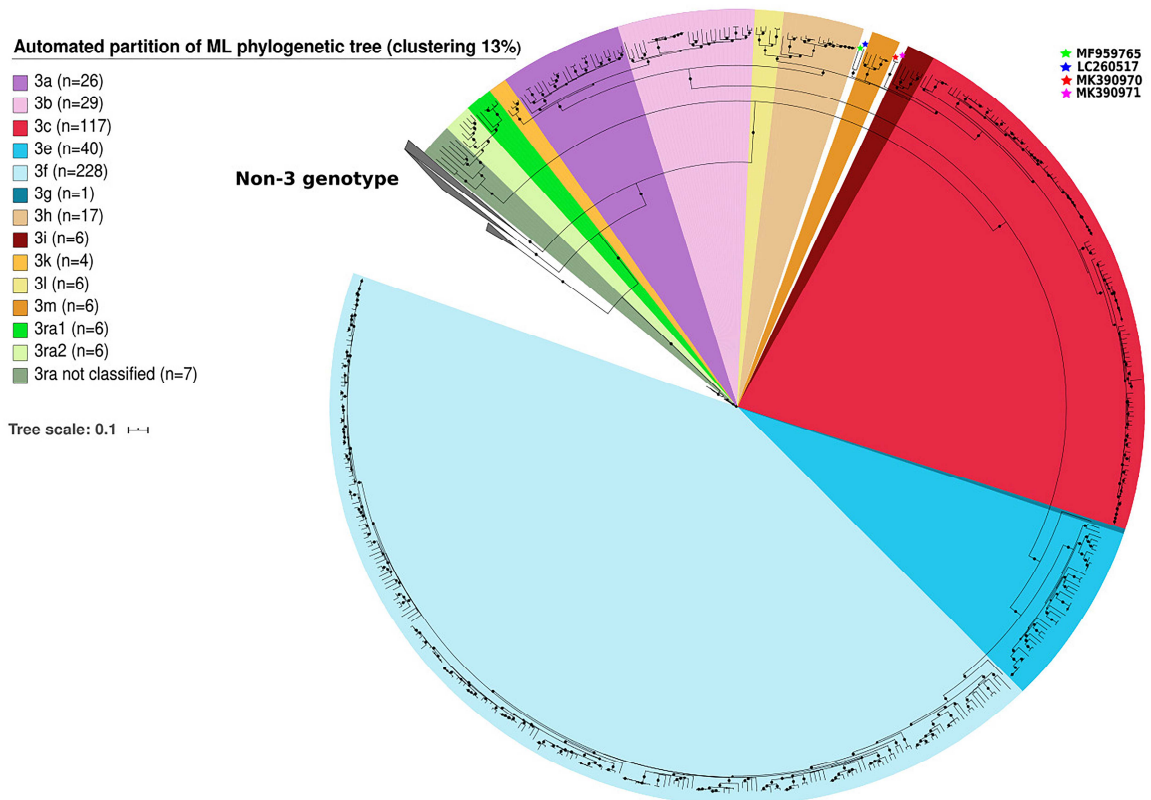
- Caractérisation des génotypes du VHE circulant en France : démonstration de liens génétiques entre souches humaines et animales et séquençage du premier génome entier d'une souche européenne VHE d'origine humaine (Legrand-Abravanel et al, Emerg Infect Dis 2009) ; caractérisation d'un nouveau génotype chez les lapins sauvages et d'élevage, et démonstration du

risque de transmission zoonotique (Izopet et al, Emerg Infect Dis 2012 ; Abravanel Emerg Infect Dis 2017) ; étude du réservoir animal dans le sud-ouest de la France (Lhomme et al, Emerg Infect Dis 2015) ; études ayant contribué à l'évolution de la taxonomie grâce au séquençage de génomes complets (Smith et al, J Gen Virol 2016 ; Nicot Rev Med Virol 2018 ; Smith J Gen Virol 2020 ; Nicot Front Microbiol 2021).

Arbre phylogénétique basé sur les génomes complets illustrant la diversité génétique du VHE
Famille Hepeviridae



Arbre phylogénétique des sous-types du génotype 3 du VHE Famille *Hepeviridae*



- Contribution à une meilleure connaissance de l'épidémiologie de l'infection par VHE en France : séroprévalence très élevée (52 %) chez les donneurs de sang en Midi-Pyrénées (Mansuy et al, J Med Virol 2008 ; Mansuy et al, Emerg Infect Dis 2011 ; Mansuy et al, Eurosurveillance 2015) ; détermination de l'incidence annuelle de l'infection autochtone dans le sud de la France (3 %) (Mansuy et al, J Clin Virol 2009 ; Abravanel et al, Emerg Infect Dis 2011 ; Abravanel et al, J Infect Dis 2014) ; description d'un premier cas de transmission nosocomiale (Mansuy et al, Clin Infect Dis 2009) ; démonstration d'un risque élevé (1/2200) de transmission du VHE par transfusion (Gallian et al, Emerg Infect Dis 2014) ; détermination de la séroprévalence nationale en collaboration avec l'EFS (22,4 % sur 10 000 donneurs) et identification des facteurs associés alimentaires et environnementaux, d'une part à l'exposition, et d'autre part à une infection récente (Mansuy et al, Hepatology 2016) ; étude de la transmission du VHE par transfusion sanguine en collaboration avec l'EFS (Gallian Transfusion Medicine 2018 ; Gallian Emerging Infect Dis 2020).

- Contribution avec Santé Publique France, les CIRE, l'ANSES, IFREMER à des enquêtes épidémiologiques de transmission du VHE par voie alimentaire (Guillois et al, Clin Infect Dis 2016 ; Guillois et al, BEH 2016 ; Miura et al, Food Environ Virol 2016) ou hydrique (Spaccaferri et al, Rapport Santé Publique France 2016).

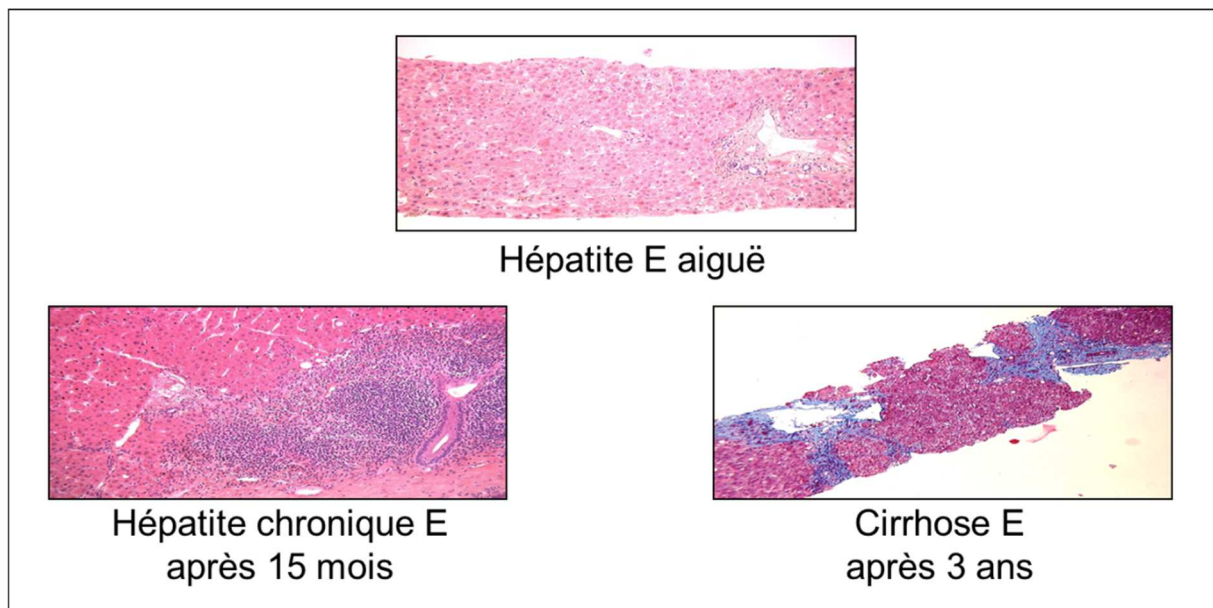
Physiopathologie :

- Contribution à une meilleure connaissance des caractéristiques cliniques de l'hépatite E aiguë autochtone : description d'hépatites fulminantes chez des sujets présentant une hépatologie sous-jacente (Peron et al, J Viral Hepat 2007) ; détermination des caractéristiques histologiques (Peron et al, Virchows Arch 2007) ; description de thrombopénies (Fouquet et al, J Clin Virol 2010), d'insuffisance rénale aiguë et de glomérulopathies (Kamar et al, Am J Kidney Dis 2005 ; Kamar et al, Transplantation 2012 ; Kamar et al, Am J Kidney Dis 2015 ; Guinault et al, Am J Kidney Dis 2016) ; mise en évidence de

manifestations neurologiques avec compartimentation des quasiespèces virales (Kamar et al, Am J Transplant 2010 ; Kamar et al, Emerg Infect Dis 2011 ; Blasco-Perrin et al, Emerg Infect Dis 2015 Abravanel Vaccines 2021 ; Lhomme Pathogens 2021 ; Lhomme J Antimicrob Chemother 2022).

- Première description mondiale de formes chroniques d'hépatite E : série de 14 hépatites E chez des transplantés d'organe solide avec évolution chronique de l'infection chez 8 d'entre eux (Kamar et al, N Engl J Med 2008) ; évolution vers la cirrhose des hépatites E chroniques (Kamar et al, Am J Transplant 2008) ; description de formes prolongées d'hépatite E dans le cadre de chimiothérapies (Peron et al, J Gastroenterol Hepatol 2006) et chez les patients infectés par HIV (Kenfak et al, Emerg Infect Dis 2011) ; étude de l'histoire naturelle de l'infection chronique par VHE chez le patient immunodéprimé (Legrand-Abravanel et al, J Infect Dis 2010 ; Legrand-Abravanel et al, Emerg Infect Dis 2011, Kamar et al, Gastroenterology 2011 ; Legrand-Abravanel et al, J Infect 2016).

Evolution de la fibrose lors d'une hépatite chronique E



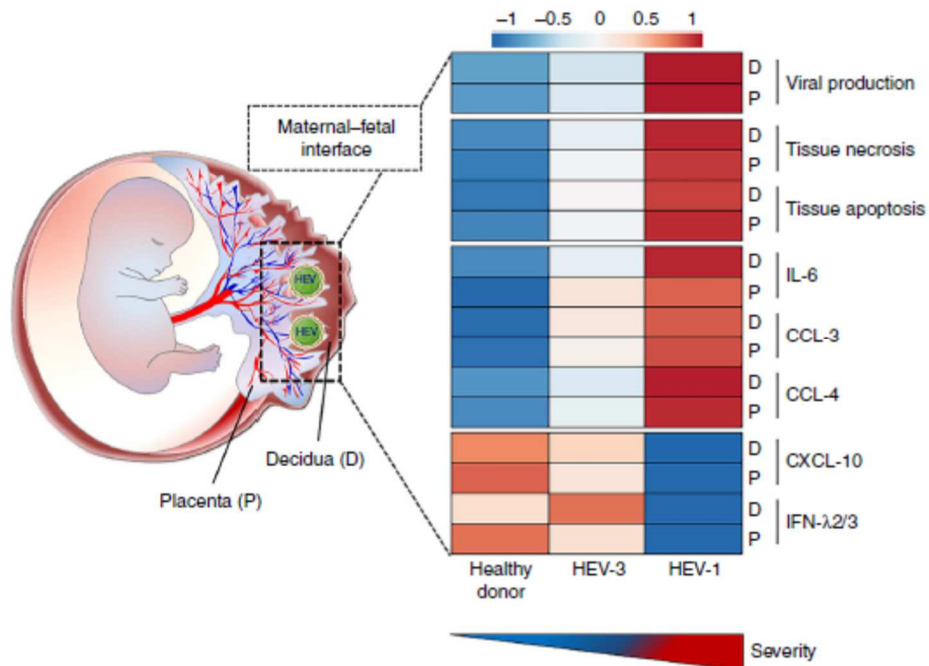
- Démonstration du rôle de la diversité génétique de la quasiespèce virale et de la réponse cytokinique dans la persistance virale (Lhomme et al, J Virol 2012 ; Lhomme et al, J Infect Dis 2014) ; caractérisation d'une région génomique (région PPR riche en proline) comportant des insertions de fragments de gènes humains conférant au virus une meilleure adaptation à l'hôte (Lhomme et al, J Virol 2014 ; Lhomme Front Microbiol 2020).

- Démonstration d'une possibilité de ré-infection par le VHE chez l'immunodéprimé avec évolution vers la chronicité (Abravanel et al, J Infect Dis 2014) mais aussi chez l'immunocompétent (Servant-Delmas J Viral Hepat 2016) ; étude du pouvoir neutralisant des anticorps anti-VHE grâce au développement d'un test de séroneutralisation et estimation d'un seuil protecteur (S. Chapuy-Regaud et al, soumis).

- Etude du rôle de la réponse cellulaire effectrice mémoire T CD8 dans la pathogénèse du VHE de génotype 3 chez les personnes âgées (El Costa PloS Path 2021) ; étude du rôle des lymphocytes T gamma-delta dans l'infection par le VHE (Abravanel J Infect 2016 ; Barragué J Immunol 2021) ; étude du rôle de l'immunité innée (Lhomme Vaccines 2020)

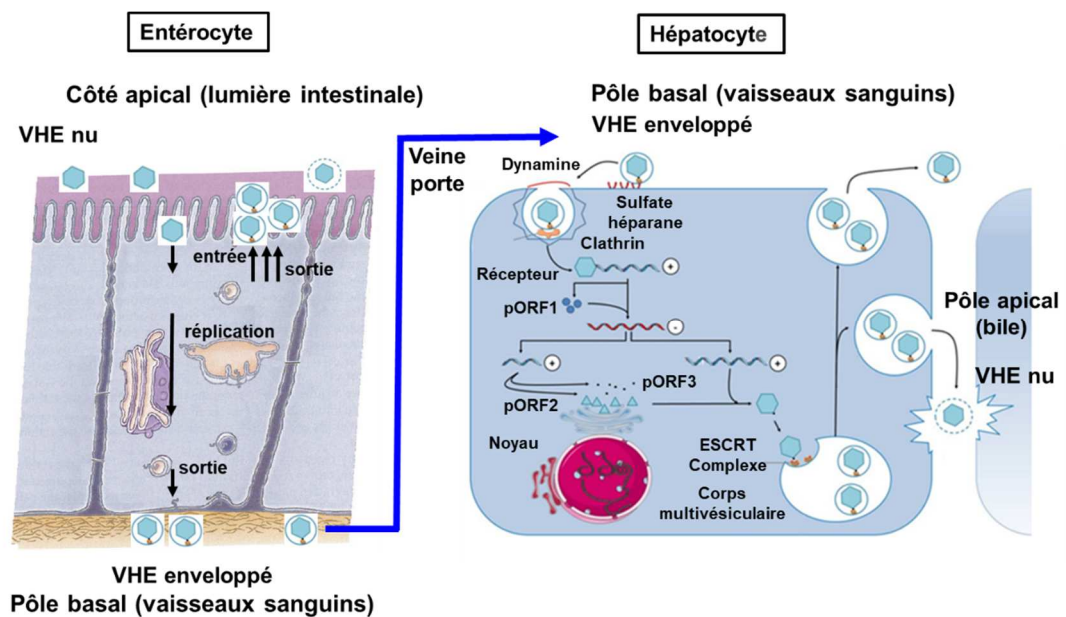
- Démonstration d'une répllication du VHE de génotype 1 plus élevée que celle du génotype 3 au niveau du placenta et de la decidua (Gouilly Nat Com 2018)

Tropisme placentaire du VHE et impact du génotype viral



- Démonstration du tropisme intestinal du VHE et implications thérapeutiques (Marion Gut 2019 ; Izopet Med Sci 2021)

Tropisme tissulaire du VHE



Thérapeutique :

- Description de l'élimination du VHE chez un tiers des transplantés d'organes chroniquement infectés grâce à la modulation de l'immunosuppression, en particulier grâce à la réduction des doses d'immunosuppresseurs ciblant les lymphocytes T (Kamar et al, Transplantation 2010 ; Kamar et al, Gastroenterology 2011).

- Démonstration de l'efficacité de l'interféron- α pégylé chez les patients immunodéprimés (Kamar et al, Clin Infect Dis 2010 ; Kamar et al, Nephrol Dial Transplant 2010 ; Alric et al, Ann Intern Med 2010).

- Démonstration de l'effet antiviral de la ribavirine (Kamar et al, Gastroenterology 2010 ; Alric et al, Am J Gastroenterol 2011 ; Robbins et al, J Clin Virol 2014 ; Tavitian et al, Emerg Infect Dis 2015) ; démonstration de l'éradication du VHE chez 80 % des patients après un traitement de 3 mois par ribavirine (Kamar et al, New Engl J Med 2014) ; étude de la cinétique virale précoce sous ribavirine et de l'influence des immunosuppresseurs (Kamar et al, Transplantation 2015 ; Kamar et al, Am J Transplant 2016) ; identification d'un compartiment intestinal de persistance du VHE susceptible d'influencer la durée optimale du traitement par ribavirine (Abravanel et al, Clin Infect Dis 2015 ; Marion J Hepatol 2019) ; étude des paramètres pharmacologiques au cours du traitement par ribavirine (Lhomme Viruses 2020 ; Midas J Virol Hepat 2021)

- Etude des mécanismes de résistance du VHE à la ribavirine grâce au développement d'une méthode de séquençage de nouvelle génération (NGS) permettant l'étude des quasiespèces virales (Lhomme et al, Antimicrob Agents Chemother 2015, Lhomme J Antimicrob Chemother 2022).

Expérience du laboratoire de virologie de l'Hôpital Paul Brousse à Villejuif dans le domaine de l'hépatite A

Les contributions du laboratoire du Pr Roque-Afonso concernent :

Transmission du VHA

- Investigation de cas groupés avec identification de la ou des souches épidémiques et des sources de contamination, mesures de contrôle : Schwarz Euro Surveill 2008 ; Couturier Euro Surveill 2009 ; Guillois-Becel Euro Surveill 2009 ; Guet J Hosp Infect 201 ; Gallot Emerg Infect Dis 2011 ; Severi Euro Surveill 2015 ; Ndumbi Euro Surveill 2018 ; Gassowski Euro Surveill 2018 ; N Nicolay BMC Public Health 2020
- Taux d'attaque et immunisation : Charre Euro Surveill 2017
- Risque Transfusionnel (Garraud Transfusion 2004 ; Gallian EuroSurveill 2018 ; Gallian EuroSurveill 2019 ; Lefeuvre Emerg Infect Dis 2022).

Epidémiologie

- Surveillance environnementale et à l'étranger : Bisseux Eurosurveill 2018 ; Neffatti PlosOne 2017
- Origine géographique de géotypes rares, tel le IIA (Desbois J clin Microbiol 2010)

Mise au point ou l'évaluation d'outils diagnostiques et d'outils contribuant à l'investigation d'épidémies :

- Evaluation des réactifs IgM et anticorps totaux (Roque-Afonso, Clin Vaccine immunol 2011, Mouna J Clin Virol 2022)

- Avidité des IgG VHA (Roque-Afonso J Clin Microbiol 2004, Clin Infect Dis 2006), permettant en association avec la virémie VHA d'exclure une infection en cours et ainsi de limiter les investigations autour d'hypothétiques cas groupés, par exemple.
- Sérologie et PCR sur papiers buvards et salive (Mackiewicz J Clin microbiol 2004, Desbois J Clin Microbiol 2009), sous-typage par PCR temps réel permettant une première indication de souche chez des échantillons environnementaux ou alimentaires faiblement titrés (Coudray-Meunier BMC Microbiol)

Physiopathologie

- Démonstration d'une charge virale VHA faible associée au caractère fulminant de l'infection suggérant un mécanisme immunopathologique (Rezende Hepatology 2003)
- Absence de lien entre variabilité génétique virale et survenue d'hépatite fulminante, notamment, pas de différence d'efficacité traductionnelle entre souches (Mackiewicz J Virol 2010)
- Manifestations neurologiques (Lefaucher J Viral Hepat 2019)

2.2 Moyens du laboratoire candidat et du laboratoire associé affectés au CNR

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

- **Ressources humaines :**

- *Curriculum vitae :*

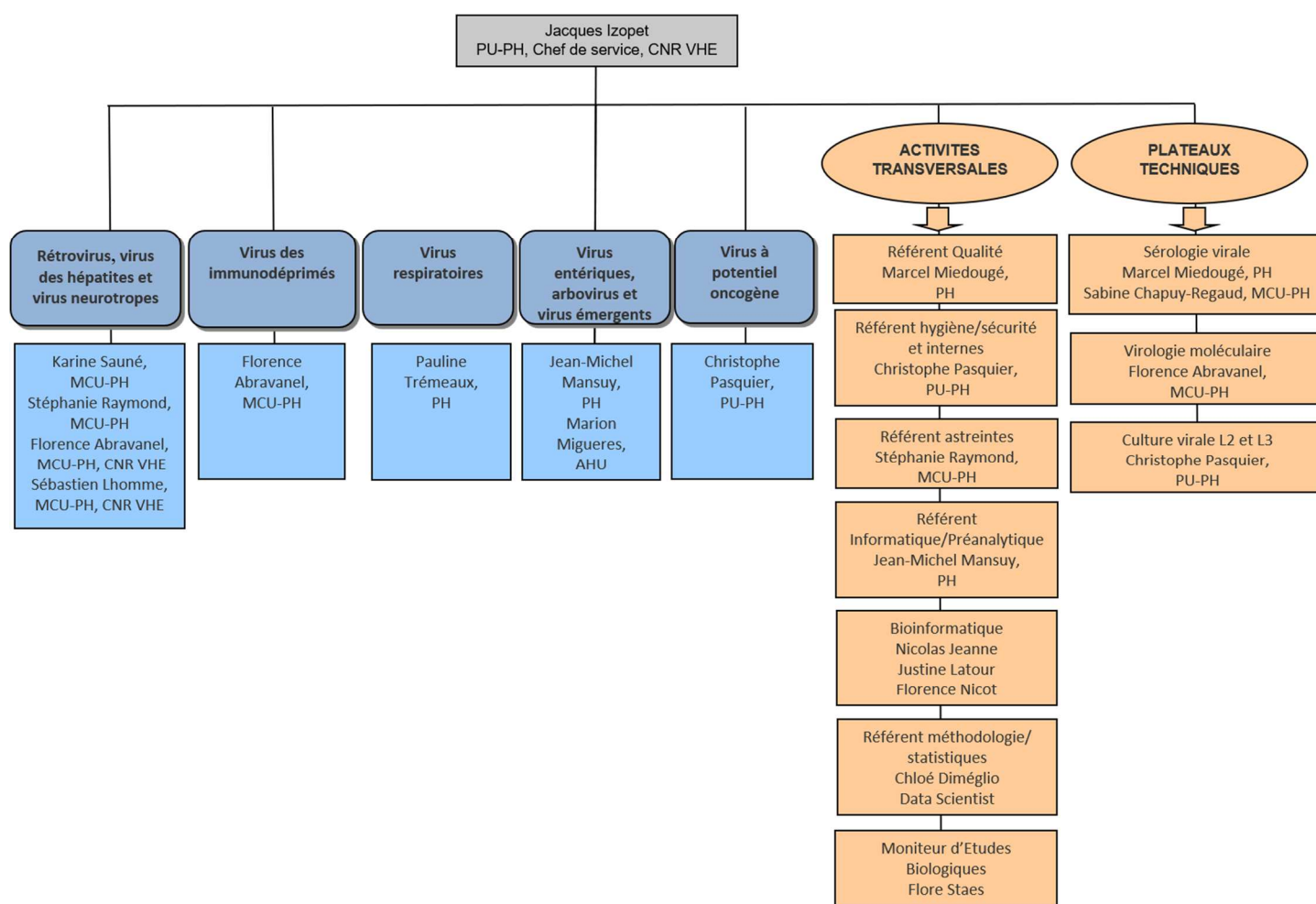
Le demandeur (Pr Jacques Izopet) dont le CV figure en Annexe 3, s'engage à assurer la totalité du mandat de 5 ans en cas de nomination.

- Etat des emplois affectés au CNR :

L'équipe dédiée au CNR pour l'activité VHE sera constituée de 3 biologistes et 4 ingénieurs

	ETP	Qualification
Jacques Izopet	0,2	Biologiste, PU-PH, CS
Florence Abravanel	0,2	Biologiste, MCU-PH
Sébastien Lhomme	0,2	Biologiste, MCU-PH
Chloé Dimeglio	1	Ingénieur-Data Scientist
Justine Latour	1	Ingénieur-bioinformaticien
Noémie Ranger/remplacement	1	Ingénieur
Mélanie Pucelle/remplacement	1	Ingénieur

Organigramme du laboratoire de virologie du CHU de Toulouse : Accréditation ISO 15189 – n° 8-1769



En complément de l'équipe dédiée au CNR, l'organisation ci-dessus permet l'implication d'autres personnels en fonction des projets et des activités du CNR :

Flore Staes : moniteur d'études biologiques / gestion des biothèques

Nicolas Jeanne : ingénieur bio-informaticien

Florence Nicot : biologiste, référent NGS / bio-informatique

• Equipement et logistique :

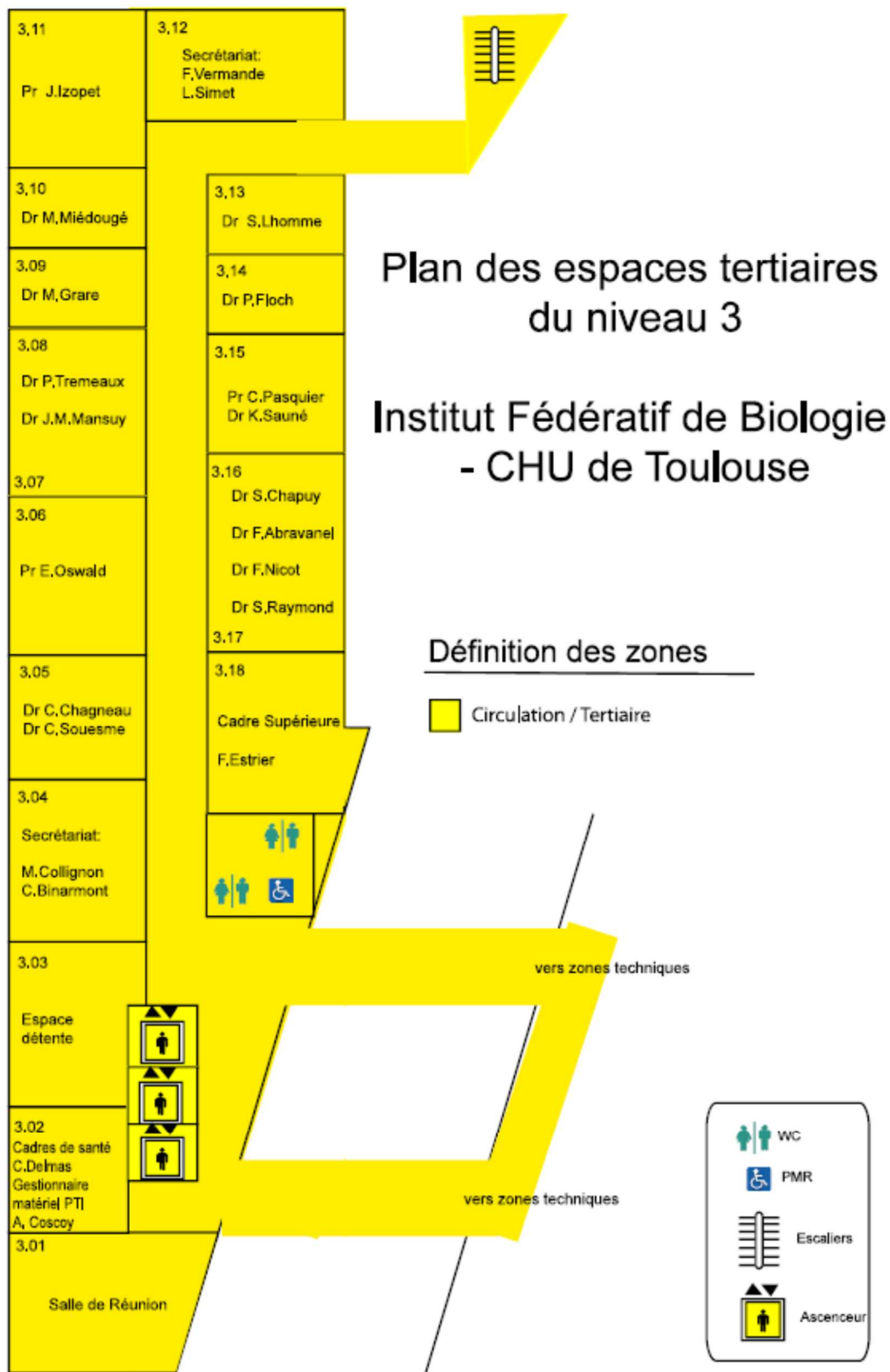
Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

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.

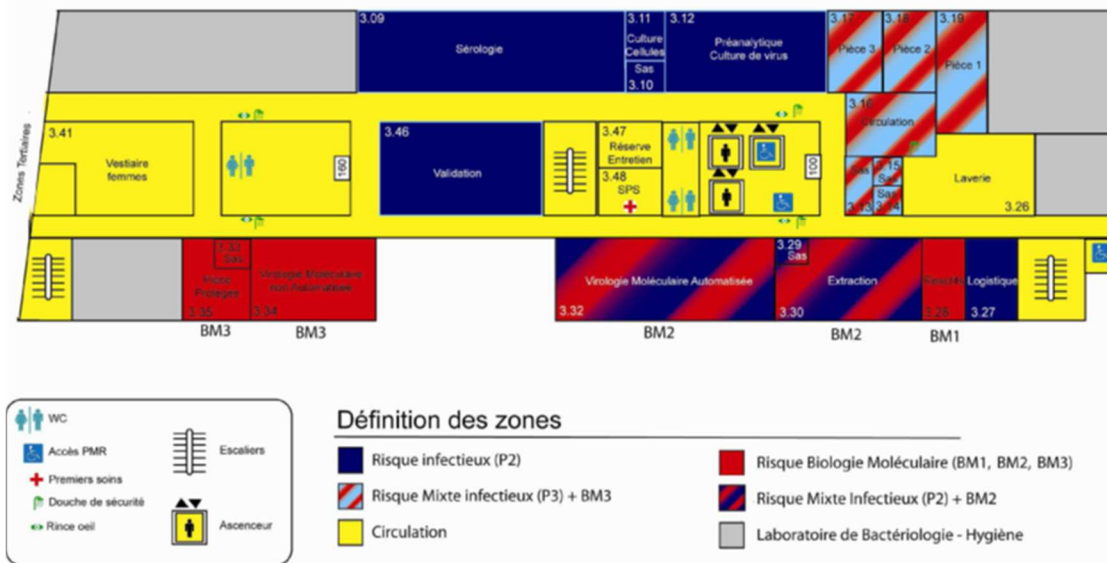
Le laboratoire est ouvert tous les jours 24h/24h.

Le laboratoire comporte des espaces tertiaires et 3 plateaux techniques :

- sérologie
- virologie moléculaire
- culture de virus en laboratoires L2 et L3



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 et MGI SP960.
- Thermocycleurs 1 GenAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems) ; 6 Mastercycler Nexus (Eppendorf) ; 3 Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems)
- Appareils de PCR en temps réel : 2 Light Cycler 2 (Roche) , 7 Light Cycler 480 (Roche) ; 2 QuantStudio 5 (ThermoFisher) ; 1 CFX 96 (Biorad)
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : 1 séquenceur conventionnel, 3500 XL 24 capillaires (Applied Biosystems) et 1 séquenceur NGS 3^{ème} génération Sequel IIe (Pacific Biosciences). Accès à des séquenceurs NGS 2^{ème} génération Illumina (NextSeq et Novaseq, Life Technologies) et NGS 3^{ème} génération Oxford Nanopores).
- Robot de distribution : 1 instrument Hamilton
- Gestionnaire de microplaques ELISA
- Système Luminex
- Laboratoire de sécurité L3 avec ultracentrifugeuse et luminomètre

Le laboratoire dispose d'un accès direct aux différents plateaux techniques d'INFINITY, centre de recherche Inserm UMR1291/CNRS UMR5051 :

- . cytométrie en flux
- . imagerie cellulaire

. génomique / transcriptomique

. immunomonitoring

Laboratoire associé

- **Ressources humaines :**

- *Curriculum vitae :*

Le demandeur (Pr Anne-Marie Roque-Afonso) dont le CV figure en Annexe 3, s'engage à assurer la totalité du mandat de 5 ans en cas de nomination.

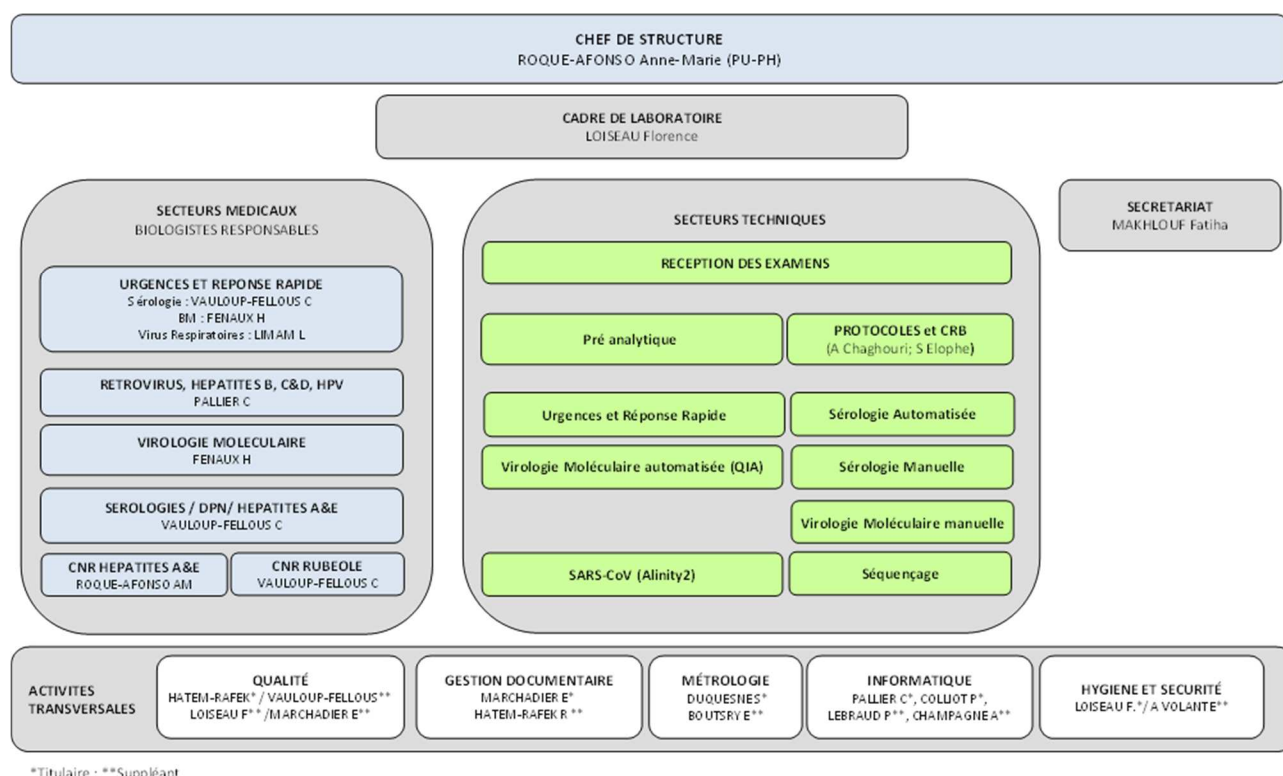
- Etat des emplois affectés au CNR :

L'équipe dédiée au CNR sera constituée par 2 biologistes, Anne-Marie ROQUE-AFONSO, PU-PH, chef de service (0,2 ETP), Lina MOUNA, AHU (puis PH, dans le prochain mandat) (0,2 ETP), un ingénieur (1ETP), et un technicien (0,5 ETP).

D'autres personnels sont impliqués dans le fonctionnement du CNR : Amal Chaghouri, Moniteur d'études biologiques/gestion des biothèques (ANRS) et Honorine Fenaux, biologiste, référent NGS.

- Organigramme du laboratoire de virologie du GHU Paris Saclay :

Le laboratoire de virologie des HUPS est issu du regroupement en 2013 des activités de virologie des 3 sites du groupe hospitalier (Bicêtre, Bécélère et Paul Brousse), maintenant nommé Paris Saclay. Les activités du CNR sont intégrées au laboratoire, ainsi que des activités de collection dans le cadre du CRB Paris Sud.



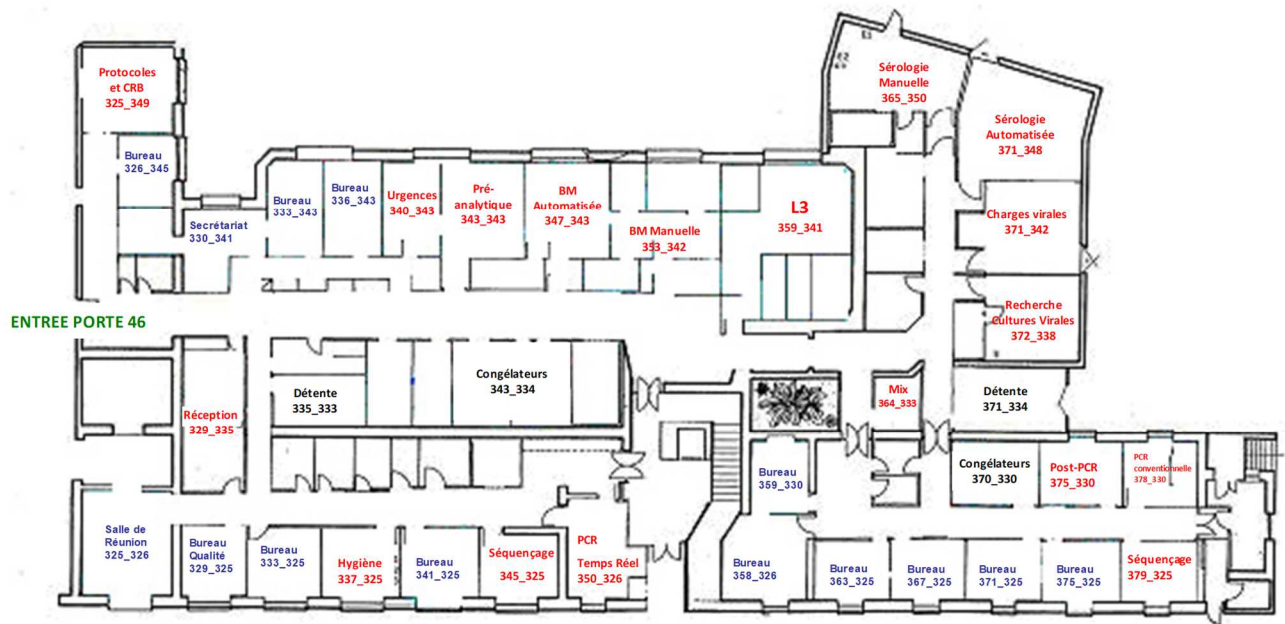
- **Equipement et logistique :**

Le laboratoire de virologie d'une surface de près de 500m2 est situé au RCH du bâtiment Leriche, organisé autour d'une réception dédiée à la virologie, de secteurs techniques (Préanalytique,

Protocoles et Centre de Ressources Biologiques, Urgences et réponse rapide, Sérologies manuelle et automatisée, Biologie moléculaire Manuelle et automatisée et Séquençage). Il est équipé d'un laboratoire L3, de 3 chambres froides, et de salles climatisées accueillant les congélateurs, dont ceux du CRB. Les bureaux sont intégrés dans cette organisation.

Le laboratoire est ouvert 6 jours /7 de 8h30 à 18h.

Plan du laboratoire



Les principaux équipements sont listés ci-dessous

- Congélateurs et enceintes froides avec surveillance centralisée des températures (Sirius, JRI)
- Automates d'immunoanalyse : Vidas (Biomérieux), Liaison XL (Diasorin), Cobas e6000 (Roche), IFlash (Orgentec)
- Automates d'extraction d'acides nucléiques : QiaSymphony (Qiagen), EasyMag et eMag (Biomérieux)
- Appareils de PCR en temps réel (7500, QuantStudio, RotorGeneQ) et thermocycleurs conventionnels
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : séquenceur capillaires SeqStudio (Applied Biosystems)
- Laboratoire L3 équipé d'1 ultracentrifugeuse Beckman

L'équipe de virologie a également un accès aux séquenceurs NGS de la plateforme de génétique somatique MiSeq (Illumina), un NextSeq est en cours d'acquisition pour assurer des créneaux en virologie.

Nous disposons d'un accès direct aux plateformes de l'IAL André Lwoff (UMS 33), sur Paul Brousse : cytométrie en flux, imagerie cellulaire, microscopie électronique et bioinformatique, notamment.

2.3 Descriptif des thématiques de recherche du laboratoire et du laboratoire associé dans le domaine d'expertise du CNR

Laboratoire candidat

Le candidat au CNR est directeur-adjoint de l'Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires, INSERM U1291 CNRS UMR5091) constitué de 14 équipes et de plateaux techniques communs (cytométrie en flux, imagerie cellulaire, génomique/transcriptomique, immuno-monitoring, animalerie). L'équipe « Infection virale : persistance, réponse de l'hôte et physiopathologie » est dirigée par le candidat au CNR. Cette équipe est constituée de 9 enseignants hospitalo-universitaires biologistes et cliniciens, 1 enseignants-chercheurs, 1 directeur de recherche CNRS, 1 chargé de recherche INSERM, 2 post-doctorants, 8 doctorants, et 4 ingénieurs/techniciens. L'organigramme figure ci-dessous :

INSERM UMR1291 / CNRS UMR5051 / Université Toulouse III

Equipe 8
Infection virale : persistance, réponse de
l'hôte et physiopathologie

J. Izopet, PU-PH – B. Lagane, CRCN

Persistance du HEV

F. Abravanel, MCU-PH
E. Champagne, DR2
S. Chapuy-Regaud, MCU
N. Kamar, PU-PH
S. Lhomme, MCU-PH
C. Dimeglio, Ingénieur
M. Pucelle, Ingénieur

F. Martini, post-doctorant
M. Miguères, AHU, doctorant
O. Marion, CCA, doctorant
C. Allieux, doctorant
O. Paronetto, doctorant
N. Jeanne, doctorant

Persistance du HIV

P. Delobel, PU-PH
C. Pasquier, PU-PH
S. Raymond, MCU-PH
K. Sauné, MCU-PH
B. Puissant-Lubrano, MCU-PH

M. Requena, BIATSS
MP. Panero, AJT
P. Colin, post-doctorant
C. Vellas, doctorant
V. Cantaloube-Ferrieu, doctorant
D. Martres, doctorant

Dans le domaine de l'hépatite E, les projets en cours sont les suivants :

- Rôle de l'autophagie dans l'assemblage, la morphologie et l'infectiosité du VHE (projet financé par l'ANRS)
- Etudes de la réponse immune anti-VHE (2 projets financés par l'ANRS) : Etude de la réponse immunitaire chez l'immunodéprimé traité par ribavirine et étude du rôle des lymphocyte T gamma-delta lors de l'infection par le virus de l'hépatite E.
- Etude de la capacité répliquative de souches recombinantes du VHE (2 projets financés par l'ANRS).
- Développement d'un modèle d'infection chronique chez le petit animal (collaboration avec l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – JL. Guérin, S. Bertagnoli) et chez des souris humanisées (collaboration avec le Pr Philip Meuleman, Center for Vaccinology, Ghent, Belgium).

Laboratoire associé

Le responsable scientifique du laboratoire associé est membre de l'UMR 1193 (INSERM/Université Paris Sud), intitulée « Physiopathogénèse et traitement des maladies du foie », dirigée par Didier SAMUEL.

Les membres du CNR s'inscrivent dans l'équipe « Recherche Translationnelle et Innovations Thérapeutiques en Transplantation Hépatique et dans les Maladies du Foie ».

Les projets concernant l'hépatite A abordent la physiopathologie, l'interaction avec la cellule hôte, la diversité génétique et l'épidémiologie :

- facteurs d'hôte et facteurs viraux associés au développement des hépatites fulminantes ou biphasiques (fréquence, auto-immunité, polymorphismes génétiques)
- Interaction des souches cliniques avec la cellule hôte (apoptose, autophagie)
- Rôle des co-infections et de la recombinaison génétique dans la diversification génétique du VHA
- Apport du NGS à l'épidémiologie moléculaire
- Vaccination et transplantation
- Actions de santé : comparabilité des bases de données (PMSI, CNAM, DO) pour l'analyse de l'impact du VHA en santé publique

Ces projets s'appuient sur l'activité d'expertise du CNR et sa collection d'échantillons cliniques et ses liens avec les acteurs cliniques pour les études physiopathologiques.

2.4 Capacités techniques du laboratoire candidat et du laboratoire associé :

2.4.1 Laboratoire candidat – Hépatite E

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

Le CNR VHE est équipé d'un séquenceur automatique (Sanger) et d'un instrument NGS de 3^{ème} génération (long fragments), Sequel IIe (Pacific Biosciences). Le laboratoire dispose également d'un accès à du séquençage très haut débit (Novaseq 6000, Illumina) sur la plateforme génomique/bio-informatique Get-PlaGe (INRAE) et à du séquençage rapide sur Minion (Oxford Nanopore) en collaboration avec l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Les analyses bioinformatiques sont réalisées par les deux bioinformaticiens du laboratoire en lien avec la cellule bioinformatique du pôle biologie (5 bioinformaticiens) permettant le calcul, le stockage et l'archivage.

Le séquençage est utilisé dans le cadre d'investigation de cas groupés ou d'enquêtes transfusionnelles (22 enquêtes réalisées en 2019-2020) et dans le cadre de la surveillance des souches circulant chez les patients symptomatiques ARN VHE positifs ou chez les donneurs de sang.

Les tests sérologiques sont les suivants :

- Test de détection des anticorps IgM et IgG anti-VHE par EIA (Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co, China) (Mansuy et al, Emerg Infec Dis, 2011 ; Abravanel et al, J Clin Virol 2013) et technique Liaison Murex anti-HEV IgG et IgM.
- Etude de l'avidité des IgG VHE (par adaptation de la technique IgG Wantai)

- Titration des IgG anti-VHE à l'aide du standard international NIBSC 95/584 (par adaptation de la technique IgG Wantai) (Abravanel et al, J Infect Dis 2014) et technique technique Liaison Murex IgG anti-VHE.
- Détection de l'antigène de capsid du VHE par EIA sandwich (Trémeaux et al, J Clin Virol, 2016)

Les tests moléculaires sont les suivants :

- Détection et quantification du génome viral : RT-PCR en temps réel développée au laboratoire ciblant la région ORF3 du génome (Abravanel et al, J Clin Microbiol, 2012) et technique commercialisée Altona (Abravanel et al, J Clin Microbiol, 2013)
- Caractérisation des souches :
 - o Séquençage et analyse phylogénétique de la région ORF2 ou ORF1 (Legrand-Abravanel et al, Emerg Infect Dis, 2009).
 - o Séquençage de génomes complets (Legrand-Abravanel et al, Emerg Infect Dis, 2009 ; Izopet et al, Emerg Infect Dis 2012, Nicot et al Rev Med Virol 2018, Nicot et al Front Microbiol 2020).
 - o Séquençage de la polymérase virale pour caractériser l'impact des mutations du génome sur l'efficacité du traitement par ribavirine (Kamar et al, Clinical Infect Dis 2019).
- Analyse des quasi-espèces par clonage et séquençage des variants ou séquençage haut débit (Kamar et al, Am J Transplant, 2010 ; Lhomme et al, J Virol 2012, Lhomme et al, J Infect Dis 2014 ; Lhomme et al, Antimicrobiol Agent and Chemother 2015, Abravanel et al Vaccines 2021)
- Le CNR VHE a développé une technique de détection et de séquençage de l'ARN du VHE du rat (génotype HEV-C (Parraud, Front Med 2021) (Technique non accréditée)

Des techniques de culture cellulaire du VHE ont été développées sur les lignées hépatocytaires PLC/PRF-5 et HepG2/C3A ainsi que sur la lignée pulmonaire A549 (Lhomme et al, J Virol 2012). Des lignées hépatocytaires polarisées (Capelli, J Virol 2019) et des cultures sur entérocytes primaires ou explants intestinaux (Marion, Gut, 2020) sont également utilisées.

Plusieurs souches cliniques de génotype 1, 3f et 3c ont été adaptées sur ces systèmes.

Base de données de séquences

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.

Le laboratoire a contribué à un travail collectif international visant à établir un panel de séquences de référence afin de faciliter le génotypage des souches et les études d'épidémiologie moléculaire (Smith, J Gen Virol, 2020).

Collections

Des collections de souches et antigènes de référence ont été constituées (n° DC-2015-2450) et stockés selon les règles du CRB du CHU de Toulouse (autorisation initiale AC-2015-2518 puis AC-2021-4822) :

- collection de plus de 4000 sérums ou selles contenant du VHE géotypé.
- collection de surnageants de culture de souches cliniques (3f et 3c).

2.4.2 Laboratoire associé – Hépatite A

Liste des techniques

Tests Sérologiques

- Détection et quantification des anticorps totaux (Cobas) et détection des IgM (Vidas, 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.
- IgM Salivaires et IgA sériques et salivaires

Détection et quantification du génome viral

- Adaptation à la quantification du test Altostar HAV RT-PCR kit (Altona)

Caractérisation des souches

- RT-PCR de la région VP1-2A (500 nucléotides) permettant le géotypage par séquençage sanger et analyse phylogénétique de la région VP1/2A
- Séquençage du génome complet par marche en avant (NGS en développement)

Culture cellulaire

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

Collections

- Collection clinique de plus de 800 sérums ou selles contenant de l'ARN VHA dont la souche a été typée et de sérums présentant des IgM d'activation polyclonale (ARN négatif et avidité IgG >70%)
- Collection de surnageants de culture de souches cliniques

Ces échantillons sont conservés selon les règles du CRB Paris Sud (certifié AFNOR selon la norme NF S96-900), que le service de virologie a intégré en 2012. La collection CNR a fait l'objet d'une convention d'hébergement spécifique.

Base de données de séquences

La Base de données de séquences VHA est gérée par le logiciel Bionumerics (> 1500 séquences géotypées et annotées sur l'origine géographique et certains facteurs de risque). Bionumerics permet le croisement rapide des données en cas d'alerte transfrontalière, par échange avec nos correspondants européens.

3. ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES :

3.1 Activités au titre de l'expertise microbiologique

Tests sérologiques et moléculaires

Hépatite E

L'évolution des tests sérologiques et moléculaires réalisés par le laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse figure dans le tableau ci-dessous :

	Tests sérologiques	Tests moléculaires
2017	7268	6153
2018	6955	6191
2019	6445	6974
2020	5857	5646
2021	6359	6027
Total	32884	30991

La diminution progressive du nombre de tests sérologiques de 2017 à 2021 est liée à un nombre plus fréquent de laboratoire réalisant eux-mêmes les tests en lien notamment avec la disponibilité des techniques immunochromatographiques rapides. Le nombre de tests moléculaires réalisés annuellement a augmenté jusqu'en 2019 puis une baisse a été observée probablement en lien avec la crise sanitaire COVID19.

Réseau de partenaires

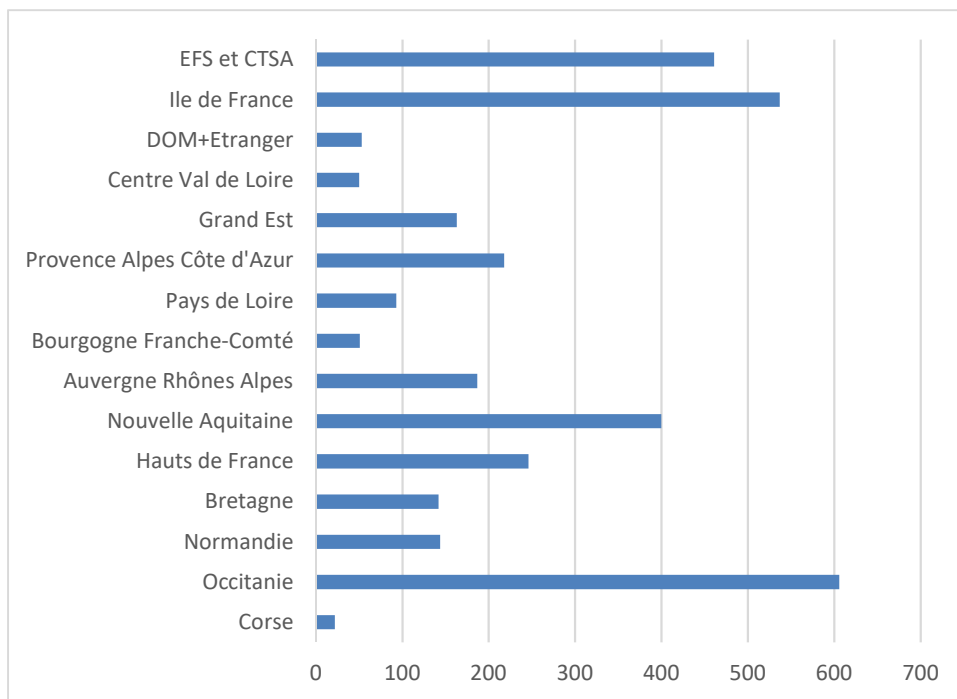
L'hépatite E n'étant pas une maladie à déclaration obligatoire le CNR VHE a organisé la surveillance en répertoriant, en complément de son activité propre concernant le VHE, les cas transmis par ses partenaires publics ou privés impliqués dans le diagnostic virologique en France.

Le laboratoire de virologie de Toulouse travaille en collaboration avec les laboratoires de virologie des CHU de France, membres du réseau ANRS-MIE et de nombreux centres hospitaliers périphériques. Pour les CHU d'Angers, Brest, Poitiers, Reims et Rouen l'ensemble des tests moléculaires sont centralisés au CNR. Pour les CHU de Paris (AP-HP), Amiens, Bordeaux, Clermont-Ferrand, Dijon, Grenoble, Lille, Limoges, Lyon, Nîmes Nantes, Nice, Rennes, Saint-Etienne Strasbourg et Tours, la détection/quantification est désormais réalisée localement et les échantillons positifs sont envoyés au laboratoire de virologie de Toulouse pour typage des souches.

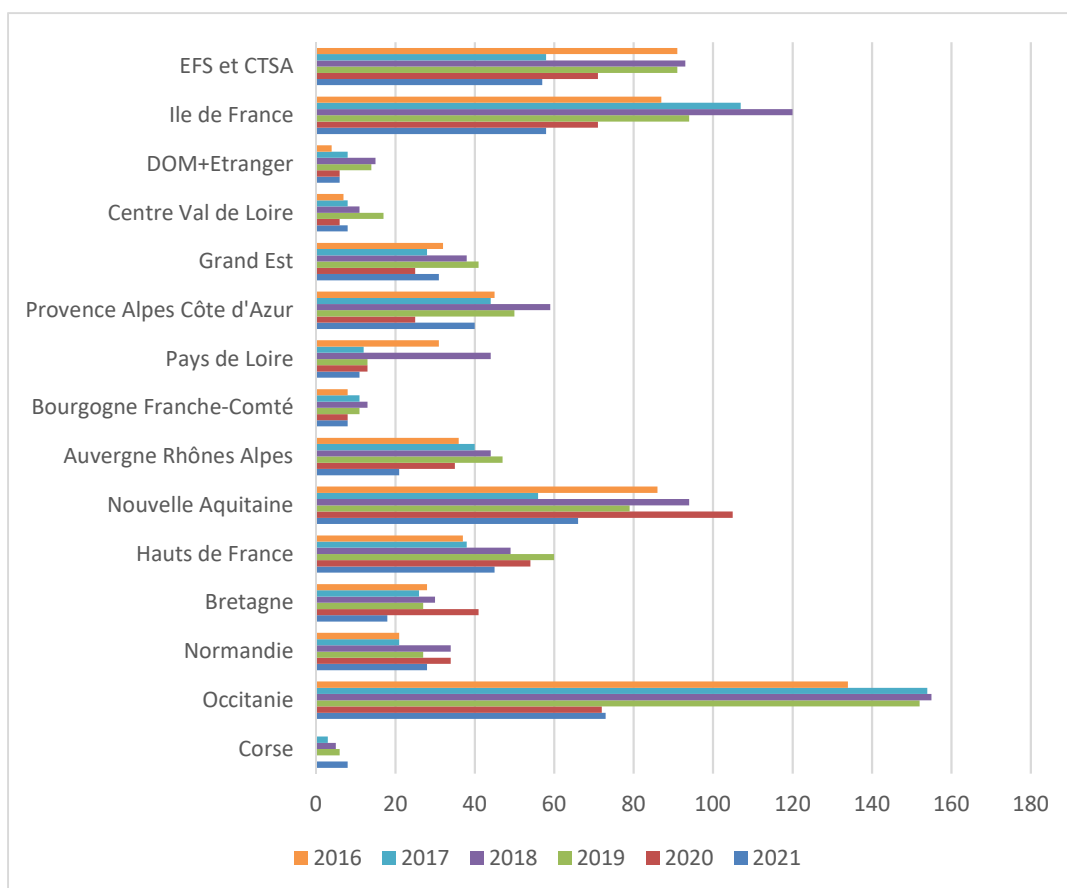
Il réalise aussi la détection et la quantification de l'ARN VHE par PCR ainsi que la caractérisation des souches identifiées par séquençage des acides nucléiques pour de nombreux laboratoires privés qui lui transmettent les échantillons IgM VHE positifs.

Le laboratoire de virologie du CHU de Marseille transmet également le nombre de cas identifiés dans son centre. Les laboratoires d'analyses spécialisées Biomnis, Cerba et Inovie communiquent également le nombre de cas d'hépatite E identifiés. Les laboratoires Cerba et Inovie transmettent les échantillons positifs pour quantification et caractérisation des souches au CNR, lorsque les échantillons sont disponibles.

Le CNR VHE travaille également en collaboration avec l'établissement français du sang et le centre de transfusion des armées (CTSA).



Origine des cas génotypés par le CNR VHE



Origine des cas génotypés par le CNR VHE par année

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

Année	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
2015	66000	2122	4	2118	3,5
2016	76000	2302	10	2292	3
2017	80000	2245	26	2219	2,8
2018	90000	2642	26	2616	2,9
2019	80000	2577	26	2551	3,2
2020	90000	2158	5	2153	2,4
2021	90000	2305	10	2295	2,5

L'augmentation du nombre de cas répertoriés annuellement est lié à une meilleure connaissance de la pathologie et de l'épidémiologie du VHE et à une augmentation du nombre de tests réalisés en France en lien avec les travaux scientifiques, les recommandations de l'HAS de 2017 et les recommandations internationales EASL de 2018.

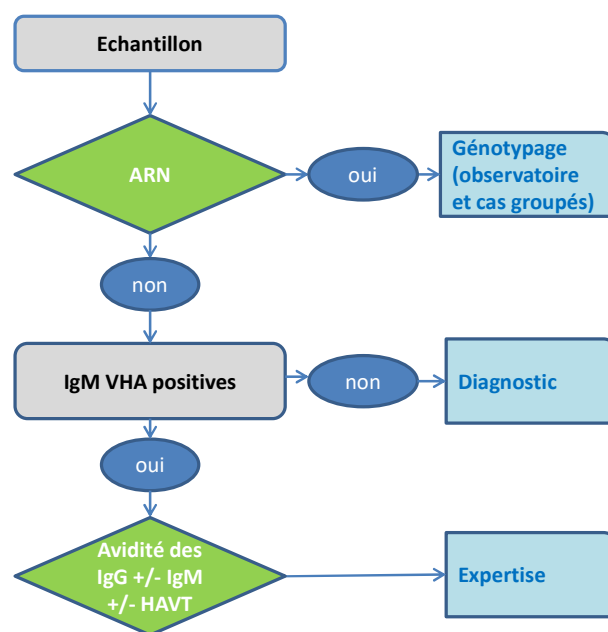
Il importe toutefois de noter que l'infection par le VHE reste sous-diagnostiquée en raison de connaissances encore imparfaites et du caractère asymptomatique de la majorité des infections (60-90%). L'hétérogénéité et l'évolution des pratiques au cours des 10 dernières années génèrent une incertitude sur les tendances évolutives de la circulation du virus en France comme dans les autres pays européens.

Hépatite A

Le mandat 2017-2022 s'est caractérisé par une **évolution épidémiologique très marquée** pour l'hépatite A. Ces grandes variations se retrouvent dans l'évolution du nombre et de la nature des échantillons adressés au CNR. Ces échantillons (sérum et plus rarement selles) sont accompagnés d'une feuille de renseignements, disponible sur le site internet du CNR (<http://www.cnrva-vhe.org/>) qui précise le contexte de la demande.

La prise en charge suit le logigramme ci-contre. Nous identifions ainsi des échantillons adressés:

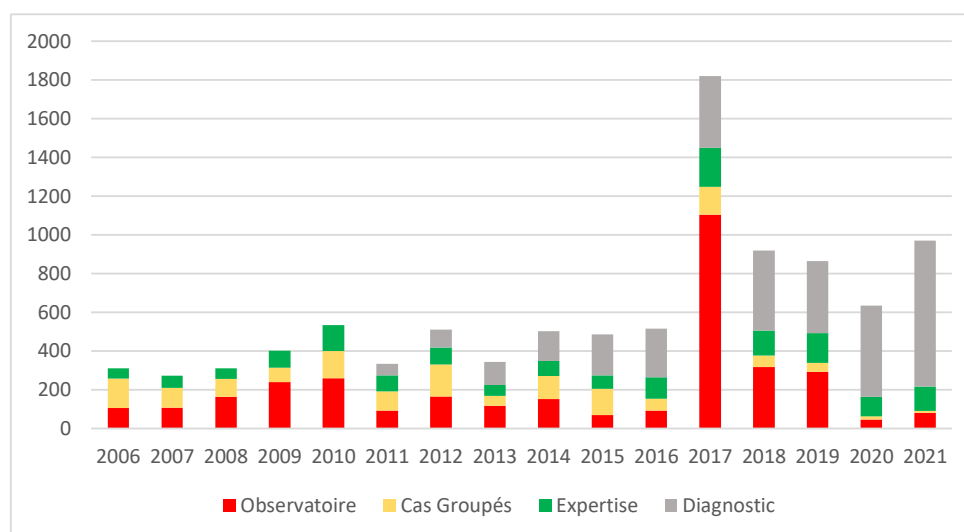
- Dans le cadre de l'observatoire des souches/investigation de cas groupés, qui présentent un ARN viral détectable
- À titre diagnostique quand le dosage d'IgM VHA est négatif ou non réalisé par le laboratoire demandeur, qui présentent un ARN viral indétectable
- À titre d'expertise quand des IgM ont été détectées par ce laboratoire et qui présentent un ARN viral indétectable. Entrent également dans cette catégorie les échantillons de l'EFS, et les suivis d'infection.



Logigramme de prise en charge des échantillons

Type d'échantillons reçus au CNR

Entre 2016 et 2021, le CNR a reçu 5725 échantillons dont 40% (variant de 9 à 69%, selon l'année) au titre d'observatoire/cas groupés, 14% (11 à 21%) au titre d'expertise et 46% (20 à 78%) à titre diagnostique, contre respectivement 54%, 17% et 29% pour la période 2012-2015.



Nature des échantillons adressés au CNR VHA

Echantillons diagnostiques

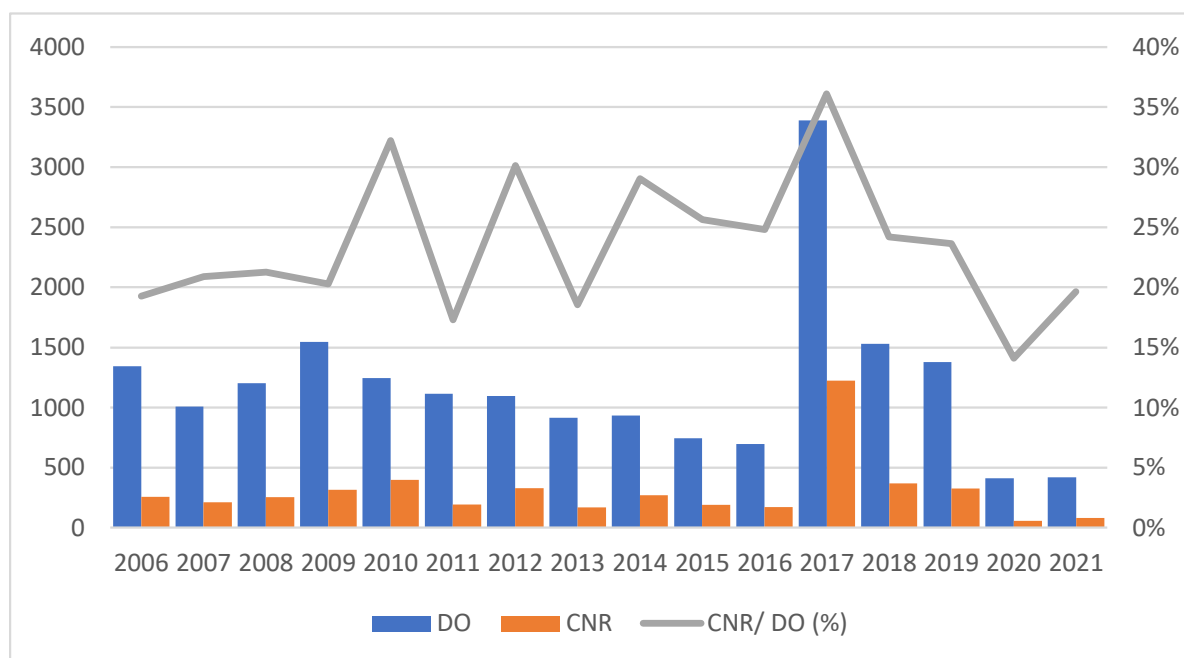
La composante de demandes diagnostiques est apparue en 2011, pour des cytolyses dans un contexte d'immunodépression avec des IgM VHA négatives. Elle est semble-t-il devenue systématique pour certains centres/cliniciens qui ne prescrivent plus d'IgM. Aucun cas d'hépatite A n'a été identifié dans ce contexte, et nous rappelons régulièrement à nos correspondants que les IgM VHA restent l'outil de référence pour le diagnostic d'une hépatite A aigüe. En cas de négativité malgré une forte suspicion, la répétition du test à 24-48h permet d'établir le diagnostic.

La qualification du don de selles pour transplantation de microbiote fécal reste une indication marginale, correspondant à 3,2% des demandes diagnostiques sur la période et variant de 0,7% en 2020 à 6,4% en 2016. Les actes diagnostiques sont dorénavant facturés au demandeur.

Echantillons virémiques (Observatoire et cas groupés) et représentativité

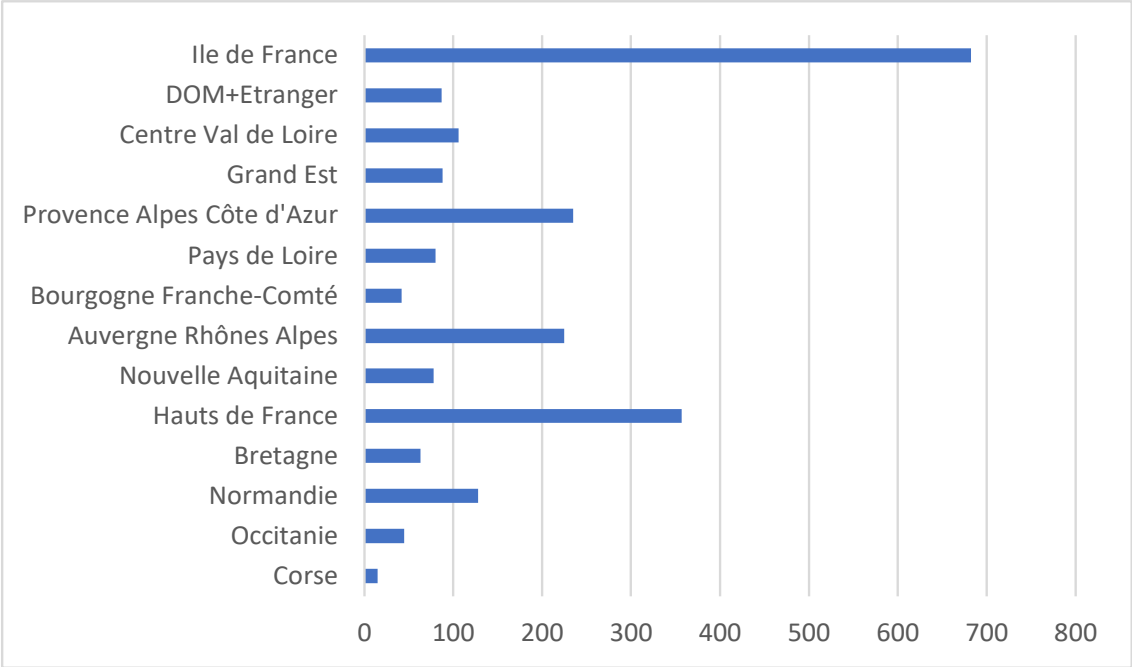
L'hépatite A est une infection à déclaration obligatoire depuis 2006. Le nombre de cas recensés par la DO avait atteint un plancher en 2016, avec 697 cas, France entière. Une épidémie de grande ampleur a ensuite touché l'Europe et d'autres pays occidentaux en 2017, avec 3391 cas déclarés en France, dont 3320 en métropole. Cette épidémie a touché particulièrement les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH), et s'est prolongée jusqu'en 2019. Et enfin, avec la pandémie liée au SARS-CoV-2 en 2020 et 2021, le nombre de cas s'est effondré, avec respectivement 411 et 422 déclarations.

Le croisement entre DO et base de données CNR n'est pas permis par la CNIL. Toutefois, le rapport entre nombre de souches génotypées et nombre de cas déclarés peut être une estimation de la représentativité des échantillons reçus au CNR, 24% en moyenne depuis 2006, avec des extrêmes observés durant la période 2016-2021 : 36% en 2017 (n=1224), au moment de l'épidémie HSH, avec surveillance active des cas, et 14% en 2020 (n=58).

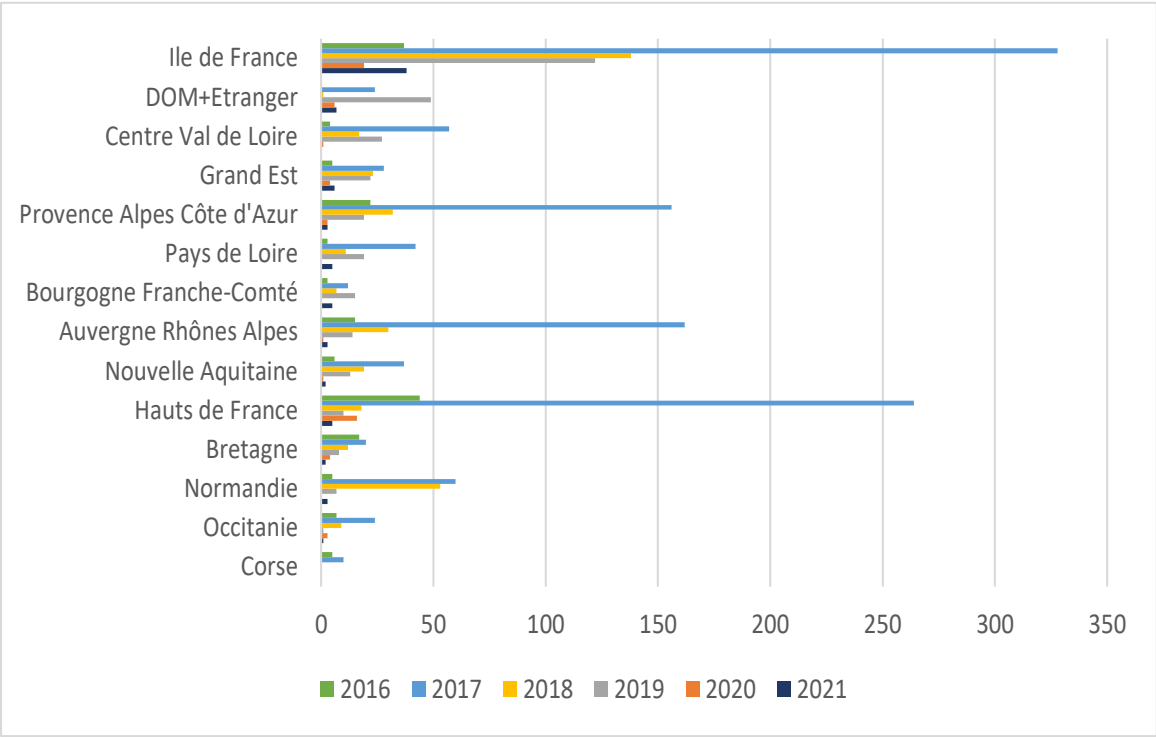


Nombre de cas génotypés (CNR), nombre de cas déclarés (DO) et ratio

En termes de représentativité régionale sur la période 2016-2021, le CNR a reçu des souches de l'ensemble des régions, avec des variations annuelles fonction des bouffées épidémiques. Ainsi, les régions Ile de France, Haut-de France, Auvergne-Rhône-Alpes et Provence-Alpes-Côte d'Azur, sont surreprésentées lors de l'épidémie 2017. Les pourvoyeurs de souches sont autant des laboratoires privés, des laboratoires de CHG et de CHU.



Origine des cas génotypés 2016-2021 (n= 2231)



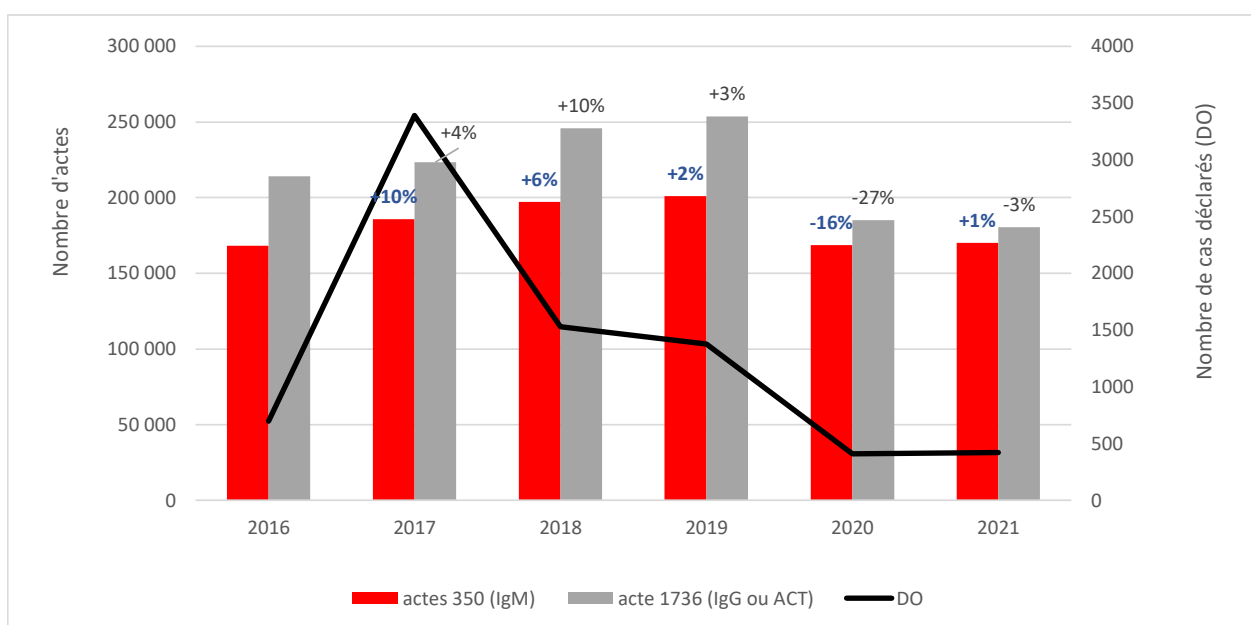
Origine des cas génotypés selon l'année

Echantillons non virémiques avec détection d'IgM par le laboratoire demandeur

La diminution très importante du nombre de cas déclarés et du nombre de cas génotypés au CNR en 2020 et 2021 peut être attribuée aux restrictions de déplacements internationaux et à l'efficacité des mesures barrière instaurées dans le cadre de la pandémie.

En revanche, elle ne semble pas attribuable de manière significative à un moindre recours au soin pour des symptômes peu sévères en ville. En effet l'activité diagnostique en ville est importante et a peu varié durant cette période, avec une moyenne de 181827 tests IgM annuels remboursés par l'assurance maladie (<https://assurance-maladie.ameli.fr/etudes-et-donnees/actes-biologie-medicale-biolam-2021>). Les années 2020 et 2021 se sont accompagnées d'une baisse de 16% et 15% des demandes de tests IgM par rapport à 2019, ce qui n'a pu contribuer qu'à la marge à la baisse du nombre de cas déclarés.

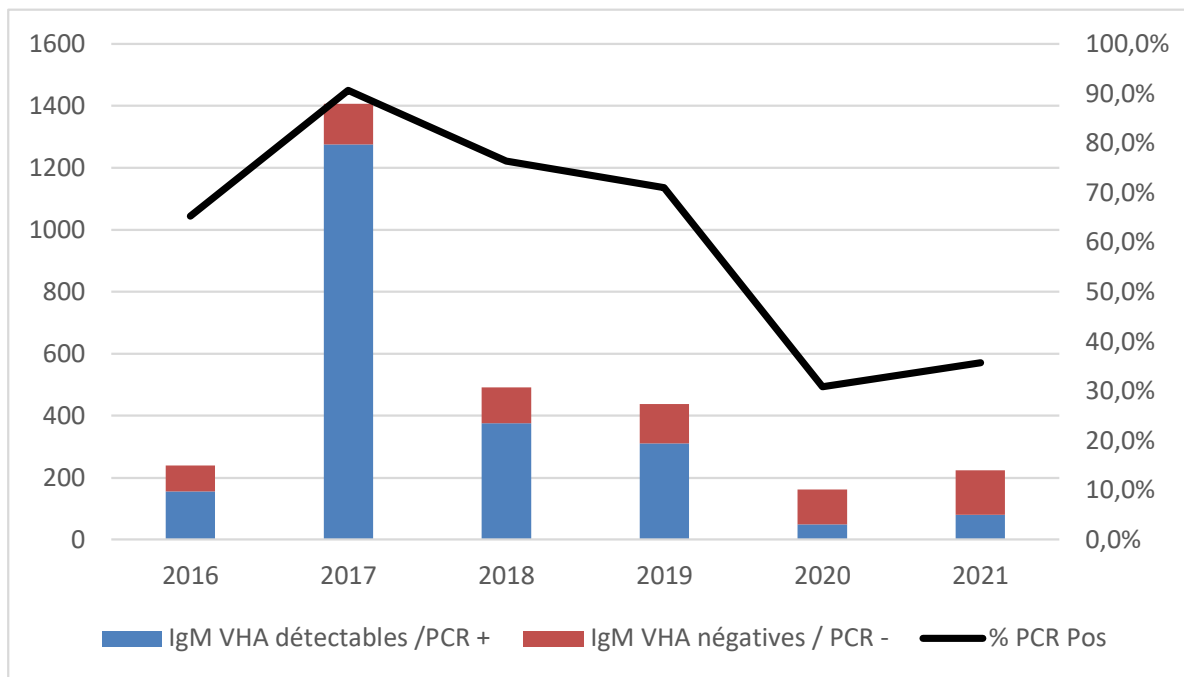
Cette activité diagnostique semble partiellement déconnectée de la situation épidémiologique du VHA, puisque l'on observe seulement une augmentation de 10% des demandes en 2017, alors que le nombre de cas déclarés a été multiplié pratiquement par 5.



Tests IgM et IgG remboursés par l'assurance maladie en ville par an et évolution annuelle relative, Et cas déclarés (DO), période 2016-2021

A spécificité analytique inchangée, la valeur prédictive positive d'un test de dépistage diminue quand la prévalence de l'infection diminue. Comme l'activité diagnostique IgM est relativement stable, on peut s'attendre à détecter plus de vrais positifs en période épidémique et plus de faux positifs, ou d'IgM d'activation polyclonale quand le virus circule peu.

C'est effectivement le cas : l'analyse des échantillons de sérum qui comportaient l'information d'un test IgM positif ou équivoque (échantillons EFS exclus), soit 2962 échantillons parmi les 5725 reçus, montre que la fréquence des échantillons virémiques (Vrais Positifs) varie de plus de 90% en 2017, à seulement 31% en 2020.



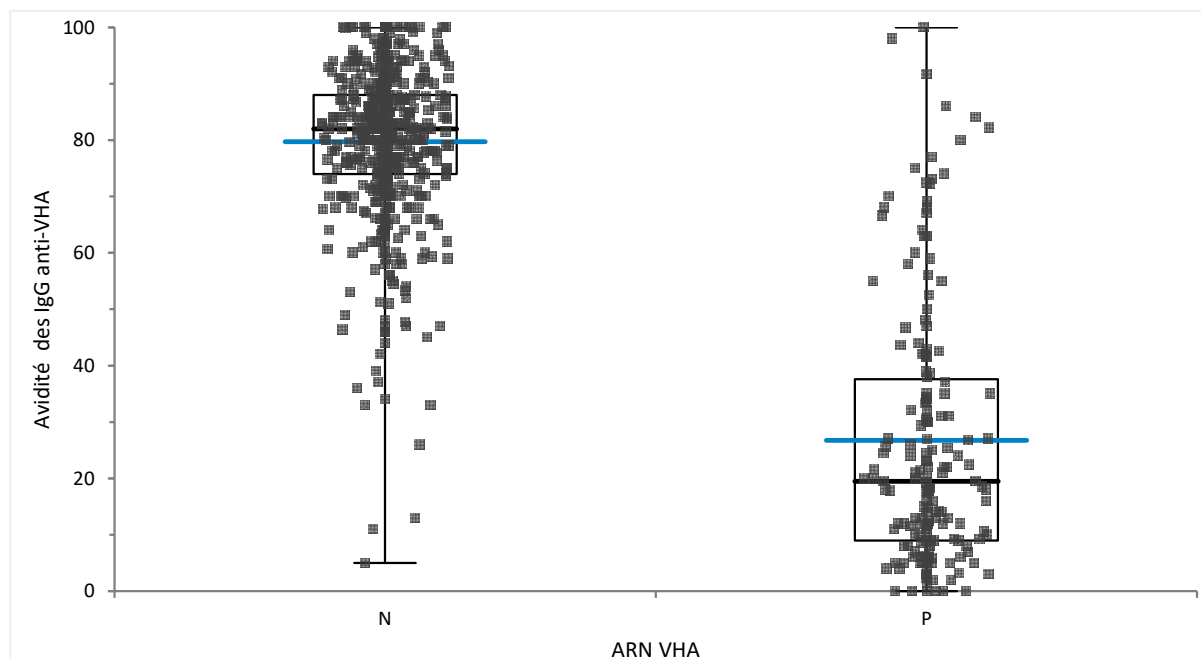
Détection de l'ARN VHA dans les échantillons présentant des IgM VHA positives ou équivoques

L'avidité des IgG anti-VHA a été réalisée sur 610/697 échantillons ARN négatif et 176/2248 échantillons ARN positif.

Parmi les échantillons ARN négatif, 19/610 (3%) avaient des IgG et des anticorps totaux anti-VHA négatifs et correspondaient à des faux positifs IgM.

Pour les 591 restants, l'avidité moyenne était de 80+/-13%, 22 avaient une avidité des IgG <50% avec des transaminases normales et pouvaient correspondre à des IgG d'origine vaccinale

A l'inverse, pour les échantillons ARN positif, l'avidité des IgG était en moyenne de 27+/-23%, 13 avaient une avidité des IgG >70% et correspondaient à des infections prolongées.



Avidité des IgG anti-VHA des échantillons selon le résultat de l'ARN VHA

Ces résultats soulignent la nécessité d'interpréter un résultat IgM positif en fonction du contexte clinique et épidémiologique, de la démographie du patient et des autres données biologiques.

Les données d'expertise présentées ci-dessus nous font proposer la démarche diagnostique suivante (Roque-Afonso, Future Virology 2010, et site CNR : cnrvha-vhe.org) :

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 mais faible probabilité épidémiologique ou démographique 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

Evaluation de tests diagnostiques

Hépatite E

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 ont développés des tests d'immuno-analyse et des tests moléculaires pour la détection des anticorps et la détection/ quantification du VHE. De nombreux tests ont fait l'objets d'évaluation par le CNR.

- **Evaluation des tests sérologiques :**

VIDAS IgG et IgM VHE (Biomérieux)

Le CNR VHE a évalué les performances des trousse sérologiques VIDAS® IgG et IgM VHE de Biomérieux. La sensibilité a été évaluée chez des patients immunocompétents et immunodéprimés en phase aiguë de l'infection (IgM VHE positif avec le test Wantai et ARN VHE positif) ou en phase plus tardive (IgM VHE positif avec le test Wantai et ARN VHE négatif) (Voir tableau ci-dessous). La spécificité a été évaluée pour des patients négatifs pour les anticorps anti-VHE et l'ARN viral (Abravanel J Clin Virol 2019).

Table : Performances cliniques de la trousse VIDAS

VIDAS IgM	Patients immunocompétents	Patients immunodéprimés
Sensibilité à la phase aiguë	97.7%	78.9%
Sensibilité à la phase tardive	59.2%	77.8%
Spécificité	99.3%	99.1 %

VIDAS IgG	Patients immunocompétents	Patients immunodéprimés
Sensibilité à la phase aiguë	95.29%	66.67%
Sensibilité à la phase tardive	91.55%	88.89%
Spécificité	96.70%	96.26%

Liaison® Murex IgG et IgM VHE (Diasorin)

Le CNR VHE a évalué les performances des trousses sérologiques Liaison® Murex IgG et IgM VHE de Diasorin. La sensibilité a été évaluée chez des patients immunocompétents et immunodéprimés en phase aiguë de l'infection (IgM VHE positif avec le test Wantai et ARN VHE positif) ou en phase plus tardive (IgM VHE positif avec le test Wantai et ARN VHE négatif) (Voir tableau ci-dessous). La spécificité a été évaluée pour des patients négatifs pour les anticorps anti-VHE et l'ARN viral (Abravanel, Viruses 2022).

Table : Performances cliniques des tests Liaison Murex

Liaison IgM	Patients immunocompétents	Patients immunodéprimés
Sensibilité à la phase aiguë	100%	93.75%
Sensibilité à la phase tardive	57.4%	71%
Spécificité	100%	100%

Liaison IgG	Patients immunocompétents	Patients immunodéprimés
Sensibilité à la phase aiguë	100%	84.3%
Sensibilité à la phase tardive	91.55%	78%
Spécificité	99%	100%

Test IgM VHE VIRCLIA

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 retrouvés 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.

Ag VHE sanguin et urinaire

La performance du test Ag VHE sanguin de Wantai a été évaluée par le CNR (Trémeaux J Clin Virol 2016). Le CNR VHE a également évalué l'intérêt de la détection et de la quantification de l'Ag de capsid 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 capsid 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).

- **Evaluation des tests de détection de l'ARN viral :**

Test ARN VHE Cobas 6800 de Roche

Le CNR VHE a évalué les performances du test ARN HEV de Roche, test de détection qualitative de l'ARN VHE sur l'automate Cobas 6800, en comparant les résultats avec la technique de PCR du CNR accréditée ISO15189. La sensibilité analytique a été déterminée en testant des réplicats de dilutions de souches de référence. Le test Cobas 6800 VHE a une excellente limite de détection (Table ci-dessous).

L'inclusivité a été évaluée avec 154 échantillons de plasma contenant différents HEV génotypes : génotype 3a, 3chi, 3e, 3f, 3 lapin, génotype 2. Quatre échantillons positifs avec la PCR du CNR étaient négatifs avec le test Cobas : il s'agissait de 3 échantillons de génotype 3 avec des virémies faibles (<1500 c/ml) et un échantillon de génotype 3 lapin avec une virémie élevée. L'inclusivité du test devra être vérifiée sur des virus de génotype 3 lapin et des génotypes 1 et 4. L'absence de contamination inter-échantillon a été également vérifiée. De plus, 28 échantillons de selles positives avec le test du CNR ont été testés sur le Cobas 6800 : 25 étaient positifs.

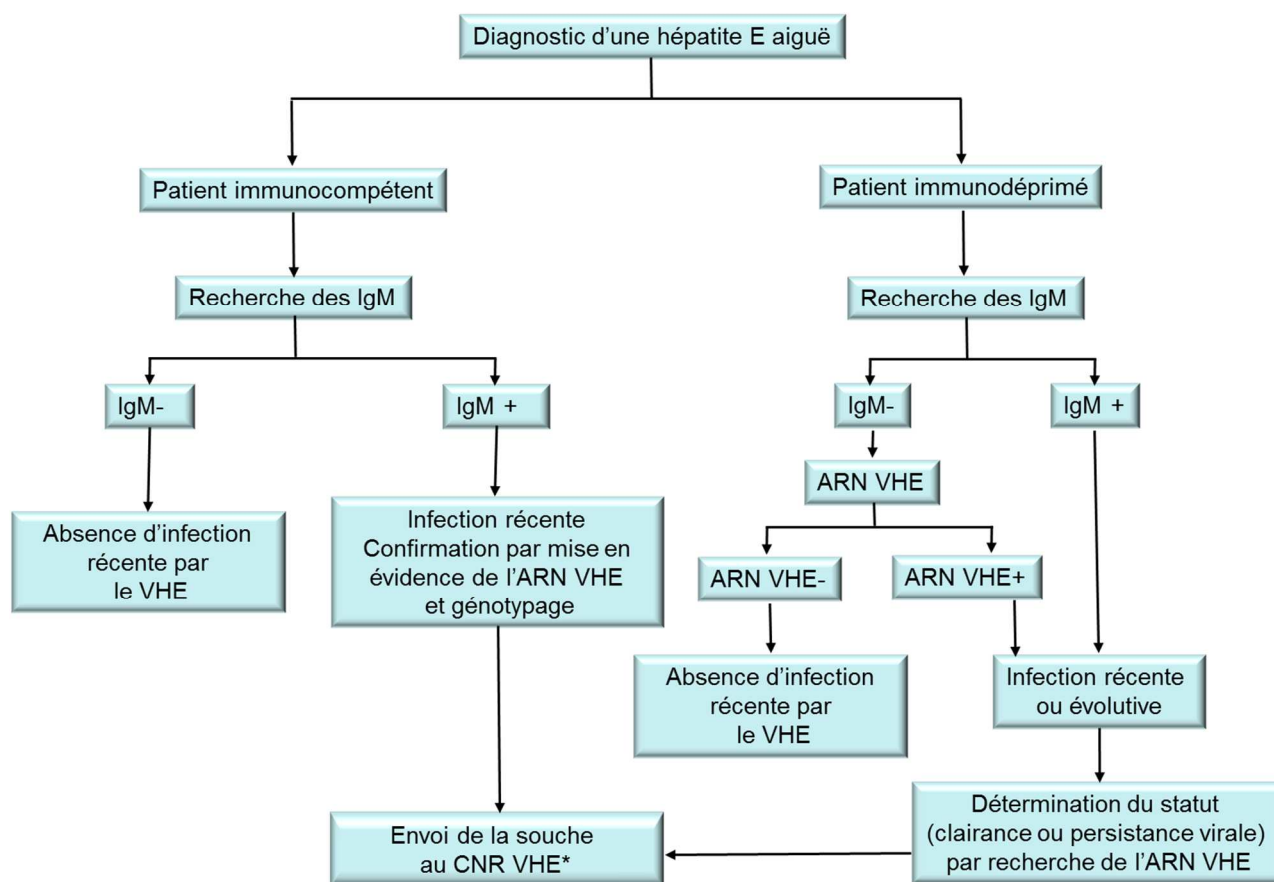
Test ARN VHE Realstar d'Altona

Le CNR VHE a évalué les performances du test Realstar ARN HEV version 2 d'Altona, test de détection quantitatif de l'ARN VHE, pour quantifier l'ARN HEV en Unité Internationales par ml, en comparant les résultats avec la technique de PCR du CNR accréditée ISO15189. La sensibilité analytique a été déterminée en testant des réplicats de dilutions de souches de référence. Le test Realstar ARN VHE a une excellente limite de détection. L'inclusivité a été évaluée avec 93 échantillons de plasma contenant différents HEV génotypes: génotype 3a, 3chi, 3e, 3f, 3 lapin. Les 93 échantillons étaient positifs avec le test Altona et les valeurs quantitatives obtenues avec le test Altona étaient corrélées à la technique du CNR.

Nous avons comparé les performances de la RT-PCR Realstar HEV RNA d'Altona et de 2 systèmes d'extraction des acides nucléiques 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).

Les évaluations nous ont conduits à proposer dès 2014 un algorithme de diagnostic des hépatites E aiguës (Kamar, Clin Microbiol Review, 2014 ; Izopet Presse Médicale 2015 et site internet du CNR : cnrvha-vhe.org).



Hépatite A

Exactitude des test IgG ou anticorps totaux autour du seuil d'immunisation anti-VHA

Nous avons été sollicités au cours du précédent mandat pour des suspicions de faux positifs en anticorps totaux VHA. Ce résultat devient critique si une décision de non vaccination est alors prise, avec l'exposition d'un voyageur adulte au risque d'infection sévère. De même, depuis 2012, il est recommandé de vacciner les candidats à la transplantation, qui n'ont pas toujours une réponse optimale. Depuis le rapport commandé par l'Afssaps en 2007 sur le dosage des anticorps totaux anti-VHA, les firmes ont mis sur le marché de nouveaux tests dont les performances n'ont pas été évaluées comparativement.

Nous avons testé l'exactitude et la précision de 8 réactifs dans l'intervalle 10-50 UI/ml, 20 UI/ml étant considéré comme seuil d'immunisation. Tous les réactifs identifiaient de manière fiable les patients pouvant bénéficier d'une vaccination (Mouna, J Clin Virol 2022).

Evaluation du test Altostar® HAV RT-PCR Kit 1.5 (Altona), pour détection de l'ARN VHA

Dans le cadre de la transition du marquage CE IVDD vers CE IVDR, la firme Altona a développé le réactif Altostar® HAV RT-PCR Kit 1.5 et cessé la production du réactif RealStar HAV RT-PCR kit.

Ce réactif a été évalué sur des dilutions du standard international (NIBSC code 15/276) et 42 sérums d'hépatite aiguë (génotypes IA, IB et IIIA). La limite de détection, calculée sur des répliquats de dilutions du

standard international était de 1,46 UI/ml (95% probit). La charge virale moyenne observée dans les échantillons cliniques était de 4.75 +/- 1.49 log UI/ml, variant de 1.59 à 7.49 log UI/ml.

3.2 Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé

Formation initiale et continue

En tant qu'hospitalo-universitaires, les membres du CNR participent aux enseignements concernant le VHA et le VHE dispensés aux étudiants en Médecine (DFGSM, DFASM), inscrits dans les écoles de Sages-Femmes, au DES de biologie médicale et en parcours scientifiques (Master 1 et Master 2).

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 2018 du REMIC (Référentiel en Microbiologie).

Le CNR a rédigé les chapitres sur l'hépatite A et sur l'hépatite E pour la 2^{ème} édition 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 et 13th edition (sous presse).

Le CNR a rédigé les chapitres Hépatite A et Hépatite E de l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale en 2022.

Moocs, e-learning, Webinaires

2019, 25 juin. Formation pour le protocole de délégation de tâches pour la vaccination par les IDE (sous l'égide de la SPILF) : **Hépatite A.**

<https://milo-formation.io/dtvac/static/chapitre?a638db336f8b4951a1a831bab7a7bb3f=2fe7b694-7188-4866-9991-6eb8953a98f1#1-14-1>

2020 : France Université Numérique (Institut Pasteur). MOOC Viral Hepatitis: Hepatitis A virus, pathophysiology, diagnosis et Hepatitis E pathophysiology and epidemiology, <https://www.fun-mooc.fr/fr/cours/viral-hepatitis/>

2021 : Le CNR VHE a réalisé un Webinaire pour la société Labroots sur le VHE « Hepatitis E virus: the need for improved testing » en 2021. [Hepatitis E virus: the need for improved testing \(labroots.com\)](https://labroots.com/hepatitis-e-virus-the-need-for-improved-testing)

2022 : 21 avril Webinaire Remic's Hépatite A et le XX juin Webinaire Remic's Hépatite E (sous l'égide de la Société Française de Microbiologie) : <https://www.sfm-microbiologie.org/replay-le-remics-vha/> et <https://www.sfm-microbiologie.org/replay-le-remics-vhe/>

2022 : 22 mars-24 mai 2022. France Université Numérique (Institut Pasteur). « Massive Open Online Course "MOOC" Waterborne Infections: Hepatitis A and E. <https://www.fun-mooc.fr/fr/cours/water-borne-infectious-diseases/>

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).

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

- **Activité de conseil aux professionnels**

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 notamment conseils diagnostiques, type de prélèvement, conditions d'acheminement, résultats.

- **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 ou mail sécurisé 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 coordonnées du CNR, (téléphone, fax et mail), les informations récentes, les rapports d'activité ainsi que les modalités d'envoi des prélèvements. Les rapports d'activité sont mis en ligne dès réception de son évaluation par le comité des CNR. Le site liste également les publications du CNR.

- **Conseil aux Autorités de Santé**

Les responsables des laboratoires répondent aux sollicitations des autorités

Pr Jacques Izopet

- **ANSES** : 2016, Groupe de travail « Attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire », Audition relative à la surveillance du VHE
- **ANSM** : 2017-2019, Groupe de travail sur l'évaluation du risque de transmission du VHE par transfusion
- **HAS** : 2017, audition dans le cadre des recommandations sur les actes de biologie médicale relatifs au diagnostic et au suivi de l'hépatite E
- **ECDC** : 2017-2019, réseau HEVnet, réunion 26-27 Octobre 2017, réunion du 22 Mars 2019

Pr Anne-Marie Roque

- **ECDC** : 2016, Rapid consultation on hepatitis A virus characterization. Les résultats publiés en 2019 montrent que sur les 31 pays de l'UE, 15 avaient une centralisation des échantillons HAV positifs et 14, dont la France, une capacité de séquençage avec des outils comparables permettant le partage de données. En revanche, il n'y a pas de centralisation de l'ensemble des échantillons positifs en France. (**Enkirch, EuroSurveill 2019**)
- **ANSES** : 2016, Groupe de travail « Attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire », Audition relative à la surveillance du VHA
- Santé Publique France : 2016, Bilan des 10 premières années de DO (**Couturier, BEH 5, Mars 2018**)
- **DGS/CORRUS** : 2017, Augmentation de l'incidence du VHA avec la survenue de cas groupés dans plusieurs régions de France métropolitaine
- **ANSES** : 2019, rédaction de la Fiche de description de danger microbien transmissible par les aliments, Virus de l'hépatite A *
- **ANSES** : 2020, participation à une revue systématique « Risk factors for sporadic hepatitis A infection: a systematic review and meta-analysis » (**Thebault, Microbial Risk Analysis, Vol 17, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.mran.2020.100155>**)

3.3 Contribution à la surveillance épidémiologique

3.3.1 Hépatite E

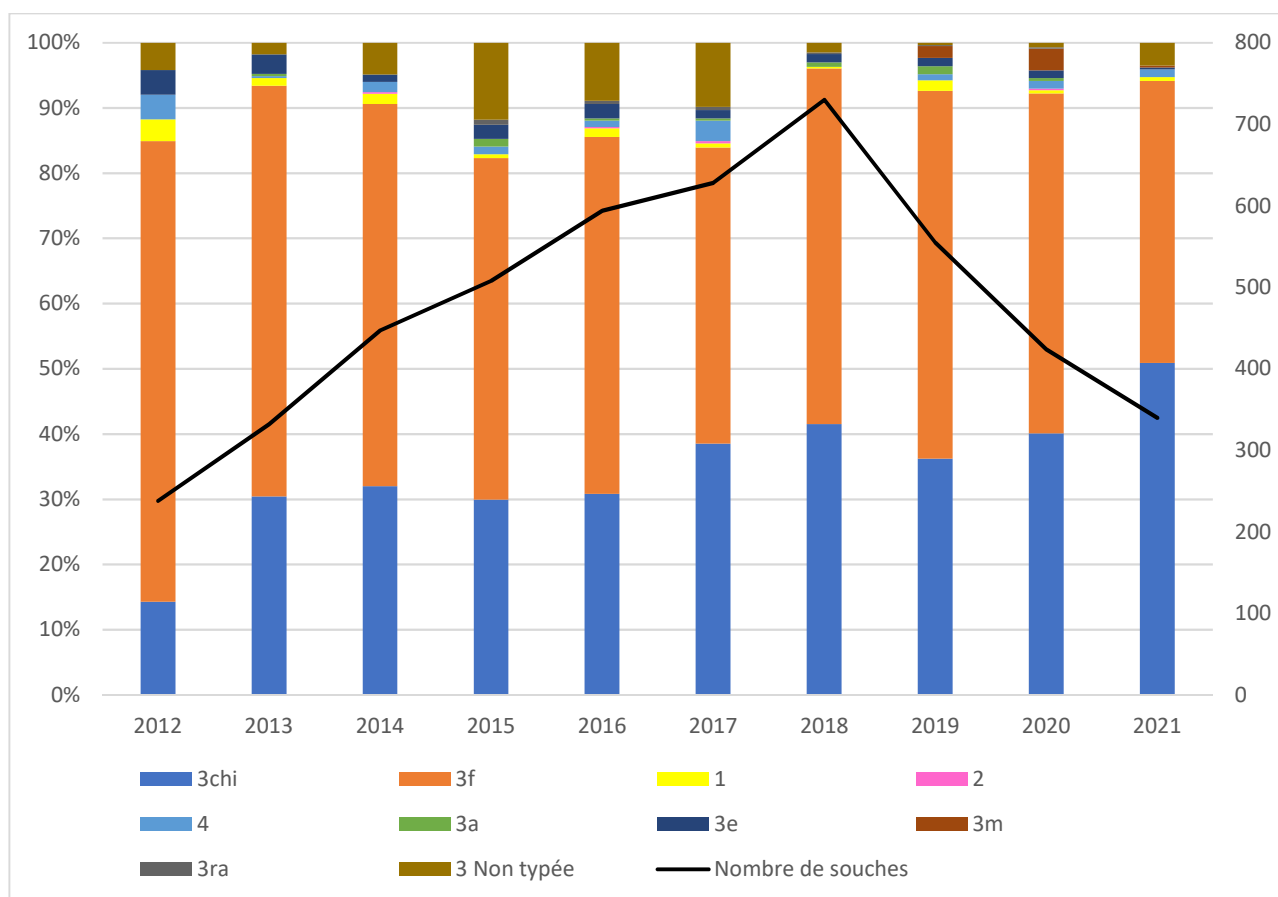
Surveillance des cas symptomatiques

4804 souches ont été caractérisées par le CNR VHE depuis 2012. La classification en génotype et sous-type a été réalisée selon la classification proposée récemment par un groupe d'experts internationaux dont font partie les membres du CNR (Smith, J Gen Virol, 2020). La répartition des génotypes caractérisés figure ci-dessous :

Année	Nombre de souches	1	2	4	3a	3b	3chi	3d	3e	3g	3f	3m	3ra	3 non ss-typé
2012	238	8	0	9	0	0	34	0	9	0	168	0	0	10
2013	333	4	0	1	1	1	101	0	10	0	209	0	0	6
2014	447	7	1	7	0	0	143	0	5	0	262	0	0	22
2015	515	3	0	6	6	2	152	1	11	4	266	0	4	60
2016	541	8	1	6	2	0	183	0	13		325	0	3	53
2017	566	4	2	20	2	0	242	0	8		285	0	3	62
2018	719	2	0		5	0	303	0	9	0	398	0	2	11
2019	555	9	0	5	7		201		7		313	10	1	2
2020	420	2	1	5	2	0	170	0	5	0	221	14	1	3
2021	365	2	0	4	0	0	173	0	1	0	147	1	0	12

Les souches de VHE-génotypes 1 et 2 correspondent à des hépatites E aiguës importées (Asie et Afrique) alors que les souches de VHE-génotypes 3 et 4 correspondent à des hépatites E aiguës autochtones.

Le graphe ci-dessous représente l'évolution des génotypes et des sous-types au sein du génotype 3 retrouvés chez les patients symptomatiques depuis 2012. L'utilisation d'un panel de séquences de référence (Smith, J Gen Virol 2020) permet d'objectiver l'augmentation dans le temps des souches HEV-3 du groupe chi qui deviennent aussi fréquentes que les souches de sous-type 3f. Parmi les souches du groupe 3chi, la majorité sont 3c. De nouveaux sous-types ont également été répertoriés, notamment le sous-type 3m.



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 ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification et typage des souches. Les virémies des donneurs allaient de 1,7 à 7,3 $\log_{10}$ UI/ml. La distribution des génotypes retrouvés chez les donneurs virémiques était la suivante :

Année	Nombre de souches	3a	3chi	3e	3f	3 lapin	3m	3 non sous-typé	4b
2017	36	0	19 52,8 %	1 2,8 %	12 33,3 %	2 5,6 %		2 5,6 %	
2018	55	1 2%	33 66%	0	15 30%	0		1 2%	
2019	43	0	28 65.1%	0	14 32.6%	0	0	0	1 2.3%
2020	38	0	24 63.2%		12 31.6%		2 5.2%		
2021	38	0	23	0	15	0	0	0	0

On observe presque exclusivement des souches de génotype 3 avec une prépondérance des souches 3c depuis 2017.

Pour 105 échantillons, le génotype n'a pas pu être déterminé du fait d'une charge virale trop faible.

Surveillance nationale en collaboration avec le Centre de Transfusion Sanguine des Armées (CTSA)

Dans le cadre du dépistage génomique réalisé par le CTSA chez tous les donneurs de plasma, les échantillons positifs (n=20 en 2019 ; n=24 en 2020 et n=18 en 2021) ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification et typage des souches.

Les virémies des donneurs allaient de 1,4 à 5,7 log₁₀ UI/ml. La distribution des génotypes retrouvés chez les donneurs virémiques était la suivante :

Année	Nombre de souches typées	3chi	3f
2019	13	7 53,8%	6 46,2%
2020	18	17 94,5%	1 5,5%
2021	6	3 50%	3 50%

Pour 25 échantillons, le génotype n'a pas pu être déterminé du fait d'une charge virale trop faible.

Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

- o En collaboration avec les équipes de l'Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, nous avons observé l'absence d'efficacité *in vivo* du sofosbuvir associé à la ribavirine chez un sujet immunodéprimé préalablement non répondeur à la ribavirine (Todesco, Antiviral Therapy, 2018). Ce résultat va dans le même sens que l'étude réalisée auparavant en collaboration avec des collègues du Royaume Uni (Donnelly, Gastroenterology 2017).
- o 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).
- o 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 mutations dans la polymérase virale avant traitement ne semble pas présenter d'intérêt clinique (Kamar, Clin Infect Dis 2019).

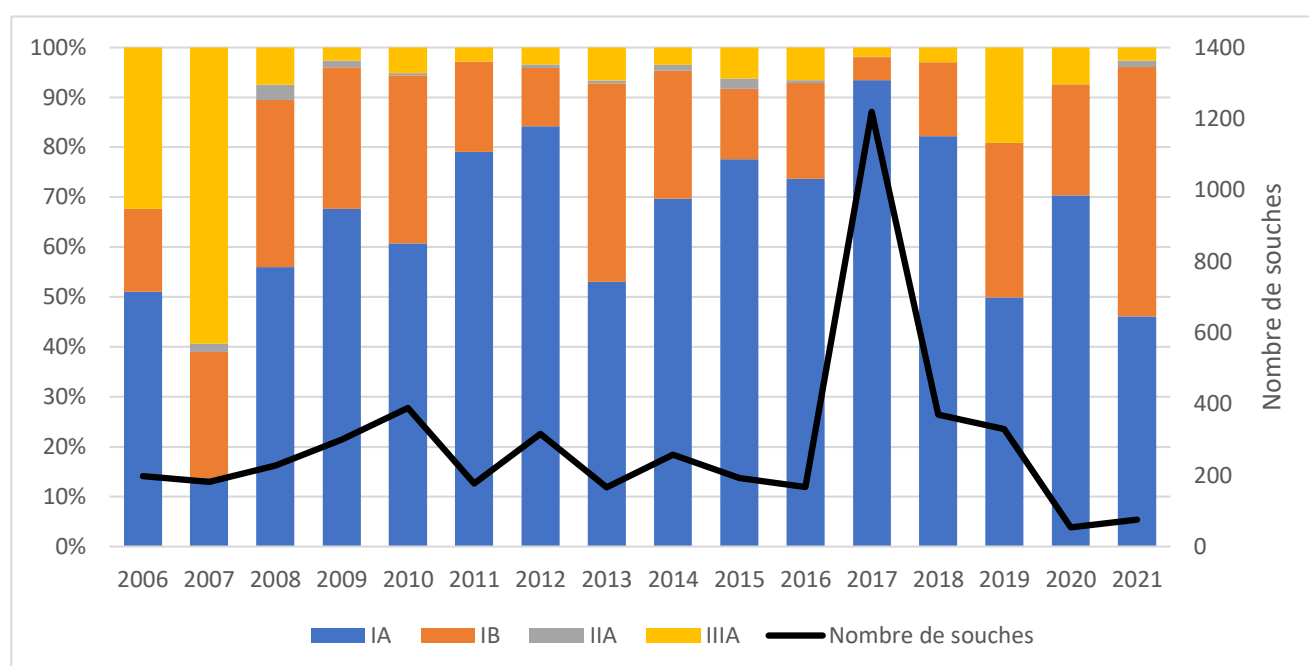
3.3.2 Hépatite A

La France étant un pays de très faible endémicité, les souches isolées correspondent à des importations, mais peuvent persister et diffuser plus ou moins longtemps, de quelques semaines à quelques années, dans la population susceptible, avant d'être remplacées par d'autres souches, également importées.

L'évolution annuelle de la répartition des génotypes est une première approche pour observer cette dynamique. Depuis 2008, le génotype IA, est (re)devenu majoritaire, représentant 50 à 90% des infections génotypées et remplaçant ainsi le génotype IIIA, qui avait diffusé principalement dans la communauté des gens du voyage, après une introduction en 2004 à partir de Madagascar.

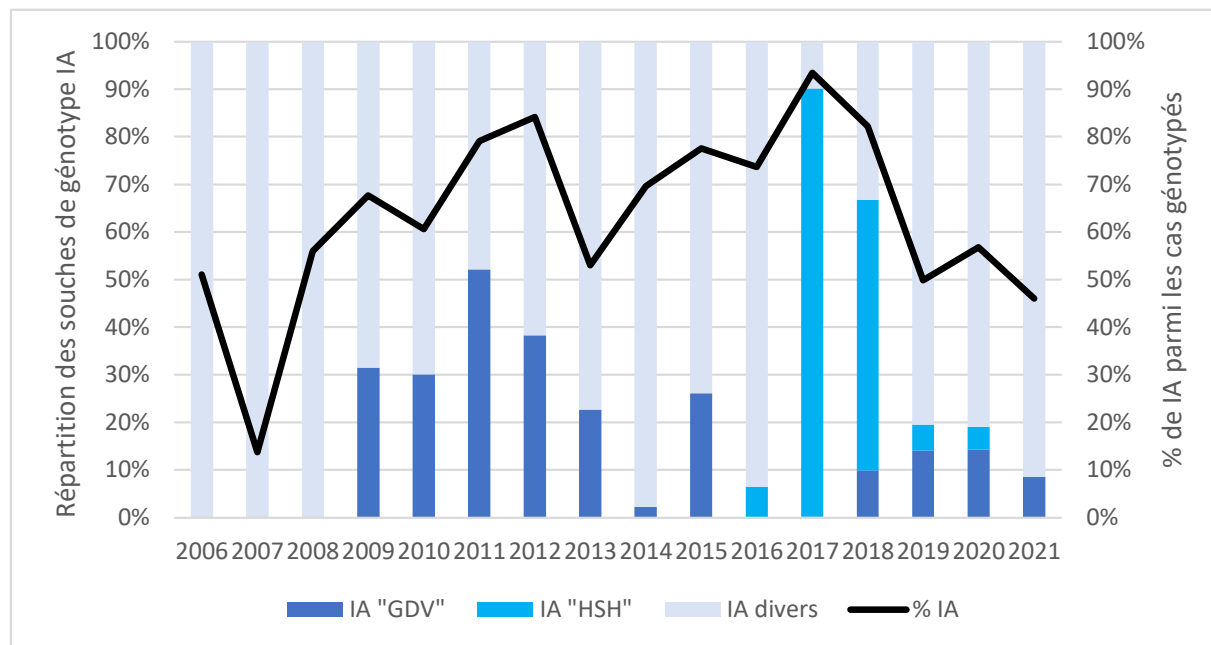
Table des génotypes VHA caractérisés

Année	Nombre de souches	IA	IB	IIA	IIIA
2012	316	266	37	2	11
2013	166	88	66	1	11
2014	257	179	66	3	9
2015	192	149	27	4	12
2016	167	123	32	1	11
2017	1215	1139	56	1	23
2018	370	304	55	0	11
2019	329	164	102	0	63
2020	54	38	12	0	4
2021	76	35	38	1	2



Evolution de la répartition des génotypes (2006-2021)

Le génotype IA présente une grande diversité génétique, mais à partir de 2009, la souche GQ506663 (dite IA « GDV ») est introduite et persiste pendant plusieurs années, principalement au sein de la communauté des gens du voyage (en bleu foncé dans la figure ci-dessous). En 2016, malgré le faible nombre de cas, le CNR a pu détecter, suite à une alerte Européenne, l'émergence des 3 souches (VRD_521_2016, RIVM-HAV16-090 et V16-25801), qui seront responsables de l'épidémie 2017 et seront détectées jusqu'en 2020 (souches dites IA « HSH », dans la figure ci-dessous).



Evolution des souches de génotype IA identifiées au CNR

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

Le dépistage du génome viral VHA est systématiquement réalisé sur les plasmas destinés au fractionnement. A l'occasion de l'épidémie 2017, les échantillons nous ont été adressés et nous avons pu montrer la valeur ajoutée de la collaboration avec l'EFS que nous pérenniserons dans le futur mandat.

Une première étude a montré la multiplication par 5 de la prévalence des dons virémiques en 2017, au moment de l'épidémie « HSH », par rapport à la période pré-épidémique 2015-2016 : 4.42/million vs. 0.86/million. Les souches associées à l'épidémie HSH étaient retrouvées dans 12/13 des cas identifiés en 2017, mais un seul des 11 hommes se déclarait HSH. Cette étude a mis en évidence que les facteurs de risque sexuels étaient sous-déclarés et/ou insuffisamment recherchés et que les souches épidémiques avaient diffusé en population générale. (*Gallian, EuroSurveill 2018*).

Une 2^{ème} étude a montré la persistance d'une prévalence élevée des dons positifs en 2018, malgré une situation considérée contrôlée en population générale avec une réduction de 50% des cas déclarés. Les souches de l'épidémie 2017 ayant diffusé en population générale étaient détectées ainsi qu'un nombre accru de souches importées. Cette étude a mis en évidence la probable sous-déclaration des cas en population générale (*Gallian EuroSurveill 2019*).

3.3.3 Surveillance VHE/VHA en collaboration avec le CNR des entérovirus

L'analyse des eaux usées est un outil sensible pour détecter la circulation de virus dans la population. En 2018, le CNR des entérovirus a montré sur la période octobre 2014-octobre 2015 la présence fréquente de VHA et de VHE dans les eaux usées autour de Clermont-Ferrand. Pour le VHA, les souches identifiées ne correspondaient pas aux souches isolées parmi les cas hospitalisés et n'étaient pas retrouvés chez d'autres

patients étudiés au CNR (**Bisseux, EuroSurveill 2018**). En revanche, les souches de VHE identifiées dans les eaux usées étaient similaires aux souches identifiées chez les patients.

La surveillance des eaux usées permet ainsi de surmonter le biais d'échantillonnage lié pour le VHA aux infections asymptomatiques, à la sous-déclaration, et au caractère volontaire de l'envoi des souches au CNR. Une surveillance à l'échelle nationale pourrait ainsi se mettre en place pour mieux appréhender la circulation virale.

3.4 Contribution à l'alerte

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

3.4.1 Hépatite E

Le CNR VHE a été impliqué dans l'investigation de cas groupés ou phénomènes anormaux et dans des enquêtes transfusionnelles.

Expertises à la demande des ARS

- o 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).
- o 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.

Expertise de cas transfusionnels d'hépatite E à la demande de l'EFS

Entre 2017 et 2021, le CNR a été sollicité pour l'investigation de 42 cas d'hépatite E avec suspicion de contamination transfusionnelle : 4 en 2017, 10 en 2018, 15 en 2019 et 7 en 2020 et 6 en 2021. Ces enquêtes, dites ascendantes, ont pour objectif d'identifier un donneur infecté par le VHE potentiellement contaminant.

Pour 13 enquêtes, un donneur source de produits sanguins labiles a été trouvé ARN VHE positif et les analyses des souches réalisées au CNR ont montré une homologie de séquences entre les souches VHE du receveur et la souche VHE du donneur.

Pour 2 enquêtes réalisées en 2020, une homologie partielle de séquences a été retrouvée entre la souche du donneur et celle du receveur, ne permettant pas de conclure formellement à une contamination d'origine transfusionnelle.

Pour 2 enquêtes distinctes réalisées en 2018, les souches d'un donneur et d'un receveur n'ont pas pu être typées du fait de la faible charge virale, rendant impossible la comparaison des séquences.

Pour 5 enquêtes (1 en 2018 et 4 en 2019), un don virémique a été identifié mais la comparaison des souches du donneur et du receveur n'a pas montré d'homologie de séquence, écartant une transmission transfusionnelle.

Enfin, pour 20 enquêtes, les dons de produits sanguins labiles administrés aux patients ayant contracté une hépatite E ont été testés au laboratoire de virologie de Toulouse. Aucun échantillon n'était positif, écartant une contamination transfusionnelle.

3.4.2 Hépatite A

Investigation de cas groupés

Le CNR est contacté directement par les ARS/CIRE ou via Santé Publique France en cas de cas groupés. Les ARS sollicitent les laboratoires de diagnostic pour l'envoi des échantillons positifs en IgM au CNR. En retour, le CNR transmet l'analyse des souches avec les éventuelles hypothèses quant aux sources et modes de transmission.

Fin 2016, suite à des requêtes « EPIS » sur des souches de génotype 1A associées à des cas groupés dans la communauté HSH au Royaume Uni (souche VRD_521_2016), Pays bas (souches RIVM-HAV16-090) et Allemagne (souche V16-25801), le CNR a identifié les premiers cas français dus à ces souches, responsables de la flambée épidémique en 2017.

Une étude européenne sous l'égide de l'ECDC, menée sur les données juin 2016-mai-2017, a montré que les sujets infectés par ces souches (1400/4096) étaient le plus souvent identifiés comme HSH (84%) et non vaccinés (92%) (**Ndumbi, EuroSurveill 2018**). En France, une étude menée entre janvier et juin 2017 à Lyon a montré un taux d'attaque élevé chez des HSH co-infectés par le VIH (2.7%) et chez des HSH usagers de PrEP (2.9%), malgré un taux d'immunisation important de ces deux populations (78.2% et 75.7%) (**Charre, Eurosurveill 2017**), indiquant que les recommandations vaccinales existantes doivent être renforcées notamment chez les plus jeunes. La surveillance renforcée des cas associés à ces souches, avec des questionnaires spécifiques, a permis en Seine Maritime, le déploiement de campagnes de vaccination ciblées sur les lieux fréquentés par les HSH, et les applications de rencontre ont été utilisées pour la promotion de ces campagnes (**Le Bourhis-Zaimi, BEH 2017 ; Nicolay, BMC Public Health 2020**).

Ce contexte épidémique compliquait la détection de cas groupés liés à d'autres facteurs de risque. Comme ailleurs en France, une augmentation du nombre de cas notifiés avait été observée en Nouvelle Aquitaine mais la notification de plusieurs cas la même semaine, dans plusieurs villes proches, avec augmentation du nombre de femmes parmi les cas suggéraient un événement surajouté : une même souche a été identifiée parmi les 22 cas analysés au CNR et la courbe épidémique évoquait une source unique de contamination. La fréquentation d'un même restaurant de la ville a été identifiée dans 16 cas dont le cas index qui y avait travaillé pendant sa phase d'incubation (**Lambert, communication ESCAIDE 2018**).

Devant la recrudescence des cas d'hépatite A à la Réunion entre Janvier et Aout 2017, le CNR a montré la co-circulation de souches de génotype IIIA importées de Madagascar et avec des transmissions secondaires, et IB, importées de Maurice. La souche IA RIVM HAV16-090 n'a été retrouvée que chez deux patients montrant que cette recrudescence des n'était pas liée aux souches observées en Europe à la même période dans la communauté HSH (**Point épidémiologique de la Cire Océan Indien- N° 42 du 24 août 2017**).

Expertise de cas transfusionnels d'hépatite A à la demande de l'EFS

La transmission transfusionnelle du VHA est exceptionnellement rapportée, en raison de la faible prévalence des dons virémiques. Là encore, l'augmentation de la prévalence des dons virémiques en 2017 et 2018 a conduit à l'identification de 2 infections liées à la transfusion de concentrés plaquettaires en avril 2017 et aout 2018. Dans les 2 cas, l'information post-don et le dépistage du génome viral dans le plasma destiné au fractionnement ont précédé le développement de manifestations cliniques chez les receveurs (**Lefevre, Emerg Infect Dis. 2022**).

4. LISTE DES PUBLICATIONS 2012-2022

Laboratoire candidat – Equipe du Pr Jacques Izopet

Publications nationales

1. Merviel C, Mansuy JM, Dubois M, Izopet J. Mise au point d'une technique multiplex de dépistage génomique VHE–VHA. Pathologie Biologie 2012;60(2):95-105.
2. Bonnet D, Kamar N, Izopet J, and Alric L. Hépatite E : une maladie émergente. Rev Med Interne 2012;33:328-34.
3. Abravanel F, Lhomme S, Dubois M, Peron JM, Alric L, Kamar N, Izopet J. Le virus de l'hépatite E. Med Mal Infect 2013;43(7):263-70.
4. Lhomme S, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Dubois M, Mansuy JM, Péron JM, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. L'hépatite E : une infection virale de mieux en mieux connue. Feuilles de Biologie 2014;vol 312 – 23-30.
5. Lhomme S, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Dubois M, Mansuy JM, Peron JM, Alric L, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. L'hépatite E. Encyclopédie Médicaux Chirurgicales (EMC) 2014.
6. Gallian P, Piquet Y, Assal A, Djoudi R, Izopet J, Tiberghien P. Virus de l'hépatite E, implications en Transfusion Sanguine. Transfusion Clinique et Biologique 2014;21:173-7.
7. Izopet J, Lhomme S, Abravanel F, Roque AM, Kamar N. Virus de l'hépatite E. Presse Med 2015;44:328-332.
8. Kamar N, Rostaing L, Alric L, Peron JM, Izopet J. Traitement de l'infection par le virus de l'hépatite E. Presse Med 2015;44:339-342.
9. Blasco-Perrin H, Abravanel F, Péron JM. L'hépatite E en France, données épidémiologiques et cliniques récentes. Hépatogastro & Oncologie Digestive 2015;22:795-802.
10. Castanier M, Abravanel F, Kamar N, Péron JM. Données récentes sur l'hépatite E. Hépatogastro & Oncologie Digestive 2015;22:795-802.
11. Guillois Y, Abravanel F, Miura T, Pavio N, Vaillant N, Lhomme S, Le Guyader F, Rose N, Le Saux JC, King LA, Izopet J, Couturier E. Epidémie d'hépatite E associée à la consommation de porc grillé à la broche, Bretagne 2013. Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire, 2016.
12. Izopet J, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Abravanel F, Kamar N. Le virus de l'hépatite E dévoile progressivement ses secrets. Feuilles de Biologie 2016;vol 331.
13. Izopet J. Hépatite E. Revue du Praticien 2016;30:857-858.
14. Izopet J (Mallet, Meynard, Sogni) : Hépatite E : épidémiologie et transmission. La Lettre de l'Infectiologue 2017;3 :116-119.
15. Izopet J, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Kamar N, Abravanel F. VHE et risque receveur. Transfusion Clinique et Biologique 2017;24 :176-181.
16. Izopet J. HEV and transfusion-recipient risk. Annales pharmaceutiques Françaises 2018;76:89-96.
17. Lhomme S, Abravanel F, Capelli N, Marion O, El Costa H, Jabrane-Ferrat N, Chen Q, Gouilly J, Champagne E, Chapuy-Regaud S, Kamar N, Izopet J. Virus de l'hépatite E: de l'organisme infecté à la réponse cellulaire Virologie 2018;22:239-250.
18. Izopet J, Marion O, Kamar N, Lhomme S. Réplication du virus de l'hépatite E dans les cellules intestinales : une nouvelle facette de ce virus dévoilée. Médecine/Sciences 2021;37:320-322.

Publications internationales

1. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Xia NS, Ijaz S, Izopet J, Dalton HR. Hepatitis E. Lancet 2012;379:2477-88.
2. Kamar N, Legrand-Abravanel F, Izopet J, and Rostaing L. Hepatitis E virus: what transplant physicians should know. Am J Transplant 2012;12:2281-7.
3. Legrand-Abravanel F, Mansuy JM, Huynh A, Péron JM, Récher C, Izopet J. Low risk of hepatitis E virus reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. Journal of Clinical Virology 2012;54:152-155.
4. Kamar N, Wecklawiak H, Guilbeau-Frugier C, Legrand-Abravanel F, Cointault O, Ribes D, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Guitard J, Lavayssière L, Nogier MB, Sallusto F, Muscari F, Izopet J, Rostaing L. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients Transplantation 2012;93:617-623.
5. Abravanel F, Mansuy JM, Huynh A, Kamar N, Alric L, Peron JM, Recher C, and Izopet J. Low risk of hepatitis E virus reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. J Clin Virol 2012;54:152-5.
6. Abravanel F, Sandres-Saune K, Lhomme S, Dubois M, Mansuy JM, and Izopet J. Genotype 3 diversity and quantification of hepatitis e virus RNA. J Clin Microbiol 2012;50:897-902.
7. Delarocque-Astagneau E, Abravanel F, Moshen A, L. Le Fouler L, Gad RR, El-Daly M, Ibrahim EM, El-Aidy S, Lashin T, El-Hoseiny M, Izopet J, Mohamed MK, Fontanet A, and Abdel Hamid M. Epidemiological and virological characteristics of symptomatic acute hepatitis E in Greater Cairo, Egypt. Clin Microbiol Infect 2012;18:982-8.
8. Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, Lhomme S, Marchandeau S, Boucher S, Kamar N, Abravanel F, and Guerin JL. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. Emerg Infect Dis 2012;18:1274-81.
9. Kamar N, Izopet J, and Rostaing L. No reactivation of hepatitis e virus after kidney retransplantation. Am J Transplant 2012;12:507-8.
10. Kamar N, Weclawiak H, Guilbeau-Frugier C, Legrand-Abravanel F, Cointault O, Ribes D, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Guitard J, Sallusto F, Muscari F, Peron JM, Alric L, Izopet J, and Rostaing L. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. Transplantation 2012;93:617-23.
11. Legrand-Abravanel F, Kamar N, Sandres-Saune K, Lhomme S, Mansuy JM, Muscari F, Sallusto F, Rostaing L, and Izopet J. Hepatitis E virus infection without reactivation in solid-organ transplant recipients, France. Emerg Infect Dis 2012;17:30-7.
12. Lhomme S, Abravanel F, Dubois M, Sandres-Saune K, Rostaing L, Kamar N, and Izopet J. Hepatitis E virus quasispecies and the outcome of acute hepatitis E in solid-organ transplant patients. J Virol 2012;86:10006-14.
13. 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 VHE genotype 3 antigens in detecting anti-VHE IgG in a european population Plos One 2013;57:222-226.
14. 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 VHE RNA in acute or chronic infections. J Clin Microbiol 2013;51:1913-1916.
15. 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.
16. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Miedougé M, Péron JM, Alric L, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Performance of anti-VHE assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. J Clin Virol 2013;58:624-628.
17. Lhomme S, Dubois M, Abravanel F, Top S, Bertagnoli S, Guerin JL, Izopet J. Risk of zoonotic transmission of VHE from rabbits. J Clin Virol 2013;58:357-362.

18. Kamar N, Izopet J, Rostaing L. Hepatitis E virus infection. *Curr Opin Gastroenterol* 2013;29:271-278.
19. Kamar N, Rostaing L, Izopet J. Hepatitis e virus infection in immunosuppressed patients: natural history and therapy. *Semin Liver Dis* 2013;33:62-70.
20. Kamar N, Izopet J, Dalton HR. Chronic Hepatitis E virus infection and treatment. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 2013;3:134-140.
21. Kamar N, Izopet J. Does chronic hepatitis E virus infection exist in immunocompetent patients? *Hepatology* 2014;60:427.
22. 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 VHE persistence in immunocompromised patients. *J Infect Dis* 2014;209:300-303.
23. 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 Infect Dis* 2014;209:1900-1906.
24. Kamar N, Izopet J. Does chronic hepatitis E virus infection exist in immunocompetent patients? *Hepatology* 2014;60:427.
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. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients, *New England J Med* 2014;370:1111-20.
26. Laperche S, Izopet J, Lefrère JJ. Safety measures to prevent hepatitis E virus transmission by blood transfusion. *Transfusion* 2014;54:2134-2135.
27. Robbins A, Lambert D, Erhard F, Brodard V, Hentzien M, Lebrun D, Nguyen Y, Tabary T, Peron JM, Izopet J, Bani-Sadr F. Severe acute hepatitis E infection in an HIV infected patient: Successful treatment with ribavirin. *Journal of Clinical Virology* 2014;60:422-423.
28. Gallian P, Lhomme S, Piquet Y, Sauné K, Abravanel F, Assal A, Tiberghien P, Izopet J. High rate of VHE viremia in blood donors, France. *Emerging Infectious Diseases* 2014;20:1914-1917.
29. Lhomme S, Abravanel F, Dubois M, Sandres-Sauné K, Mansuy JM, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Characterization of the polyproline region of the Hepatitis E virus in immunocompromised patients. *Journal of Virology* 2014;88:12017-12025.
30. Dalton H, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E. *Future Microbiology* 2014;9:1361-1372.
31. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microb Rev* 2014;27:116-138.
32. 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.
33. Dalton H, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E. *Future Microbiology* 2014;9:1361-1372.
34. Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Protracted faecal shedding of VHE during ribavirin therapy predicts treatment relapse. *Clinical Infectious Diseases* 2015;60:96-99.
35. Mansuy JM, Sauné K, Rech H, Abravanel F, Mengelle C, Lhomme S, Destruel F, Kamar N, Izopet J. Seroprevalence in blood donors reveals widespread, multi-source exposure to hepatitis E virus in southern France. *Eurosurveillance* 2015;20(19):27-34.
36. Bauer H, Luxembourger C, Gottenberg JE, Fournier S, Abravanel F, Cantagrel A, Chatelus E, Claudepierre P, Hudry C, Izopet J, Fabre S, Lefevre G, Marguerie L, Martin A, Messer L, Molto A, Pallot-Prades B, Pers YM, Roque-Afonso AM, Roux C, Sordet C, Soubrier M, Veissier C, Wendling D, Péron JM, Sibilia J. Outcome of hepatitis E virus infection in patients with inflammatory arthritides treated with immunosuppressants: a French retrospective multicenter study. *2015 Medicine* ® (45):e2035.N.

37. Kamar N, Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Izopet J. Hepatitis E virus: chronic infection, extra-hepatic manifestations, and treatment. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 2015;39:20-27.
38. 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;17:279-83.
39. 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;21:1224-6.
40. 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;21:1928-1934.
41. Lhomme S, Abravanel F, Dubois M, Chapuy-Regaud S, Sandres-Saune K, Mansuy JM, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Temporal evolution of the distribution of hepatitis E virus genotypes in Southwestern France. *Infect Genet Evol.* 2015;35:50-5.
42. Lhomme S, Kamar N, Nicot F, Ducos J, Bismuth M, Garrigue V, Petitjean-Lecherbonnier J, Ollivier I, Alessandri-Gradt E, Gorla O, Barth H, Perrin P, Saune K, Dubois M, Carcenac R, Lefebvre C, Jeanne N, Abravanel F, Izopet J. Mutation in the Hepatitis E Virus Polymerase and Outcome of Ribavirin Therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(3):1608-14.
43. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Peron JM, Alric L, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Performance of a new rapid test for detecting anti-hepatitis E virus immunoglobulin M in immunocompetent and immunocompromised patients. *J Clin Virol.* 2015;70:101-4.
44. Basnyat B, Dalton HR, Kamar N, Rein DB, Labrique A, Farrar J, Piot P on behalf of 21 signatories. Nepal earthquake and the risk of an epidemic of hepatitis E: The Lancet 2015; S0140-6736(15)61110-2.
45. Izopet J, Labrique AB, Basnyat B, Dalton HR, Kmush B, Heaney CD, Nelson KE, Ahmed ZB, Zaman K, Mansuy JM, Bendall R, Sauné K, Kamar N, Arjyal A, Karbey A, Dongol S, Prajapati KG, Adhikary D. Hepatitis E virus seroprevalence in three hyperendemic areas: Nepal, Bangladesh and southwest France. *Journal of Clinical Virology* 2015;70:39-42.
46. Blasco-Perrin H, Madden RG, Stanley A, Crossan C, Hunter JG, Vine L, Lane K, Devooght-Johnson N, McLaughlin C, Petrik J, Stableforth B, Hussaini H, Philips M, Mansuy JM, Forrest E, Izopet J, Blatchford O, Scobie L, Peron JM, Dalton HR. Hepatitis E virus in patients with decompensated chronic liver disease: a prospective UK/French study. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2015;42:574-581.
47. Kamar N, Lhomme S, Legrand-Abravanel E, Cointault O, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Del Bello A, Dörr G, Lavayssière L, Nogier MB, Guitard J, Ribes D, Goin AL, Broué P, Metsu D, Sauné K, Rostaing L, Izopet J. An early viral response predicts the virological response to ribavirin in hepatitis E virus organ-transplant patients. *Transplantation* 2015;99:2124-2131.
48. 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, Péron JM. Neurological disorders in immunocompromised patients with autochthonous acute hepatitis E. *Emerging Infectious Diseases* 2015;21:1928-1934.
49. Tavitian S, Peron JM, Huguet F, Kamar N, Abravanel F, Beyne-Rauzy O, Oberic L, Faguer S, Alric L, Roussel M, Gaudin C, Ysebaert L, Huynh A, Recher C. Ribavirin for Chronic Hepatitis Prevention among Patients with Hematologic Malignancies. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:1466-9.
50. Smith DB, Ijaz S, Tedder RS, Hogema B, Zaaijer H, Izopet J, Bradley-Stewart A, Gunson R, Harvala H, Kokki I, Simonds P. Variability and pathogenicity of hepatitis E virus genotype 3 variants. *Journal of General Virology* 2015;96:3255-3264.

51. Kamar N, Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Izopet J. Hepatitis E virus: chronic infection, extra-hepatic manifestations, and treatment. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 2015;39:20-27.
52. Boudjellil R, Elbaz M, Lairez O, Izopet J, Kamar N. No evidence of genotype-3 hepatitis E virus-induced myocarditis. *Journal of Clinical Virology* 2016;76:44.
53. Guillois Y, Abravanel F, Miura T, Pavio N, Vaillant V, Lhomme S, Le Guyader FS, Rose N, Le Saux JC, King L, Izopet J, Couturier E. High proportion of asymptomatic infections in an outbreak of hepatitis E associated with a spit-roasted piglet, France, 2013. *Clinical Infectious Diseases* 2016;62:351-357.
54. Petrik J, Lozano M, Seed CR, Faddy HM, Keller AJ, Prado Scuracchio PS, Wendel S, Andonov A, Fearon M, Delage G, Zhang J, Shih JW, Gallian P, Djoudi R, Tiberghien P, Izopet J, Dreier J, Vollmer T, Knabbe C, Aggarwal R, Goel A, Ciccaglione AR, Matsubayashi K, Satake M, Tadokoro K, Jeong SH, Zaaier HL, Zhiburt E, Chay J, Teo D, Chua SS, Piron M, Saulea S, EcVHEarria JM, Dalton H, Stramer SL. Hepatitis E. *Vox Sanguinis* 2016;110 :93-103.
55. Kamar N, Marion O, Izopet J. When should ribavirin be started to treat hepatitis E virus infection in transplant-patients? *American Journal of Transplantation* 2016;16:727.
56. Péron JM, Abravanel F, Guillaume M, Gérolami R, Nana J, Anty R, Pariente A, Renou C, Bureau C, Robic MA, Alric L, Vinel JP, Izopet J, Kamar N. Treatment of autochthonous acute hepatitis E with short-term ribavirin: a multicenter retrospective study. *Liver International* 2016;36:328-333.
57. Trémeaux P, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Peron JM, Alric L, Kamar N, Izopet J, Abravanel F. Performance of an antigen assay for the diagnosis of acute hepatitis E virus infection. *Journal of Clinical Virology* 2016;79:1-5.
58. Guinault D, Ribes D, Delas A, Milongo D, Abravanel F, Puissant-Lubrano B, Izopet J, Kamar N. Hepatitis E Virus-Induced Cryoglobulinemic Glomerulonephritis in a Nonimmunocompromised Person. *Am J Kidney Dis* 2016;67:660-3.
59. Abravanel F, Barragué H, Dörr G, Sauné K, Péron JM, Alric L, Kamar N, Izopet J, Champagne E. Conventional and innate lymphocytes response at the acute phase of VHE infection in transplanted patients. *J Infect* 2016;723-30.
60. Smith DB, Simmonds P, Izopet J, Oliveira-Filho EF, Ulrich RG, John R, Koenig M, Jameel S, Harrison TJ, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WH, Purdy MA. Proposed reference sequences for hepatitis E virus subtypes. *J Gen Virol* 2016;97:537-42.
61. Mansuy JM, Gallian P, Diméglio C, Saune K, Arnaud C, Pelletier B, Morel P, Legrand D, Tiberghien P, Izopet J. A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors. *Hepatology*. 2016;63:1145-54.
62. Servant-Delmas A, Abravanel F, Lefrère JJ, Lionnet F, Hamon C, Izopet J, Laperche S. New insights into the natural history of hepatitis E virus infection through a longitudinal study of multitransfused immunocompetent patients in France. *J Viral Hepat* 2016;23:569-75.
63. Miura T, Lhomme S, Le Saux JC, Le Mehaute P, Guillois Y, Couturier E, Izopet J, Abravanel F, Le Guyader FS. Detection of hepatitis E virus in sewage after an outbreak on a French Island. *Food Environ Virol* 2016;8:194-199.
64. Nicot F, Cazabat M, Lhomme S, Marion O, Sauné K, Chiabrando J, Dubois M, Kamar K, Abravanel F, Izopet J. Quantification of HEV RNA by Droplet Digital PCR. *Viruses* 2016;8:8.
65. Marion O, Abravanel F, Lhomme S, Izopet J, Kamar N. Hepatitis E in transplantation. *Current Infectious Diseases Reports Review* 2016;18:8.
66. Kamar N, Marion O, Abravanel F, Izopet J, Dalton HR. Extra-hepatic manifestations of hepatitis E virus. *Liver International* 2016;36:467-472.

67. Blasco-Perrin H, Abravanel F, Blasco-Baque V, Péron JM. Hepatitis E, the neglected one. *Liver International* 2016;36 Suppl1:130-134.
68. Kamar N, Lhomme S, Abravanel F, Marion O, Péron JM, Alric L, Izopet J. Treatment of HEV infection in patients with a solid-organ transplant and chronic hepatitis. *Viruses* 2016;8:8.
69. Brown A, Halliday JS, Swadling L, Madden R, Bendall R, Hunter JG, Maggs J, Simmonds P, Smith DB, Vine L, McLaughlin C, Collier J, Jeffery K, Klenerman P, Izopet J, Kamar N, Dalton HR, Barnes E. Characterisation of the specificity, functionality and durability of host T-cell responses against the full-length hepatitis E virus. *Hepatology* 2016;64:1934-1950.
70. Lhomme S, Marion O, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E pathogenesis. *Viruses* 2016;8:212.
71. Lhomme S, Bardiaux L, Abravanel F, Gallian P, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E virus infection in solid organ transplant recipients, France. *Emerging Infectious Diseases* 2017;23:353-356.
72. Carré M, Thiebaut-Bertrand A, Larrat S, Leroy V, Pouzol P, Sturm N, Lhomme S, Cahn JY, Garban F, Morand P. Fatal autochthonous fulminant hepatitis E early after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2017;52:643-645.
73. Donnelly MC, Imlach SN, Abravanel F, Ramalingam S, Johannessen I, Petrik J, Fraser AR, Campbell JD, Bramley P, Dalton HR, Hayes PC, Kamar N, Simpson KJ. Sofosbuvir and Daclatasvir anti-viral therapy fails to clear HEV viremia and restore reactive T cells in a HEV/HCV co-infected liver transplant recipient. *Gastroenterology* 2017;152:300-301.
74. Abravanel F, Goutagny N, Perret C, Lhomme S, Vischi F, Aversenq A, Chapel A, Dehainault N, Piga N, Dupret-Carruel J, Izopet J. Evaluation of two VIDAS® prototypes for detecting anti-HEV IgG. *Journal of Clinical Virology* 2017;89:46-50.
75. Sayed IM, Foquet L, Verhoye L, Abravanel F, Farhoudi A, Leroux-Roels G, Izopet J, Meuleman P. Transmission of hepatitis E virus infection to human-liver chimeric FRG mice using patient plasma. *Antiviral Research* 2017;141:150-154.
76. Sayed IM, Verhoye L, Cocquerel L, Abravanel F, Foquet L, Montpellier C, Debing Y, Farhoudi A, Wychowski C, Dubuisson J, Leroux-Roels G, Neyts J, Izopet J, Michiels T, Meuleman P. Study of Hepatitis E virus infection of genotype 1 and 3 in mice with humanized liver. *Gut* 2017;66:920-929.
77. Abravanel F, Lhomme S, El Costa H, Schvartz B, Peron JM, Kamar N, Izopet J. Rabbit Hepatitis E virus infections in humans, France. *Emerging Infectious Diseases* 2017;23:1191-1193.
78. Izopet J, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Kamar N, Abravanel F. HEV and transfusion-recipient risk. *Transfusion Clinique et Biologique* 2017;24:176-181.
79. Chapuy-Regaud S, Dubois M, Plisson-Chastang C, Bonnefois T, Lhomme S, Bertrand-Michel J, You B, Simoneau S, Gleizes PE, Flan B, Abravanel F, Izopet J. Characterization of the lipid envelope of exosome encapsulated HEV particles protected from the immune response. *Biochimie* 2017;141:70-79.
80. van Eijk JJJ, Dalton HR, Ripellino P, Madden RG, Jones CJE, Fritz M, Gobbi C, Melli G, Pasi E, Herrod J, Lissmann RF, Ashraf HH, Abdelrahim M, Almasri O, Fraga M, Benninger D, Kuntzer T, Aubert V, Sahli R, Moradpour D, Blasco-Perrin H, Attarian S, Gerolami R, Colson P, Giordani MT, Hartl J, Pischke S, Lin NX, Mclean BN, Bendall RP, Panning M, Peron JM, Kamar N, Izopet J, Jacobs BC, van Alfen N, van Engelen BGM. Clinical phenotype and outcome of hepatitis E virus associated neuralgic amyotrophy; an international multicenter retrospective comparative study. *Neurology* 2017;89:909-917.
81. Velay A, Kack-Kack W, Abravanel F, Lhomme S, Leyendecker P, Kremer L, Chamouard P, Izopet J, Fafi-Kremer S, Barth H. Parsonage-Turner syndrome due to autochthonous acute genotype 3f hepatitis E virus infection in a nonimmunocompromised 55-year-old patient. *Journal of Neurovirology* 2017;23:615-620.
82. Barragué H, Condat B, Petitdidier N, Champagne E, Renou C, Izopet J, Abravanel F. Chronic hepatitis E virus infection in a cirrhotic patient: a case report. *Medicine* 2017;96 :e7915.

83. Kamar N, [Izopet J](#), Pavio N, Agarwal R, Labrique A, Wedemeyer H, Dalton H. Hepatitis E virus infection. *Nature Reviews Disease Primers* 2017;3:17086.
84. Dalton HR, Van Eijk JJJ, Cintas P, Madden RG, Jones CJ, Webb GW, Norton B, Pique J, Lutgens S, Devooght-Johnson N, Woolson K, Baker J, Saunders M, Househam L, Griffiths J, [Abravanel F](#), [Izopet J](#), Kamar N, van Alfen N, Van Engelen BG, Hunter JG, van der Eijk AA, Bendall RP, Mclean BN, Jacobs BC. Hepatitis E virus infection and acute non-traumatic neurological injury: a prospective pilot multicentre study. *Journal of Hepatology* 2017;67:925-932.
85. Belliere J, [Abravanel F](#), Nogier MB, Martinez S, Cintas P, [Lhomme S](#), Lavayssière L, Cointault O, Faguer S, [Izopet J](#), Kamar N. Transfusion-acquired hepatitis E infection misdiagnosed as severe critical illness polyneuromyopathy in a heart-transplant patient. *Transplant Infectious Disease* 2017;19:6.
86. Yin X, Li X, Ambardekar C, Hu Z, [Lhomme S](#), Feng Z. Hepatitis E virus persists in the presence of a type III interferon response. *Plos Pathogens* 2017 ;13:e1006417.
87. Montpellier C, Wychowski C, Sayed IM, Meunier JC, Saliou JM, Ankavay M, Bull A, [Abravanel F](#), Helle F, Brochot E, Drobecq H, Farhat R, Aliouat CM, [Izopet J](#), Meuleman P, Goffard A, Dubuisson J, Cocquerel L. Hepatitis E Virus lifecycle and identification of 3 forms of the ORF2 capsid protein. *Gastroenterology* 2018;154:211-223.
88. Kamar N, Del Bello A, [Izopet J](#). Should persistent hepatitis E virus replication in transplant patients be tolerated? *Transplantation* 2018;102:e84-e85.
89. [Abravanel F](#), [Lhomme S](#), Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Boineau J, Sauné K, [Izopet J](#). A fully automated system using transcription-mediated amplification for the molecular diagnosis of HEV in blood and stools. *Journal of Clinical Virology* 2018;105:109-111.
90. 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. *Emerging Infectious Diseases* 2018;24:941-943.
91. Yin X, Ying D, [Lhomme S](#), Tang Z, Walker CM, Xia N, Zheng Z, Feng Z. Origin, antigenicity, and function of a secreted form of ORF2 in hepatitis E virus infection. *PNAS* 2018;115:4773-4778.
92. Mallet V, Sberro-Soussan R, Roque-Afonso AM, Vallet-Pichard A, Deau B, Portal A, Chaix ML, Hauser L, Beylouné A, Mercadier A, [Izopet J](#), Legendre C, Pol S. Transmission of hepatitis E virus with plasma exchange in kidney-transplant recipients: a retrospective cohort study. *Transplantation* 2018;102:1351-1357.
93. 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. *Reviews in Medical Virology* 2018;28:e1987.
94. [Abravanel F](#), Pique J, Couturier E, Nicot F, [Diméglio C](#), [Lhomme S](#), Chiabrando J, Sauné K, Péron JM, Kamar N, Evrard S, De Valk H, Cintas P, [Izopet J](#) on behalf of the HEV study group. Acute hepatitis E in French patients and neurological manifestations. *Journal of Infection* 2018;77:220-226.
95. 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. *Nature Communications* 2018;9:4748.
96. 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 International* 2018;38:2178-2189.
97. Dalton HR, [Izopet J](#). Transmission and epidemiology of Hepatitis E Virus genotype 3 and 4 infections. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018;8:a032144.
98. 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. *Antiviral Therapy* 2018;23:463-465.

99. Abravanel F, Lacipière A, Lhomme S, Dubois M, Minier L, Péron JM, Alric L, Kamar N, Izopet J. Performance of a commercial assay for detecting and quantifying HEV RNA in faeces. *Journal of Clinical Virology* 2018;109:1-5.
100. Diméglio C, Beau F, Broult J, Gouy P, Izopet J, Lastère S, Abravanel F. Hepatitis E prevalence in French Polynesian blood donors. *Plos One* 2018;13:e0208934.
101. 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 for optimizing ribavirin treatment duration in chronically infected transplant-patients. *J Hepatol* 2019;70:206-209.
102. Abravanel F, Goutagny N, Joffray R, Eichenlaub E, Baron S, Aversenq A, Bourg S, Mercier L, Larue Triolet A, Poirault D, 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. *Journal of Clinical Virology* 2019;112:10-14.
103. 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. *Journal of Virology* 2019;93:4.
104. 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 infected immunocompromised patients. *Journal of Infection* 2019;78:232-240.
105. Lhomme S, Abravanel F, Kamar N, Izopet J. Screening, diagnosis and risks associated with Hepatitis E infection. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 2019;17:403-418.
106. 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. *Transplant Infectious Disease* 2019;21:e13050.
107. Diméglio C, Kania D, Mbombi Mantono J, Kagoné T, Zida S, Tassembedo S, Dicko A, Tinto B, Yaro S, Hien H, Rouamba J, Bicaba B, Medah I, Meda N, Traoré O, Tuaillon E, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infections among patients with acute febrile jaundice in Burkina Faso. *Viruses* 2019;554:1-9.
108. 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? *Transplant Infectious Disease* 2019;21:e13065.
109. Izopet J, Trémeaux P, Marion O, Miguères M, Capelli N, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Abravanel F, Kamar N, Lhomme S. Hepatitis E virus infections in Europe. *Journal of Clinical Virology* 2019;120:20-26.
110. Gallian P, Pouchol E, Djoudi R, Lhomme S, Mouna L, Gross S, Bierling P, Assal A, Kamar N, Mallet V, Roque-Afonso AM, Izopet J, Tiberghien P. Transfusion-transmitted hepatitis E virus infection in France. *Transfusion Medicine Reviews* 2019;33:146-153.
111. Lhomme S, DebRoy S, Kamar N, Abravanel F, Metsu D, Marion O, Diméglio C, Cotler SJ, Izopet J, Dahari H. Plasma Hepatitis E Virus Kinetics in Solid Organ Transplant Patients Receiving Ribavirin. *Viruses* 2019;11:7.
112. Lhomme S, Gallian P, Diméglio C, Abravanel F, Tiberghien P, Izopet J. Viral load and clinical manifestations of hepatitis E virus genotype 3 infections. *J Viral Hepatitis* 2019;26:1139-1142.
113. Sayed IM, Verhoye L, Montpellier C, Abravanel F, Izopet J, Cocquerel L, Meuleman P. Study of hepatitis E virus ORF2 antigen kinetics in human-liver chimeric mice and its impact on HEV diagnosis. *Journal of Infectious Diseases* 2019;220:811-819.
114. Del Bello A, Abravanel F, Alric L, Lavayssière L, Lhomme S, Bellière J, Izopet J, Kamar N. No evidence of occult hepatitis C or E virus infections in liver-transplant patients with sustained virological response after therapy with direct acting agents. *Transplant Infectious Disease* 2019;21:e13093.

115. Xhaard A, Roque-Afonso AM, Mallet V, Ribaud P, Nguyen-Quoc S, Rohrlach PS, Tabrizi R, Konopacki J, Lissandre S, Abravanel F, Latour RP, Huynh A. Hepatitis E and Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A French Nationwide SFGM-TC Retrospective Study. *Viruses* 2019;11(7).
116. Yrondi A, Salles J, Péron JM, Sporer M, Taib S, Gallini A, Noilhan C, Diméglio C, Entajan F, Crequy M, Izopet J, Schmitt L. The Prevalence of Hepatitis E in a Patient Cohort Presenting With Addictive Injection Behavior. *Front Psychiatry*. 2019;10:832.
117. Potrin C, Abravanel F, Alric L, Tavitian S, Obéric L, Izopet J, Martin-Blondel G, Ysebaert L. Ribavirin for chronic Hepatitis E virus infection in ibrutinib-exposed patients. *Open Forum Infect Dis* 2019;6:ofz345.
118. Olsøy IB, Henriksen S, Weissbach FH, Larsen M, Borgen K, Abravanel F, Kamar N, Paulssen EJ, Hirsch HH, Rinaldo CH. Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) in a general adult population in Northern Norway: the Tromsø study. *Med Microbiol Immunol*.2019;208:715-725.
119. Capelli N, Dubois M, Pucelle M, Da Silva I, Lhomme S, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Izopet J. Optimized HEV culture and its application to measurements of HEV infectivity. *Viruses* 2020;12:139.
120. Lhomme S, Marion O, Abravanel F, Izopet J, Kamar N. Clinical manifestations, pathogenesis and treatment of hepatitis E virus infections. *Journal of Clinical Medicine* 2020;9:331.
121. Capai L, Hozé N, Chiaroni J, Gross S, Djoudi R, Charrel R, Izopet J, Priet S, Cauchemez S, De Lamballerie X, Falchi A, Gallian P. Seroprevalence and quantification of antibodies anti-HEV IgG among blood donors in Corsica, France, 2017. *Eurosurveillance* 2020;25:1900336.
122. Abravanel F, Diméglio C, Castanier M, Péron JM, Kamar N, Lhomme S, Izopet J. on behalf of the HEV study group. Does HEV-3 subtype play a role in the severity of acute hepatitis E ? *Liver International* 2020;40:333-337.
123. Lhomme S, Nicot F, Jeanne N, Roulet A, Lefèbvre C, Carcenac R, Manno M, Dubois M, Péron JM, Alric L, Kamar N, Abravanel F, Izopet J. Insertions and duplications in the polyproline region of the hepatitis E virus. *Frontiers in Microbiology* 2020;11:1.
124. Larrue H, Abravanel F, Péron JM. Hepatitis E, what's the real issue? *Liver International* 2020;Suppl 1:43-47.
125. Marion O, Lhomme S, Nayrac M, Dubois M, Pucelle M, Requena M, Miguères M, Abravanel F, Péron JM, Carrère N, Suc B, Delobel P, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E virus replication in human intestinal cells. *Gut* 2020;69:901-910.
126. Lhomme S, Abravanel F, Miguères M, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E virus: how it escapes host innate immunity? *Vaccines* 2020;8:422.
127. Smith DB, Izopet J, Nicot F, Simmonds P, Jameel S, Meng XJ, Norder H, Okamoto H, Van der Poel VHM, Reuter G, Purdy MA. Update : proposed reference sequences for subtypes of hepatitis E virus (species Orthohepevirus A). *Journal of General Virology* 2020;101:692-698.
128. Kamar N, Abravanel F, Behrendt P, Hofmann J, Pageaux GP, Barbet C, Moal V, Couzi L, Horvatits T, De Man RA, Cassuto E, Elsharkawy AM, Riezebos-Brilman A, Scemla A, Hillaire S, Donnely MC, Radenne S, Sayegh J, Garrouste C, Dumortier J, Glowaki F, Matignon M, Coilly A, Figueres L, Mousson C, Minello A, Dharancy S, Rerolle JP, Lebray P, Etienne I, Perrin P, Choi M, Marion O, Izopet J. Ribavirin for hepatitis E virus infection after organ transplantation: a large European retrospective multicenter study. *Clinical Infectious Diseases* 2020;71:1204-1211.
129. Gallian P, Lhomme S, Morel P, Gross S, Mantovani C, Hauser L, Tinard X, Pouchol E, Djoudi R, Assal A, Abravanel F, Izopet J, Tiberghien P. Risk for hepatitis E virus transmission by Solvent/Detergent-treated plasma. *Emerging Infectious Diseases* 2020;26:2881-2886.
130. Miguères M, Ducours M, Diméglio C, Trimoulet P, Abravanel F, Delobel P, Cazanave C, Izopet J. No evidence of sexual transmission of HEV among patients using pre-exposure prophylaxis for HIV. *Journal of Viral Hepatitis* 2020;27:1495-1501.

131. Larrue H, Abravanel F, Péron JM. Hepatitis E, what's the real issue? *Liver Int* 2020;40 Suppl 1:43-47.
132. Belbézier A, Deroux A, Sarrot-Reynault F, Colombe B, Bosseray A, Winternberger C, Dumanoir P, Lugosi M, Boccon-Gibod I, Leroy V, Maignan M, Collomb-Muret R, Viglino D, Vaillant M, Minotti L, Lagrange E, Epaulard O, Dumestre-Perard C, Lhomme S, Lupo J, Larrat S, Morand P, Schwebel C, Vilotitch A, Bosson JL, Bouillet L. Screening of hepatitis E in patients presenting for acute neurological disorders. *J Infect Public Health* 2020;13:1047-1050.
133. Mulder M, de Man RA, Kamar N, Durmaz G, de Bruijne J, Vanwolleghem T, Izopet J, Gandia P, van der Eijk AA, van Gelder T, Hesselink DA, de Winter BCM. Determining The Therapeutic range for ribavirin in transplant recipients with chronic hepatitis E virus infection. *Journal of Viral Hepatitis* 2021;28:431-435.
134. Barragué H, Fontaine J, Abravanel F, Mauré E, Péron JM, Alric L, Dubois M, Izopet J, Champagne E. Mobilization of $\gamma\delta$ T cells and IL-10 production at the acute phase of Hepatitis E virus infection in cytomegalovirus carriers. *Journal of Immunology* 2021;206:1027-1038.
135. El Costa H, Gouilly J, Abravanel F, Bahraoui E, Peron JM, Kamar N, Jabrane-Ferrat N, Izopet J. Effector memory CD8 T cell response elicits Hepatitis E Virus genotype 3 pathogenesis in the elderly. *Plos Pathogens* 2021;17:e1009367.
136. Nicot F, Diméglio C, Jeanne N, Latour J, Abravanel F, Ranger N, Harter A, Dubois M, Lameiras S, Baulande S, Chapuy-Regaud S, Kamar N, Lhomme S, Izopet J. Classification of the zoonotic hepatitis E virus genotype 3 into distinct subgenotypes. *Frontiers in Microbiology* 2021;11:634430.
137. Micas F, Suin V, Péron JM, Sholtes C, Tuailon E, Vanwolleghem T, Bocket L, S. Lhomme S, Diméglio C, Izopet J, Abravanel F. Analyses of clinical and biological data for french and belgian immunocompetent patients infected with hepatitis E virus genotypes 4 and 3. *Frontiers in Microbiology* 2021;12:645020.
138. Parraud D, Lhomme S, Peron JM, Tavitian S, Kamar N, Izopet J, Abravanel F, Dasilva I. Rat hepatitis E virus: presence in humans in South-Western France? *Frontiers in Medicine* 2021;8:726363.
139. Abravanel F, Nicot F, Lhomme S, Cazabat M, Moreau-Klein A, Velay A, Latour J, Belliere J, Cintas P, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E quasispecies in the cerebrospinal fluid. *Vaccines* 2021;9:1205.
140. Larrue H, Abravanel F, Peron JM. Hepatitis E, what is the real issue? *Liver Int* 2021;Suppl 1:68-72.
141. Lhomme S, Abravanel F, Cintas P, Izopet J. Hepatitis E virus infection: neurological manifestations and pathophysiology. *Pathogens* 2021;10:1582.
142. Miguères M, Lhomme S, Izopet J. Hepatitis A: Epidemiology, High-Risk Groups, Prevention and Research on Antiviral Treatment. *Viruses* 2021;13:1900.
143. Gérard L, Garzaro M, Ferrer V, Malphettes M, Fieschi C, Garnier JL, Just N, A. Masseau A, Delaugerre C, Izopet J, Oksenhendler E, Abravanel F, for the DEFI study group. Hepatitis E infection in adult receiving immunoglobulin replacement therapy for primary immunodeficiency. *Blood Transfusion (sous presse)*.
144. Lhomme S, Fayard A, Mirafzal S, Carcenac R, Boyer P, Latour J, Brebion A, Bay JO, Henquell C, Izopet J. Persistence of hepatitis E virus in the cerebrospinal fluid despite apparently successful ribavirin therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy (sous presse)*.
145. Izopet J, Kamar N. Hepatitis A and E Viruses Manual of Clinical Microbiology (sous presse).

Communications nationales et conférences nationales sur invitation

1. Izopet J. Hepatitis E and transfusion risk, **Symposium CERUS**. 2012 - Nantes.
2. Izopet J. Hépatite E : Emergence ou infection méconnue ? **Réunion Abbott**, la biologie médicale en 2012 : innovations et perspectives. 2012 - Paris.
3. Abravanel F. Epidémiologie et diagnostic du VHE. **Journées de Biologie Médicales Toulousaines** organisées par l'association des biologistes de Midi-Pyrénées. 2012 – Toulouse

4. 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). 2012 – Paris.
5. Abravanel F. Le virus de l'hépatite E. **Journées de Physiopathologie de Strasbourg**. 2012 – Strasbourg.
6. Izopet J. Hépatite E. **Assemblée générale de la fédération régionale des chasseurs de Midi-Pyrénées**. Caussens – 2013.
7. Izopet J. VHE : état des connaissances et risques infectieux. **Congrès de la Société Française de Transfusion Sanguine**. 2013 - Paris.
8. Izopet J. Hépatite E : quels tests en pratique. **GemHep**. 2013 - Paris.
9. Izopet J. Hépatite E, **Workshop Virosem**. 2013 - Bordeaux.
10. 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). 2014 - Paris.
11. Izopet J. Hepatitis E. **Symposium Biomérieux**. 2013 - Marcy l'Etoile.
12. Izopet J. Virus de l'hépatite E – **Congrès de la Société Française de Transfusion Sanguine**. 2013 - Paris.
13. Izopet J. Hépatite E – **Institut National de Veille Sanitaire**. 2013 – Paris.
14. Izopet J. Hépatite E – **Groupe Hospitalier Cochin**. 2014 –Paris.
15. Izopet J. Hépatite E : une infection sexuellement transmissible ? **6^{ème} Congrès national des IST** -2014 – Toulouse.
16. Izopet J. Transmission zoonotique du VHE - **Séminaire FRES**. 2014 – Ajaccio
17. Izopet J. Le VHE dans sa problématique transfusionnelle - **Journée de la Société Française de Transfusion Sanguine**. 2014 – Paris.
18. Izopet J. Hepatitis E virus - **Cross-Border Symposium on Viral Hepatitis**. 2014 – Lille.
19. Izopet J. Hépatite E - **Réunion ANRS AC11/AC12/AC33**. 2014 – Paris.
20. Izopet J. Actualités en diagnostic sérologique - **Diagnostic et suivi des maladies Infectieuses – Innovation & Perspectives**. 2014 – Paris.
21. Izopet J. Hépatite E – **Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière**. 2015 – Paris
22. Izopet J. Hepatitis E virus - **Réseau National Hépatites – ANRS**. 2015 – Paris
23. Abravanel F. Actualités sur l'hépatite E – **Société Française de Microbiologie**. 2015 – Paris
24. Izopet J. Hépatite E. **Journée nationale de lutte contre les hépatites virales** « Quelles perspectives ». 2015 – Paris.
25. Izopet J. Hépatite E. **Staff Immunologie clinique et maladies infectieuses**. AP-HP Hôpital Henri Mondor. 2015 – Paris.
26. Izopet J. Hepatitis E, an unrecognised viral infection – **Hôpital Bichat**. 2015 – Paris.
27. Izopet J. De nouvelles avancées sur le virus de l'hépatite E – **JIB**. 2016 – Paris.
28. Izopet J. Actualités sur l'hépatite à VHE. **Congrès Synergie et Résistances**. 2016 - Aix-en-Provence.
29. Izopet J. Update on hepatitis E virology – **Hôpital Bichat**. 2016 – Paris.
30. Izopet J. Hépatite E, une infection virale de mieux en mieux connue. **Séance de l'Académie Nationale de Pharmacie**. 2016 – Paris.
31. Izopet J. Le VHE et son diagnostic. **Journée du Réseau Hépatites virales de Basse-Normandie**. 2016 -Caen.
32. Izopet J. Hépatite E : une infection émergente. **59^{ème} Journée de l'Hôpital Claude Bernard**. 2016 – Paris.
33. Abravanel F. Hépatite E un virus négligé – **Symposium BMS**. 2016 – Marseille.

34. Izopet J. Emergence de l'hépatite E – **RICAI**. 2017 – Paris.
35. Izopet J. HEV 2017 – **Réunion scientifique Biomérieux**. 2017 – Lyon.
36. Izopet J. Hépatite E : nouvelles pièces du puzzle - **Réunion JANSSEN CILAG Synthèse en Infectiologie**. 2017 – Paris.
37. Izopet J. VHE & risque receveur – **XXVIIIème Congrès de la Société Française de Transfusion Sanguine**. 2017 – Bordeaux.
38. Izopet J. Hépatite E, une infection virale encore méconnue dans les régions non endémiques. **Académie Nationale de Pharmacie**. 2017 – Paris.
39. Izopet J. VHE : un virus encore méconnu. **Séminaire CHRU de Nancy**. 2017 – Nancy.
40. Izopet J. Actualités sur l'hépatite E. **1ères Journées Francophones de Biologie Médicale**. 2017 – Bordeaux.
41. Izopet J. VHE : nouveau pathogène émergent ? **Réunion scientifique Roche**. 2017 – Paris.
42. Izopet J. VHE & transplantation. **Ecole d'Eté LabEx Transplantex**. 2017 – Strasbourg.
43. Abravanel F. Hépatite E. **Réunion Réseau Greffe**. 2017 – Paris.
44. Izopet J. VHE et risque transfusionnel. **Réunion ANSM**. 2017 – Paris.
45. Izopet J. Hépatite E. **Conseil Scientifique FICT**. 2019 – Paris.
46. Izopet J. Le virus de l'hépatite E : point sur le risque transfusionnel – **XXXème Congrès de la Société Française de Transfusion Sanguine**. 2021 – Marseille.
47. Abravanel F. Actualités sur le Virus de l'Hépatite E. **Congrès BIOMEDJ**. 2022 – Paris.

Communications internationales et conférences internationales sur invitation

1. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Miédougé M, Grégoire D, Muscari F, Sallusto F, Rostaing L, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients having anti-VHE antibodies. **AASLD** – 2012 – Boston.
2. Izopet J, Dubois M, Bertagnoli S, Lhomme S, Marchandeau S, Boucher S, Kamar N, Abravanel F, Guerin JL. Risk of zoonotic transmission of VHE from rabbits. **15th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology** – 2012- Madrid.
3. Izopet J. Diagnosis, prevention and management of HEV infection. 22nd European congress of clinical Microbiology and Infectious Diseases – 2012 - Londres.
4. Izopet J. Hepatitis E IPFA/PEI international workshop on surveillance and screening of Blood borne Pathogens – 2012 - Budapest.
5. Izopet J. Hepatitis E and development of an HEV infectivity assay, PDA European virus and safety Forum – 2013 - Berlin.
6. Izopet J. Hepatitis E infection. 1ère journées Franco-Maghrébines de Virologie – 2013 - Marrakech.
7. Izopet J. HEV-update and considerations for transfusion screening - Grifols Diagnostics Symposium - 2014 – Barcelone.
8. Izopet J. SD plasma and neutralization of HEV antibodies - EMA Workshop on viral safety – 2014 - Londres.
9. Izopet J. Hepatitis E in developing and developed countries - ISMD 2014 - 2014 – Graz.
10. Izopet J. Prevalence of silent HEV infections in blood donors - 17th Annual Meeting of ESCV - 2014 Prague.
11. Izopet J. Press conference on HEV – 2014 – Londres.

12. Djoudi R, Gallian P, Roque-Afonso AM, Assal A, Bierling P, Izopet J, Tiberghien P. Occurrence of transfusion-transmitted hepatitis E in France. **International Society of Blood Transfusion** – 2015 – Londres.
13. Izopet J. Hepatitis E virus - Center for Virus Research Irvine University - 2015 - Irvine – USA
14. Izopet J. Hepatitis E virus. 15th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease – 2015 – Berlin.
15. Halliday J, Brown A, Swadling L, Madden R, Bendall R, Jubb S, Hunter J, Maggs J, Simmonds P, Smith D, Ellis V, Vine L, McLaughlin C, Collier J, Jeffrey K, Klennerman P, Izopet J, Kamar N, Dalton H, Barnes E. Characterisation of the specificity, functionality and durability of host T-cell responses against the full VHE genome. **EASL** – 2016 – Barcelone.
16. Lhomme S, DebRoy S, Abravanel F, Izopet J, Cotler SJ, Kamar N, Dahari H. Characterization of HEV kinetics during ribavirin monotherapy post transplantation. **AASLD** – 2016 – Boston.
17. Lhomme S – The epidemiology and management of Hepatitis E. American Society for Microbiology – 2016 – Boston.
18. Izopet J – Automated molecular testing for HEV RNA using the Panther System – 2016 – Lisbonne.
19. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Capelli N, Boineau J, Sauné K, Mansuy JM, Izopet J. Molecular diagnosis of HEV with a fully automated system based on transcription-mediated amplification assay. **ECCMID** – 2017 - Vienne.
20. Izopet J. HEV – **HEVnet Meeting** – 2017 – Bilthoven.
21. Abravanel F, Goutagny N, Lhomme S, Perret C, Chenet M, Vischi F, Aversenq A, Bourg S, Chapel A, Dehainault N, Mercier L, Luciani F, Pothion C, Eichenlaub E, Zhang X, Roques P, Dugua JM, Izopet J. Performance evaluation of new automated immunoassay tests, Vidas® anti-HEV IgM and IgG assays, in european and non-european populations. **ESCV** – 2017 – Stresa.
22. Abravanel F, Goutagny N, Lhomme S, Perret C, Chenet M, Vischi F, Aversenq A, Bourg S, Chapel A, Dehainault N, Mercier L, Luciani F, Pothion C, Eichenlaub E, Zhang X, Roques P, Dugua JM, Izopet J. Performance evaluation of new automated immunoassay tests, Vidas® anti-HEV IgM and IgG assays, in european and non-european populations. **World Hepatitis Summit 2017** – Sao Paulo.
23. Vareil MO, Abravanel F, Jaouen AC, Lhomme S, Farbos S, Leyssene D, Wille H, Izopet J. Seroprevalence of HEV among PLHIV in South Western France and Risk Factors of Transmission. **CROI** – 2018 - Boston.
24. Abravanel F, Pique J, Couturier E, Nicot F, Diméglio C, Lhomme S, Cintas P, Izopet J. Acute hepatitis E in French patients: epidemiology and neurological manifestations. **Hepatitis E Workshop HEV 2018** – 2018 - Madrid.
25. Izopet J. Treatment for HEV infections – **ESCV Hepatitis Workshop** – 2018 – Copenhagen.
26. Izopet J. Hepatitis E & new serologic assays. **Hepatitis E Advisory Board Meeting** – 2018 – Munich.
27. Izopet J. Diversity and replication of HEV – **16th ISVHLD Global Hepatitis Summit** – 2018 – Toronto.
28. Izopet J. When and how to screen for HEV infection? **EASL** – 2019 – Vienne.
29. Izopet J. Diversity of HEV genotype 3. **HEVnet meeting** – 2019 – Amsterdam.
30. Izopet J. Pathogenesis and treatment of Hepatitis E virus infection. **36th Annual meeting of the Nordic Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases** – 2019 – Trondheim.
31. Izopet J. Transmission and pathogenesis of HEV infection. **ESPGHAN Monothematic Conference** – 2019 – Florence.
32. Izopet J. Pathogenesis and treatment of hepatitis E virus infection – 2021 - Emerging Viral Threats - University of Di Pavia.

33. Laperche S, Maugard C, Lhomme S, Le Cam S, Ricard C, Dupont I, Richard P, Tiberghien P, Abravanel F, Morel P, Izopet J, Gallian P. From selective to universal HEV-RNA blood donor screening in France : lessons from 7 years of HEV-NAT (2015-2021). **ISBT Virtual** - 2022.

Partenariats ou collaborations avec des structures ou instances nationales ou internationales

- ANSES :

- collaboration avec Nicole Pavio dans le cadre d'enquêtes sur la contamination par voie alimentaire (exemple des cas groupés de Belle-Ile en Mer)

- collaboration avec Sylvie Pérelle dans le cadre d'enquêtes sur la contamination par voie hydrique par le VHE (exemple des cas groupés dans le Cantal).

- IFREMER : collaboration avec Soizick Le Guyader dans le cadre d'enquêtes de cas groupés pouvant impliquer les coquillages (dont Belle-Ile-en-Mer en 2013-2014) et d'études sur la diffusion du VHE dans l'environnement.

- EFS : collaboration dans le cadre d'enquêtes transfusionnelles, dans la confirmation des cas d'infections à VHE chez les donneurs de plasma (charge virale et géotypage) et de manière générale sur le risque de transmission du VHE par transfusion (Dr P. Gallian, Dr S. Laperche, Pr. P. Tiberghien)

- CTSA : collaboration dans la confirmation de cas d'infections à VHE chez les militaires donneurs de sang (charge virale et géotypage).

- EMA : collaboration sur l'étude du risque de transmission du VHE par les médicaments dérivés du sang (Workshop on viral safety of plasma derived medicinal products with respect to HEV European Medicines Agency, London 2014).

- ECDC : contribution du CNR-LA VHE et de l'INVS à une enquête sur les modalités de surveillance du VHE en Europe (Adlhoch et al., J Clin Virol, 2016) ; réseau HEVnet et participation à un contrôle de qualité international sur le séquençage du VHE (Mulder Eurosurveillance 2019 ; Baylis Clin Chem 2021).

Laboratoire associé – Equipe du Pr Anne-Marie Roque-Afonso

Publication Nationales

1. Renou C, Pariente A, Roque-Afonso AM, Nicand E. Hépatite E autochtone : une maladie émergente mais encore méconnue. Rev Prat. 2012;62:903-8.
2. Ronan O, Roque AM, Nuiouët E, Rousseau MT, Hubert B. 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
3. Bani-Sadr F, Chakvetadze C, Galperine T, Lassel L, Bonnard P, Lependeven C, Roque-Afonso AM, Pialoux G. Biphase hepatitis A with severe cholestasis and thrombocytopenic purpura in an HIV-1-infected male patient. Med Mal Infect. 2014
4. Izopet J, Lhomme S, Abravanel F, Roque AM, Kamar N. Hepatitis E virus. Presse Med., Volume 44, Issue 3, March 2015, Pages 328-332.
5. Le Dault E, Luciano L, Surcouf C, Roque-Afonso AM, Coton T. Hépatite E aigüe sévère autochtone à virus de géotype 4. Presse Med. 2016 May 24. pii: S0755-4982(16)30081-1. doi: 10.1016/j.lpm.2016.04.020.
6. Roque-Afonso AM. Hépatite E et Greffe d'Organe. La Lettre de l'infectiologue. Tome XXXI N°3, 2016 : 92-95.
7. Lejeune AC, Vion B, Mathieu A, Le Dault E, Luciano L, Surcouf C, Roque-Afonso AM, Coton T. Hépatite E aigüe sévère autochtone à virus de géotype 4. Presse Med. 2016 May 24. pii: S0755-4982(16)30081-1. doi: 10.1016/j.lpm.2016.04.020.

8. Boudinot LH, Roque-Afonso AM, Broche B, Mendy A, Schwartzentruber E, Couturier E, Rousseau C. Épidémie d'hépatite A liée à la contamination des denrées d'une boulangerie pâtisserie Hérault, 2014. Bull Epidemiol Hebd. 2017;(21):447-54
9. Le Bourhis-Zaimi M, Roque-Afonso AM, Chemlal K, Ndeikoundam Ngangro N, Nicolay N. Épidémie d'hépatite A parmi des hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes, Rouen, décembre 2016 – avril 2017. Bull Epidemiol Hebd. 2017;(18):355-61.
10. Couturier E, Mouna L, Letort MJ, Van Cauteren D, Roque-Afonso AM, De Valk H. Dix premières années de surveillance de l'Hépatite A par la déclaration obligatoire, France 2006-2015. Bull Epidemiol Hebd. 2018 ; (5) :68-77.
11. Roque-Afonso AM. Les enjeux de la vaccination contre l'hépatite A. **Rev Prat**. 2018. Tome 68_N°3 : 291-2.
12. Mouna L, Bouthry E, Roque-Afonso AM. Epidémiologie et diagnostic de l'hépatite A; Feuilles de Biologie 2018. N° 344

Publications internationales

- 1- Haïm-Boukoba S, Ferey MP, Vétillard AL, Jebbloui A, Pélissier E, Pelletier G, Teillet L, Roque-Afonso AM. Transfusion-transmitted hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug-induced toxicity. J Hepatol 2012, 57:1374-8.
- 2- Jebbloui A, Haim-Boukoba S, Marchadier E, Mokhtari C, Roque-Afonso AM. Genotype 4 Hepatitis E Virus in France: an autochthonous infection with a more severe presentation. Clin Infect Dis 2013; 57(4):e122-6.
- 3- Coilly A, Haim-Boukoba S, Antonini T, Pause A, Mokhtari C, Becq A, Farahmand H, Hauser L, Duclos-Vallée JC, Samuel D, Adam R, Roque-Afonso AM. Post-transplantation Hepatitis E: Transfusion-transmitted hepatitis rising from the ashes. Transplantation 2013;96:e4-6.
- 4- Mokhtari C, Marchadier E, Haïm-Boukoba S, Jebbloui 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.
- 5- 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.
- 6- 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.
- 7- Hauser L. Roque-Afonso AM, Beyloun A, Simonet M, Deau Fischer B, Burin des Roziers N, Mallet V, Tiberghien P, Bierling P. Hepatitis E transmission by transfusion of Intercept blood system treated plasma. Blood 2014 ;123:796-7.
- 8- 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.
- 9- 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. J Virol 2014;11:68.
- 10- 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.
- 11- Coudray-Meunier C, Fraisse A, Mokhtari C, Martin-Latil S, Roque-Afonso AM, Perelle S. Hepatitis A virus subgenotyping based on RT-Qpcr assays. BMC Microbiology 2014;14:296.
- 12- Haim-Boukoba S, Coilly A, Sebah M, Bouamoud M, Antonini T, Yordanova O, Savary J, Saliba F, Duclos-Vallée JC, Samuel D, Ichai P, Roque-Afonso AM. Hepatitis E infection in patients with severe acute alcoholic hepatitis. Liver Int 2015;35:870-5.

- 13- 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;71:141-144.
- 14- 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;20(4).
- 15- Bauer H, Luxembourger C, Gottenberg JE, Fournier S, Abravanel F, Cantagrel A, Chatelus E, Claudepierre P, Hudry C, Izopet J, Fabre S, Lefevre G, Marguerie L, Martin A, Messer L, Molto A, Pallot-Prades B, Pers YM, Roque-Afonso AM, Roux C, Sordet C, Soubrier M, Veissier C, Wendling D, Péron JM, Sibilia J. Outcome of hepatitis E virus infection in patients with inflammatory arthritides treated with immunosuppressants: a French retrospective multicenter study. *Medicine* 2015;94:e675.
- 16- Severi E, Verhoef L, Thornton L, Guzman-Herrador BR, Faber M, Sundqvist L, Rimhanen-Finne R, Roque-Afonso AM, Ngui SL, Allerberger F, Baumann-Popczyk A, Muller L, Parmakova K, Alfonsi V, Tivoschi L, Vennema H, Fitzgerald M, Myrmel M, Gertler M, Ederth J, Kontio M, Vanbockstael C, Mandal S, Sadkowska-Todys M, Tosti ME, Schimmer B, O'Gorman J, Stene-Johansen K, Wenzel JJ, Jones G, Balogun K, Ciccaglione AR, O'Connor L, Vold L, Takkinen J, Rizzo C. Large and prolonged food-borne multistate hepatitis A outbreak in Europe associated with consumption of frozen berries, 2013 to 2014. *Euro Surveill.* 2015;20:21192.
- 17- Pischke S, Hartl J, Roque-Afonso AM, Mallet V. Apolipoprotein E $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$ are associated with a lower exposure to hepatitis E virus in American non-Hispanic blacks. *Hepatology* 2016;64:687-688.
- 18- Mallet V, Sberro-Soussan R, Vallet-Pichard A, Roque-Afonso AM, Pol S. Transmission of Hepatitis E Virus by Plasma Exchange: A Case Report. *Ann Intern Med* 2016;164:851-2.
- 19- Renou C, Lesgourgues B, Macaigne G, Pauwels A, Le Bricquie Y, Henrion J, Khemissa F, Clair E, Paupard T, Pelaquier A, Agostini H, Roque-Afonso AM. Hepatitis E in decompensated alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 2017;65:388-389.
- 20- Pourbaix A, Ouali N, Soussan P, Roque-Afonso AM, Peraldi MN, Rondeau E, Peltier J. Evidence of hepatitis E virus transmission by renal graft. *Transpl Infect Dis.* 2017;19(1).
- 21- De Martin E, Antonini TM, Coilly A, Pittau G, Vibert E, Duclos-Vallée JC, Samuel D, Roque-Afonso AM. HCV and HEV recurrence after liver transplantation: one antiviral therapy for two viruses. *Transplant Int* 2017;30:318-319.
- 22- Charre C, Ramière C, Roque-Afonso AM, Chidiac C, Zoulim F, Godinot M, Koffi J, Scholtès C, Livrozet JM, HAV Lyon Study Group, Cotte L. HAV outbreak in French HIV-infected MSM and PrEP users despite a high immunization rate. *Eurosurveill.* *Euro Surveill.* 2017;22:17-00742.
- 23- Neffatti H, Lebraud P, Hottelet C, Gharbi J, Challouf T, Roque-Afonso AM. Southern Tunisia: a still high endemicity area for Hepatitis A. *PlosOne* 2017;12:e0175887.
- 24- Mallet V, Bruneau J, Zuber J, Alanio C, Leclerc-Mercier S, Roque-Afonso AM, Kraft ARM, Couronné L, Roulot D, Wedemeyer H, Albert ML, Hillon P, Laroche L, Pol S, Hermine O. Hepatitis E Virus-Induced Primary Cutaneous CD30(+) T cell Lymphoproliferative Disorder. *J Hepatol.* 2017;67:1334-1339.
- 25- Todesco E, Demeret S, Calin R, Roque-Afonso AM, Thibault V, Mallet V, Akhavan S, Jaspard M, Peytavin G, Poynard T, Katlama C, Pourcher V. Chronic hepatitis E in HIV/HBV coinfectde patient: lack of power of sofosbuvir-ribavirin. *AIDS.* 2017;31:1346-1348.
- 26- Ndumbi P, Freidl GS, Williams C, Mardh O, Varela C, Avellón A, Friesema I, Vennema H, Beebejaun K, Ngui SL, Edelstein M, Smith-Palmer A, Murphy N, Dean J, Faber M, Wenzel J, Kontio M, Müller L, Midgley S, Sundqvist L, Ederth J, Roque-Afonso AM, Couturier E, Klamer S, Rebolledo J, Suin V, Aberle SW, Schmid D, de Sousa R, Augusto GF, Alfonsi V, Del Manso M, Ciccaglione A, Mellou K, Hadjichristodoulou C, Donachie A, Borg M, Sočan M, Poljak M, Severi E 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; 23(33).

- 27- Kaiser M, Delaune D, Chazouillères O, Blümel J, Roque-Afonso AM, Baylis SA. A World Health Organization human hepatitis E virus reference strain related to similar strains isolated from rabbits. *Genome Announc.* 2018;6:e00292-18.
- 28- Mallet V, Sberro R, Roque-Afonso AM, Vallet-Pichard A, Deau-Fischer B, Portal A, Chaix ML, Hauser L, Beylouné A, Mercadier A, Izopet J, Legendre C, Pol S. Transmission of hepatitis E virus with plasma exchange in kidney-transplant recipients: a retrospective cohort study. *Transplantation* 2018;102:1351-1357.
- 29- 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;23:463-465.
- 30- Bisseux M, Colombet J, Mirand A, Roque-Afonso AM, Abravanel F, Izopet J, Archimbaud C, Peigue-Lafeuille H, Debroas D, Bailly JL, Henquell C. 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. *Eurosurveill.* 2018;23:17-00237.
- 31- Bouthry E, Benachi A, Vivanti AJ, Letamendia E, Vauloup-Fellous C, Roque-Afonso AM. Mild course of autochthonous Hepatitis E during pregnancy in France. *Emerg Infect Dis.* 2018;24:1586-1587.
- 32- 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;23:1800237.
- 33- Alnuaimi K, Lavolé J, Lascoux-Combes C, Roque-Afonso AM, Sogni P, Pol S, Mallet V. Chronic hepatitis E in patients with indolent lymphoma after treatment with rituximab and bendamustine. *Hepatology*, 2018;67:2468-2470.
- 34- Gassowski M, Michaelis K, Wenzel JJ, Faber M, Figoni J, Mouna L, Friesema IH, Vennema H, Avellon A, Varela C, Sundqvist L, Lundberg Ederth J, Plunkett J, Balogun K, Ngui SL, Midgley SE, Gillesberg Lassen S, Müller L. Two concurrent outbreaks of hepatitis A highlight the risk of infection for non-immune travellers to Morocco, January to June 2018. *Euro Surveill.* 2018 Jul;23(27). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.27.1800329.
- 35- Guillaume M, Mouna L, Coustillères F, Lemée V, Roque-Afonso AM, Mourez T, Lefaucheur R. Invasive meningoenzephalitis as the first manifestation of hepatitis A. *J Viral Hepat* 2019;26:1330-1333.
- 36- Izquierdo L, Mellon G, Buchaillet C, Fac C, Soutière MP, Pallier C, Dulioust A, Roque-Afonso AM. Prevalence of hepatitis E virus and reassessment of HIV and other hepatitis virus seroprevalences among French prison inmates. *PLoS One.* 2019;14:e0218482.
- 37- Enkirch T, Severi E, Vennema H, Thornton L, Dean J, Borg ML, Ciccaglione AR, Bruni R, Christova I, Ngui SL, Balogun K, Němeček V, Kontio M, Takács M, Hettmann A, Korotinska R, Löve A, Avellón A, Muñoz-Chimeno M, de Sousa R, Janta D, Epštein J, Klamer S, Aberle SW, Holzmann H, Mellou K, Lundberg Ederth J, Sundqvist L, Roque-Afonso AM, Kurečić Filipović S, Poljak M, Vold L, Stene-Johansen K, Midgley S, Kølsten Fischer T, Faber M, Wenzel JJ, Takkinen J, Leitmeyer K. 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* 2019;24:1800397.
- 38- Gallian P, Barlet V, Mouna L, Gross S, Morel P, Le Cam S, Ricard C, Maugard C, Pouchol E, Flan B, Visse C, Djoudi R, Figoni J, De Valk H, Tiberghien P, Roque-Afonso AM. Persisting higher prevalence of hepatitis A virus RNA in blood donors, France, 2018. *Euro Surveill.* 2019;24:1900695.
- 39- Abi Nader E, Girard M, Leruez-ville M, Sissaoui S, Lacaille F, Roque-Afonso AM, Debray D. Seroprevalence of Hepatitis E Virus Infection in Children after Liver Transplantation: A Single-Center Experience in France. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2019;44:174-180.

- 40- Izquierdo L, Mellon G, Buchaillet C, Fac C, Soutière MP, Pallier C, Dulioust A, Roque-Afonso AM. Prevalence of hepatitis E virus and reassessment of HIV and other hepatitis virus seroprevalences among French prison inmates. Plos One 2019 Jun 26;14(6):e0218482.
- 41- Gallian P, Pouchol E, Djoudi R, Lhomme S, Mouna L, Gross S, Bierling P, Assal A, Kamar N, Mallet V, Roque-Afonso AM, Izopet J, Tiberghien P. Transfusion-transmitted hepatitis E virus infection in France. Transfus Med Rev 2019;33:146-153.
- 42- Gallian P, Barlet V, Mouna L, Gross S, Morel P, Le Cam S, Ricard C, Maugard C, Pouchol E, Flan Bt, Visse C, Djoudi R, Figoni J, De Valk H, Tiberghien P, Roque-Afonso AM. Persisting higher prevalence of hepatitis A virus RNA in blood donors, France, 2018. Euro Surveill. 2019;24(47):pii=1900695.
- 43- Baylis SA, Hanschmann KMO, Matsubayashi K, Sakata H, Roque-Afonso AM, Kaiser M, Corman VM, Kamili S, Aggarwal R, Trehanpati N, Gärtner T, Thomson EC, Davis CA, da Silva Filipe A, Abdelrahman T, Blümel J, Terao E, and the HEV collaborative study group. Development of a World Health Organization International Reference Panel for different genotypes of hepatitis E virus for nucleic acid amplification testing. J Clin Virol 2019;119:60-67.
- 44- Lefaucheur R, Guillaume M, Mouna L, Coustilleres F, Lemee V, Roque-Afonso AM, Mourez T. Invasive meningoencephalitis as the first manifestation of hepatitis A. J Viral Hepat 2019;26:1330-1333.
- 45- Enkirch T, Severi E, Vennema H, Thornton L, Dean J, Borg ML, Ciccaglione AR, Bruni R, Christova I, Ngui SL, Balogun K, Němeček V, Kontio M, Takács M, Hettmann A, Korotinska R, Löve A, Avellón A, Muñoz-Chimeno M, de Sousa R, Janta D, Epštein J, Klamer S, Aberle SW, Holzmann H, Mellou K, Lundberg Ederth J, Sundqvist L, Roque-Afonso AM, Kurečić Filipović S, Poljak M, Vold L, Stene-Johansen K, Midgley S, Kølsten Fischer T, Faber M, Wenzel JJ, Takkinen J, Leitmeyer K. 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 2019;24:1800397.
- 46- Xhaard A, Roque-Afonso AM, Mallet V, Ribaud P, Nguyen-Quoc S, Rohrlisch PS, Tabrizi R, Konopacki J, Lissandre S, Abravanel F, Peffault de Latour R, Huynh A. Hepatitis E and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a French nationwide SFGM-TC retrospective study. Viruses 2019;11:622.
- 47- Nicolay N, Le Bourhis-Zaimi M, Lesourd A, Martel M, Roque-Afonso AM, Erouart S, Etienne M, Ndeikoundam-Ngangro N. A description of a hepatitis A outbreak in men who have sex with men and public health measures implemented in Seine-Maritime department, Normandy, France, 2017. BMC Public Health 2020;20:1441.
- 48- Mouna L, Akhavan S, Jadoui A, Chevaliez S, Griscelli F, Laperche S, Roque-Afonso AM. Accuracy assessment of total or IgG Immunoglobulin to hepatitis A virus tests around immunity threshold. J Clin Virol. 2021;146:105059.
- 49- Mallet V, Scarano Pereira JP, Martinino A, Roque-Afonso AM. The rise of hepatitis E virus. J Hepatol. 2021;75:1491-1493.
- 50- Lefeuve C, Mahieu R, Boyer F, Le Cam S, Mouna L, Roque-Afonso AM, Lefort C, Le Guillou-Guillemette H. Hepatitis A virus, a transfusion-transmissible infection excluded from routine screening and not prevented by pathogen inactivation system. Emerg Infect Dis. 2022;28:219-223.

Communications nationales et conférences nationales sur invitation

1. Haim-Boukoba S, Férey MP, Vétillard AL, Pelissier A, Pelletier G, Teillet L, Roque-Afonso AM. Transmission transfusionnelle du virus de l'hépatite E. JFV, Paris 2012.
2. Mokhtari C, Marchadier E, Tessé S, Savary J, Dussaix E, Roque-Afonso AM. Evaluation de différentes techniques de détection de l'ARN du virus de l'hépatite E par RT-PCR temps-réel. JFV, Paris 2012.
3. Biologiste TV, Montpellier : Actualités diagnostiques des hépatites A et E, 2012, Janv.
4. Maladies Infectieuses, Hôpital Bicêtre : Hépatite E le renouveau d'une vieille maladie, 2012, Fév.

5. Rencontres Virologiques Gilead, Boulogne : Actualités post EASL. : Hépatite E, quoi de neuf ?, 2012, Juin.
6. Hépatologie, Hôpital J Verdier, Bondy : Hépatite E le renouveau d'une vieille maladie, 2012, Mai.
7. 13èmes journées RHEVIR, La Grande Motte : L'hépatite E : nouveautés et diagnostic, 2012 Septembre.
8. Staff anatomo-clinique, Villejuif : Hépatite E : Epidémiologie et diagnostic, 2012, Oct. 24.
9. Rencontres Microbio-cliniques (RMC), Paris : Hépatite E : outils diagnostiques, 2012, Nov 20.
10. RICAI, Paris : L'hépatite E : l'autre hépatite à transmission orale, 2012, Nov 22.
11. Staff multidisciplinaire CHR Orléans : Hépatite E : Epidémiologie, diagnostic et particularités cliniques, 2012, Déc. 3.
12. Hépatologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris : Hépatite E et transplantation hépatique, 2013, Nov. 21.
13. Preceptorship on Liver Transplantation, Villejuif: Hepatitis E after Liver Transplantation, 2013, Oct 11.
14. Hépatologie Hôpital Henri Mondor, Créteil : Hépatite E et Transplantation hépatique, 2013, Oct. 16.
15. Journées Hépatobiliaires, Paris : L'hépatite E, un problème émergent, 2013, Juin 7.
16. Journées Franco-Maghrébines de Virologie, Marrakech, Maroc : Hépatite A, Epidémiologie et Physiopathologie, 2013, Oct. 23-25.
17. Roque Afonso AM. ; Renou C. ; Califano JP. ; Pavio N. Transmission zoonotique du VHE : une preuve formelle par consommation de figatellu **AFFEF**, Paris 24-27 sept. 2014.
18. Hauser L, Roque Afonso AM, Beylouné A, Simonet M, Deau Fischer B, Burin des Rozières N, Mallet V, Tiberghien P, Bierling P. Double transmission du virus de l'hépatite E par du plasma traité par Amotosalen. **Congrès de la SFTS** 2014.
19. Médecine Interne, Hôpital Amboise Paré, Boulogne. Hépatite E : mise au point, 2014, Juin.
20. Hépatologie, Hôpital Beaujon, Clichy : Hépatite E et Transplantation hépatique, 2014, Janv. 21.
21. Djoudi R, Gallian P, Roque-Afonso AM, Bierling P, Assal A, Hauser L, Izopet J, Tiberghien P. Hépatite E, transmission et risque transfusionnel : analyse des cas 2006–2013. **Congrès de la SFTS** Sept 2015.
22. Médecine Interne, Hôpital Raymond Poincaré, Garches. Hépatites à transmission entérique, 2015, 20 fév.
23. Médecine Interne, Hôpital Tenon, Paris. Hépatites à transmission entérique, 2015, 9 avr.
24. Colloque « Vers un contrôle mondial des hépatites virales », Société de Pathologie Exotique Institut Pasteur, Paris : La vaccination des hépatites A et E, 2015, 9 mai.
25. Onco-Hématologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif. Hépatite E : diagnostic et formes cliniques, 2015, 5 juin.
26. 23^{ème} congrès de l'ANGH (Association Nationale des Hépatogastroentérologues), Orléans : Hépatite E, 2015, 19 Sept.
27. 5^{ème} journée de virologie clinique (DPC), Paris : Actualités sur l'hépatite A, 2015, 16 déc.
28. Renou C, Lesgourgues B, Agostini H, Macaigne G, Pauwels A, Le Bricquier Y, Henrion J, Khemissa F, Clair E, Paupard T, Pelaquier A, Minazzi H, Doumet S, Arpurt JP, Locher C, Seyrig JA, Ferrand E, Garioud A, Skinazi F, Bardou D, Heluwaert F, Arotcarena R, Schnee M, Bertolino JG, Dupuychaffray JP, Crombe V, Roque-Afonso AM. Rôle du virus de l'hépatite E dans la décompensation de la cirrhose alcoolique ? Données d'une étude prospective et multicentrique. **AFFEF**, Bordeaux 28 sept-1^{er} oct 2016.
29. Microbiologie, Hôpital Necker, Paris. Hépatite E : où en sommes-nous ? 2016, 17 fév.
30. Association Nationale Française de FMC en Hépatogastro-Entérologie, JFHOD, Paris. Hépatite E, 2016, 19 mars.
31. Congrès de la Société Française de Pédiatrie, Lille. Hépatites Virales A et E, actualités, 2016, 19 mai.

32. Colloque virus et aliments, Recherche, caractérisation et maîtrise du danger viral dans les aliments, Paris : Hépatite A, données épidémiologiques et approches diagnostiques, 2016, 10 juin.
33. Journée GHIF (FMC) : Hépatite E, Diagnostic et traitement, 2016, 11 juin.
34. Immunologie Clinique, HEGP, Paris : Hépatite E après transplantation, Vers un dépistage systématique ? 2016, 11 oct.
35. SMIT, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre : Hépatite E : une anthroponose installée, 2016, 9 déc.
36. Mouna L, Izquierdo L, Decombe G, Couturier E, Roque-Afonso AM. Caractéristiques et Evolution des cas d'hépatite A confirmés entre 2016 et 2017 en France. **RICAI** Paris 2017.
37. Antonini T, Roque-Afonso AM, Samuel D, Duclos-Vallée JC, Coilly A, Gagnard JC, Derradji O, Wyplosz B. Couverture vaccinale des candidats à une transplantation hépatique : état des lieux chez 76 malades et évaluation d'une vaccination en hospitalisation. **JNI** St Malo 2017.
38. AM Roque-Afonso ; EPSNF, Fresnes : Hépatite E : Epidémiologie et Populations à risque, 2017, 29-mar.
39. 2017, 22-23 jul. 4th International HIV/Viral Hepatitis Co-infection Meeting. Paris, France. Hepatitis A: Still there.
40. AM Roque-Afonso. Journée du réseau Bastille (FMC Artemis Medica). Hépatite A, 2017, 20 Oct.
41. AM Roque-Afonso. GEMHEP, Paris : Hépatite A, actualités, 2017, 4 Déc.
42. Izquierdo L, Mellon G, Fac C, Soutière MP, Pallier C, Buchaillet C, Dulioust A, Roque-Afonso AM. Prévalence de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine et les virus des hépatites chez les personnes incarcérées en France. **JNI** Nantes Juin 2018.
43. AM Roque-Afonso. Journées Hépatobiliaires (DPC), Paris : Nouvelles épidémiologie de l'Hépatite A, 2018, 4 Mai.
44. AM Roque-Afonso. Journée annuelle du groupe vaccination-prévention de la SPLIF, Paris. Point sur l'épidémie européenne d'hépatite A, 2018, 18 mai.
45. AM Roque-Afonso. Actualités et Conséquences Pratiques dans les Hépatites Virales, Paris. Recommandations Vaccinales et Cirrhose, 2018, 31 mai.
46. Congrès National de la Société Française de Microbiologie, Paris Virus entériques et environnement : focus sur les hépatites A et E, 2018, 3 oct.
47. Synergies. Aix en Provence. Hépatites A et E, 2018, 5 oct.
48. 2018, 6 déc. GEMHEP. Paris. Hépatite A : formes cliniques
49. Demortier J, Mouna L, Olivier S, Boutouaba S, Subiros M, Roque-Afonso AM, Vauloup-Fellous C. Hépatites aiguës A à Mayotte: analyse moléculaire et épidémiologique. **RICAI**, Paris Dec. 2019.
50. SMIT Hôpital St Antoine. Hépatite E : y pensons-nous suffisamment ? 2019, 4 Fév.
51. Vincent N, Durandin F, Roque-Afonso AM, Morvan E, Nisavanh A, Jourdan-da-silva N, Meaux S, Martou C, Figoni J. Investigation d'un épisode de cas groupé d'hépatite A (génotype 1B) en lien avec la fréquentation d'un restaurant, Juin 2019. **JNI**, Poitiers, 2020.

Communications Internationales et conférences internationales sur invitation

1. Jebblaoui A, Pausé A, Mokhtari C, Nicand E, Roque-Afonso AM. Emerging Hepatitis E genotype 4 infection in France. **European Society for Clinical Virology (ESCV)**, Madrid, Spain, Sept 2012.
2. 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.

3. Haim-Boukobza S, Ichai P, Coilly A, Yordanovna O, Bouamoud M, Savary J, Saliba F, Samuel D, Roque-Afonso AM. Hepatitis E prevalence in patients with acute alcoholic hepatitis: a single center experience. **5th European Congress of Virology**, Lyon, France, Sept 2013.
4. Macé M, Roque-Afonso AM. Molecular epidemiology of Hepatitis A virus in France, 2004-2012. **5th European Congress of Virology**, Lyon, France, Sept 2013.
5. Jebblaoui A, Pausé A, Mokhtari C, Nicand E, Roque-Afonso AM. Emerging Hepatitis E genotype 4 infection in France. **EASL**, Amsterdam, Avril 2013.
6. 2013, Oct. 23-25, Journées Franco-Maghrébines de Virologie, Marrakech, Maroc : Hépatite A, Epidémiologie et Physiopathologie.
7. Roque-Afonso AM, Renou C, Pavio N. First case of direct evidence of a HEV autochthonous and zoonotic transmission in a Western European country. **ESCV Prague Rep Tchèque**, Sept 2014.
8. Djoudi R, Gallian P, Roque-Afonso AM, Assal A, Bierling P, Izopet J, Tiberghien P. Occurrence of Transfusion-transmitted Hepatitis E in France. **ISBT**, London UK juin 2015.
9. Neffati H, Lebraud P, Hottelet C, Roque-Afonso AM. Hepatitis A and E among asymptomatic pregnant women and acute hepatitis patients from South Tunisia. **ESCV**, Lisbonne, Portugal 2016.
10. Izquierdo L, Mellon G, Fac C, Soutière MP, Pallier C, Buchaillet C, Dulioust A, Roque-Afonso AM. Prevalence of human immunodeficiency virus and hepatitis viruses among French prison inmates. **ECCMID**, Madrid, Spain Apr 2018.
11. Roque-Afonso AM. 2017, 22-23 jul. **4th International HIV/Viral Hepatitis Co-infection Meeting**. Paris, France. Hepatitis A: Still there.
12. Roque-Afonso AM. 2018, 29-30 May. **ESCV Hepatitis Whorshop**, Copenhagen, Denmark. Transfusion transmitted HEV infections.
13. Mouna L, Boutry E, Decombe G, Roque-Afonso AM. Description of hepatitis A confirmed cases, France, 2016 to 2017. **ESCV**, Athens, Greece Sept 2018.
14. Lambert Y, Rolland P, Mouna L, Charron M, Bernadou A, Le Gaillard V, Fabre P, Roque-Afonso AM, Vandentorren S. 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.

Partenariats ou collaborations avec des structures ou instances nationales ou internationales

- ANSES : Collaboration avec Sylvie Pérelle (unité Virus Eau et Aliments) dans le cadre de suspicion de contamination hydrique ou alimentaire et dans le cadre de développements technologiques
- IFREMER : collaboration avec Soizick Le Guyader dans le cadre d'enquêtes autour de cas groupés avec suspicion de contamination par des coquillages (ex Belle-Ile-en-Mer en 2016)
- EFS : collaboration dans le cadre de suspicion de contamination transfusionnelle et expertise des dons du sang positifs en DGV VHA
- ECDC : groupes de travail sur l'harmonisation du typage et réponse aux épidémies
- Réseau HAVnet (RIVM, Pays Bas)

5. DESCRIPTION DES PROCESSUS QUALITE ET GARANTIES MISES EN ŒUVRE AU SEIN DU LABORATOIRE

5.1 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.

5.2 Laboratoire de virologie de l'Hôpital Paul Brousse

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). Les examens effectués au sein du CNR des hépatites à transmission entérique appartiennent à deux lignes de portée MG01 et VB01. Le laboratoire est déjà accrédité pour ces deux lignes en portée A, l'extension en portée B est prévue courant 2022. Il s'engage également à ouvrir en accréditation les lignes MG05 et VB04 auxquelles appartiennent les examens syndromiques et les analyses NGS effectués

- MG01 : portée A, Sérologies (IgM), Sérologies (IgG, Ac Totaux), portée B : Avidité IgG VHA
- VB01 : portée A : PCR VHE, portée B : PCR VHA, Génotypage VHA/VHE (Sanger)

L'organisation du système de management de la qualité se décline en approche processus/sous-processus, identifiés sur la cartographie des processus :

- Processus Management (M1 Stratégie et organisation, M2 Amélioration, M3 Système documentaire)
- Processus Réalisation (R1 Pré-analytique, R2 Analytique, R3 Post-analytique)
- Processus Support (S1 Ressources humaines, S2 Matériels, réactifs et consommables, S3 Exigences en matière de locaux, S4 Système d'information)

Les risques associés à chaque processus sont identifiés, hiérarchisés ; des actions d'amélioration prioritaires peuvent être identifiés, au regard du niveau de maîtrise du risque. L'évaluation de l'efficacité, de la pertinence et de la maturité des processus est réalisée lors d'une Revue annuelle : pour les sous-processus de réalisation, elle est assurée au sein de chaque structure interne. Celles des sous-processus management et support sont faites de manière transversale au sein du LBM. La gestion documentaire, le suivi des non-conformités et les actions d'amélioration continue sont réalisées grâce au logiciel Kalilab.

Les examens effectués dans le cadre du CNR et les préconisations à l'usage des professionnels de santé sont inclus dans le guide des examens du LBM VISKALI : <https://hups.manuelprelevement.fr/GHT/hups/> . L'ensemble des exigences pré-analytiques sont précisé ainsi que les documents indispensables à la bonne réalisation des explorations biologiques (Nature de prélèvement, conditions d'acheminement, délai de rendu des résultats, délai d'ajout d'examen et cotations, feuille de demande et fiches de renseignements cliniques).

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 audité sur une base annuelle.

Outre le CNR des hépatites à transmission entérique, le Laboratoire héberge également le CNR associé pour la Rubéole, au sein du CNR Rougeole Oreillons Rubéole. Au titre de cette activité, le laboratoire est accrédité en tant que laboratoire National OMS pour la Rubéole depuis Février 2014.

5.3 Démarche commune

Les deux laboratoires du CNR pratiquent depuis 2012 des échanges inter-laboratoire pour des marqueurs pour lesquels il n'existe pas d'organisation d'évaluation externe de la qualité notamment pour la détection de l'ARN VHA et le génotypage du VHE.

6. DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

6.1 Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

Le système d'information du laboratoire de Virologie et de l'ensemble des laboratoires du CHU de Toulouse est le système Molis (société V4H). Toutes les demandes d'examens, enregistrées par scannage automatique des prescriptions, sont visualisables par les biologistes lors de la validation. L'outil « Business Objects » permet la réalisation de requêtes permettant les relevés épidémiologiques et les statistiques d'activité.

La capacité du laboratoire à mettre en œuvre la transmission régulière et automatisée de données vers Santé Publique France est illustrée par son activité depuis de nombreuses années dans la transmission de relevés épidémiologiques de l'infection à HIV, HCV, HBV et HAV, des entérovirus, de la rubéole, de la rougeole, du virus de la grippe et du SARS-CoV-2.

La conformité à la réglementation relative au traitement automatisé des données à caractère personnel est effective pour tous les projets conduits au laboratoire.

Depuis 2015, le pôle biologie du CHU de Toulouse a structuré une plateforme bioinformatique-NGS permettant de fédérer les équipements NGS de 2 sites (Purpan et Langlade) et l'ensemble des besoins concernant le calcul, le stockage et l'archivage des 3 domaines prioritaires : oncohématologie, génétique constitutionnelle et infectiologie. La cellule bioinformatique coordonnée par un bioinformaticien et un biologiste comprend actuellement 7 bioinformaticiens, 5 pour l'axe oncohématologie et 2 pour l'axe génétique constitutionnelle / infectiologie. Le laboratoire de Virologie possède également 2 bioinformaticiens dont les activités au titre du CNR sont estimées à 1 équivalent temps plein.

Les principales caractéristiques du cluster sont :

- une puissance de calcul assurée par 7 serveurs de calculs en parallèle et un serveur interactif pour le développement et les compilations (512 cœurs et 5.12 To de RAM) ainsi que 7 autres serveurs de calculs en parallèle et un serveur interactif pour le développement et les compilations (192 cœurs et 2048 Go de RAM).
- Un espace de stockage avec des droits sur les répertoires (58 To pour les séquenceurs et 55 To pour le calcul , 370 To pour les laboratoires).
- un espace d'archivage (2*550 To)
- un espace de virtualisation

L'administration du cluster est assurée par les bioinformaticiens du site de Langlade.

Il importe de noter que cette organisation a permis une réponse efficace dans le cadre de la crise sanitaire liée au COVID-19 avec le traitement et la transmission à l'Institut Français de Bioinformatique d'un volume important de séquences génomiques complètes SARS-CoV-2 (Consortium EMERGEN – Réseau ANRS-MIE).

6.2 Laboratoire de Virologie de l'Hôpital Paul Brousse

Le système d'information du laboratoire est le système GLIMS (société MIPS). Toutes les demandes d'examens, enregistrées par scannage automatique des prescriptions, sont visualisables par les biologistes lors de la validation. Ses outils de requête permettent l'exportation de données pour des relevés épidémiologiques, des statistiques d'activité, ou la gestion des sérothèques.

Après caractérisation, les échantillons du CNR sont intégrés au CRB Paris Sud. La gestion des sérothèques et données associées est gérée par le logiciel Tumorotek.

Les séquences ADN des souches virales sont saisies de manière prospective, avec les informations épidémiologiques afférentes, dans la suite logicielle BioNumerics qui permet de comparer toute nouvelle souche à l'ensemble des souches préalablement identifiées. Les fichiers sont hébergés sur un serveur sécurisé (Déclaration CNIL 2170170).

La conformité à la réglementation relative au traitement automatisé des données à caractère personnel est effective pour tous les projets conduits au laboratoire. Les déclarations CNIL sont suivies par la Direction du Système d'Information (DSI)

7. PROPOSITION DE PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL POUR LA PERIODE 2023-2027

7.1 Activités d'expertise

7.1.1. Hépatite E

a- Evaluation des techniques d'immuno-analyse et moléculaires proposées par les industriels

Compte-tenu de la fréquence et de l'impact en santé publique des infections par le VHE, de nombreuses firmes ont développé des tests d'immunoanalyse permettant la détection des anticorps anti-VHE (IgG et IgM) sous différents formats (microplaques, tests rapides immunochromatographiques, automates multiparamétriques). Les performances de ces techniques, notamment en termes de sensibilité et de spécificité, doivent être évaluées et des études comparatives sont indispensables.

Les évaluations seront réalisées grâce à des panels d'échantillons recueillis à différents stades de l'infection par le VHE (infection aiguë, infection chronique, infection guérie naturellement ou après traitement par ribavirine). Ces échantillons parfaitement caractérisés sur le plan clinique et virologique (génotypes 1-4) sont disponibles dans la biothèque VHE du laboratoire de virologie du CHU de Toulouse (CRB – Toulouse Bioressources – n°AC-2021-4822). Les tests de référence sont les tests actuels ayant fait l'objet d'études de validation et accrédités selon la norme ISO 15189.

Pour les IgM anti-VHE, une caractéristique importante réside dans la durée de détection de ce marqueur dans le contexte d'une primo-infection. Pour les IgG anti-VHE, la limite de détection du test est essentielle car elle permet d'expliquer une grande partie de la variabilité des résultats de séroprévalence dans une même population. La quantification des IgG anti-VHE par référence au standard international est également un élément essentiel et il importe donc de déterminer le domaine de linéarité et d'objectiver une corrélation des résultats obtenus avec les tests commerciaux disponibles.

Des tests de détection de l'antigène de capside du VHE ont également été développés. Les firmes sont en nombre limité mais les performances semblent avoir évolué en fonction des versions. La détection et la quantification de ce marqueur pourraient être intéressantes dans le sang mais aussi dans l'urine. Les performances cliniques et analytiques devront être comparées à celles obtenues avec un test moléculaire ARN VHE conventionnel.

Des tests moléculaires fondés sur la PCR ou la TMA (Transcription Mediated Assay) permettant la détection et la quantification de l'ARN VHE sont à présent disponibles. Si ces tests semblent adaptés à l'ensemble des génotypes de l'espèce *Paslahepevirus balayani* (HEV 1-8), ils ne détectent pas les souches du genre *Rocahepevirus* pouvant conduire à des infections humaines. Les nouvelles versions des tests actuels devront être évaluées.

b- Développement et optimisation de méthodes mesurant les anticorps neutralisants et la réponse immune cellulaire.

Pour les anticorps neutralisants, une approche conventionnelle en dilution limite utilisant un système cellulaire et une souche clinique sera mise en œuvre. L'objectif sera de déterminer la concentration d'anticorps conférant une protection contre une réinfection. La corrélation avec les résultats des IgG anti-VHE mesurés par immuno-analyse sera également étudiée.

Pour la réponse immune cellulaire, une approche par ELISPOT après stimulation des lymphocytes par des pools de peptides est envisagée.

c- Développement et optimisation des méthodes de séquençage de 2^{ème} et 3^{ème} génération

Plusieurs protocoles développés lors de la précédente mandature seront utilisés en pratique courante afin d'accroître le nombre de séquences de génomes complets de VHE. Des études comparatives entre 2^{ème} génération (courts fragments – Illumina) et 3^{ème} génération (longs fragments – PacificBiosciences et Oxford

Nanopore) seront réalisées. De plus la performance des approches d'enrichissement par capture par rapport aux approches de séquençage d'amplicons sera évaluée, notamment en termes de sensibilité. Si l'obtention de séquences génomiques complètes du VHE ne pose pas de problème lorsque la concentration d'ARN VHE est supérieure à 4 log copies/ml, l'objectif est de pouvoir obtenir des séquences génomiques complètes de VHE sur une grande proportion d'échantillons dont les concentrations d'ARN VHE sont comprises entre 3 et 4 log copies/ml.

L'étude des quasiespèces virales sera réalisée sur des amplicons d'environ 3 kilobases dans différentes régions génomiques incluant la région riche en proline, région hypervariable pouvant présenter des insertions de séquences de gènes humains. Nous utiliserons la technologie SMRT (Single Molecule Real Time) longs fragments de PacificBiosciences qui offre actuellement une exactitude proche de 100%. Différents pipelines seront évalués afin de retenir les plus performants avec des ressources de calcul optimisées. L'étude des quasiespèces virales permettra d'objectiver d'éventuelles co-infections ainsi que la présence de virus recombinants chez l'homme mais aussi chez les animaux réservoirs.

d- Autres activités d'expertise

- Réalisation de tests sérologiques et moléculaires pour les laboratoires confrontés à des difficultés diagnostiques
- Conception de dossiers cliniques proposés aux partenaires du réseau
- Transfert de souches et sérums afin de faciliter la validation de méthode des laboratoires
- Transfert de techniques

7.1.2 Hépatite A

Evaluation des techniques sérologiques et moléculaires proposées par les industriels

Au cours du mandat précédent nous avons réévalué l'exactitude des test IgG ou anticorps totaux anti-VHA autour du seuil d'immunisation. Au cours du prochain mandat, nous réévaluerons la sensibilité et spécificité analytique des tests IgM disponibles et tenterons de modéliser leur valeur prédictive positive, en fonction de différents facteurs, âge, ALAT, intensité du signal, etc...

Nous valoriserons par des publications les évaluations des tests moléculaires réalisées au cours du mandat précédent (Tests Altona) et poursuivrons l'évaluation des réactifs disponibles

Capacité à répondre à une situation sanitaire exceptionnelle

Nous avons montré lors de l'épidémie 2017, notre capacité à prendre en charge la caractérisation des souches lors d'une épidémie de grande ampleur. L'activité de PCR avait été multipliée par 4 et l'activité de séquençage par 7 par rapport à 2016, sans saturation technique.

Travaux de recherche appliquée : Etude de la réponse vaccinale

Il n'existe pas de test commercialisé pour distinguer une immunité vaccinale d'une infection naturelle guérie chez des patients porteurs d'IgG ou d'anticorps totaux anti-VHA. Nous explorerons plusieurs pistes pour distinguer ces deux situations

Nous allons poursuivre le développement d'une technique permettant l'évaluation de la réponse cellulaire anti-VHA (test IGRA : dosage de l'interféron gamma après stimulation des PBMC par de l'Ag VHA) qui sera corrélée au titre d'IgG anti-VHA. Parallèlement, nous développerons des méthodes d'évaluation de la réponse humorale : IgA sériques, IgG et IgA salivaires, et test de neutralisation en culture cellulaire. Ce dernier test contribuera à la validation du « seuil protecteur » d'anticorps anti-VHA.

Travaux de recherche appliquée : développement de protocoles de séquençage

Le CNR partagera avec l'oncogénétique la plateforme haut débit : un séquenceur NextSeq (Illumina) est en cours d'acquisition. Les protocoles de séquençage et les pipelines informatiques seront développés pour des études génome entier. Ces séquences permettront d'apprécier de manière fine la circulation du VHA et les modes de transmission : introduction, diffusion et éventuelle persistance environnementale.

Ce développement nous permettra également de reprendre nos recherches de hotspots de recombinaison à partir de co-cultures de souches de génotypes différents et d'estimer la fréquence de ces événements à partir de la collection de souches du CNR.

7.2 Activités de conseil, formation et information

Ces activités basées sur l'expertise des membres du CNR incluant la veille scientifique et technologique seront poursuivies selon les modalités suivantes.

Elles s'adressent :

- aux professionnels de santé : biologistes, médecins spécialistes et généralistes, épidémiologistes
- aux autorités de santé (Santé Publique France, ARS, autres agences, ministère en charge de la santé)
- au grand public

Le vecteur de communication sera bien sûr adapté aux interlocuteurs :

- rapports d'examens ou d'investigation
- publications didactiques
- conférences, séminaires : nous souhaitons en particulier organiser un séminaire CNR annuel sur les activités VHA et VHE.
- enseignement aux étudiants et formation continue (DPC)
- réunion dans le cadre de groupes de travail, notamment le groupe « Attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire » de l'ANSES récemment créé en réponse à une saisie de la direction générale de l'alimentation, la direction générale de la santé et la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes.

Contrairement au VHA dont les caractéristiques en terme de risque lié aux aliments sont bien documentées, la situation pour le VHE est très différente compte tenu de son caractère zoonotique et des données épidémiologiques récemment révélées grâce à l'optimisation des outils virologiques et aux études réalisées notamment en France.

Enfin, le site internet du CNR contient des informations pratiques sur les techniques et des recommandations sur les algorithmes diagnostiques ainsi que des informations scientifiques (publications clefs). Comme précédemment, les rapports d'activité du CNR figureront sur ce site régulièrement mis à jour.

7.3 Contribution à la surveillance épidémiologique

Les orientations proposées dans le cadre de la prochaine mandature reposent sur 5 points principaux :

- Mise en commun du réseau de laboratoires pour la surveillance du VHE et du VHA. Ce réseau est constitué par l'ensemble des hôpitaux universitaires, les hôpitaux généraux et les laboratoires privés incluant les laboratoires CERBA, Biomnis, Innovie et Biogroup. Pour chacun de ces laboratoires, des correspondants ont été identifiés. Une animation commune du réseau est prévue.
- Renforcement du partenariat avec l'EFS pour la surveillance chez les donneurs de sang
- Utilisation des techniques de séquençage à haut débit de 2^{ème} et 3^{ème} génération.
- Coordination avec la surveillance épidémiologique des autres pays européens.

- Coordination avec la surveillance des souches détectées chez les animaux (VHE) et dans l'environnement (VHE et VHA).

7.3.1. Hépatite E

a- Etude des cas symptomatiques d'hépatite E

La survenue de manifestations cliniques d'hépatite aiguë ou la mise en évidence d'une élévation des aminotransférases sériques à l'occasion de la prescription d'examen biologiques conduisent, selon les recommandations actuelles (HAS 2017 et EASL 2018), à la recherche d'IgM anti-VHE au même titre que la détermination des marqueurs sériques des autres hépatites virales A, B et C, indépendamment de la notion de voyage dans un pays étranger. Les données actuelles indiquent une augmentation progressive, au cours de ces dernières années, de la prescription des IgM anti-VHE mais ces prescriptions sont environ deux fois moins fréquentes que les prescriptions d'IgM anti-VHA, ce qui contribue au sous-diagnostic des hépatites aiguës à VHE. Une adhésion plus étroite aux recommandations concernant le VHE, notamment en médecine de ville, est attendue dans les prochaines années. Grâce au réseau de laboratoires partenaires publics et privés, une meilleure exhaustivité des cas d'hépatite E aiguë sera obtenue. Comme lors de la mandature précédente, les reliquats de sérum IgM anti-VHE positifs seront transmis au CNR pour la réalisation d'examen moléculaires complémentaires (quantification de l'ARN VHE et géotypage). La transmission concomitante des données clinico-biologiques (fiche CNR VHE) permettra d'identifier un lien entre le géotype et le phénotype clinique (nature et sévérité des manifestations cliniques). Des données préliminaires permettent de formuler deux hypothèses :

- une plus grande sévérité des infections à VHE - géotype 4 (rares en France) comparativement aux infections à VHE de géotype 3 (Jebblaoui Clin Infect Dis 2013 ; Micas Frontiers in Microbiology 2021)
- une plus grande sévérité des infections à VHE - géotype 3c comparativement aux infections à VHE - géotype 3f (Subissi Epidemiol Infect 2019 ; Abravanel Liver International 2020)

Par ailleurs, la distribution des sous-géotypes chez les personnes présentant des manifestations neurologiques (syndrome de Parsonage-Turner, syndrome de Guillain-Barré, méningo-encéphalite), associées à une infection à VHE-géotype 3 sera étudiée.

b- Etude des cas asymptomatiques d'hépatite E chez les donneurs de sang

A partir de janvier 2023, l'EFS mettra en place le dépistage génomique du VHE chez tous les donneurs de sang qui seront testés sur des minipools de 6. Cette mesure viendra compléter le dépistage génomique réalisé depuis 2013 chez les donneurs de plasma. Sur la base des études antérieures réalisées avec l'EFS et des données chez les militaires donneurs de sang pour lesquels le dépistage génomique du VHE a été instauré depuis 2019, le taux de positivité de l'ARN VHE est estimé à 1/1000. Le CNR prévoit de déterminer la charge virale et le géotype du VHE chez tous les donneurs positifs testés par l'EFS, soit environ 3000 individus par an. Le CNR poursuivra également la détermination de la charge virale et du géotype VHE chez les militaires donneurs de sang testés par le CTSA. Le caractère systématique de cette approche permettra d'éliminer les biais liés à l'hétérogénéité des pratiques de dépistage et de préciser l'épidémiologie de l'infection à VHE en France. Une estimation précise de la prévalence dans les différentes régions françaises et l'évolution de celle-ci dans le temps permettra la mise en place de mesures préventives et le suivi de leur efficacité.

Les données de distribution des géotypes et sous-géotypes, obtenues en métropole et outre-mer, seront comparées aux données européennes et internationales. En Europe, le dépistage universel du VHE a été introduit en Irlande, au Royaume-Uni, aux Pays-Bas et en Suisse. Un dépistage sélectif est réalisé en Autriche, au Luxembourg, en Allemagne et en Espagne. Au Danemark, en Suède, aux USA et au Canada, il n'y a pas de dépistage mais des études ponctuelles sont réalisées.

c- Etude de la séroprévalence du VHE en France

Une étude similaire à celle réalisée en 2012 chez les donneurs de sang sera réalisée (Mansuy Hepatology 2016). La méthodologie pour l'échantillonnage et le questionnaire seront identiques. L'objectif de ce travail

sera de comparer la prévalence des marqueurs sérologiques du VHE (IgG anti-VHE et IgM anti-VHE) sur un intervalle d'une dizaine d'années à l'échelle nationale et de préciser l'évolution de l'exposition au VHE dans les différentes régions françaises. En effet, l'étude avait objectivé en 2012 une grande hétérogénéité régionale. Cette étude analysera également les facteurs associés à la séroprévalence du VHE et ceux-ci seront comparés à ceux de 2012.

d- Etude des mutations, délétions et insertions du génome VHE associées à une résistance à la ribavirine chez les sujets immunodéprimés traités pour une hépatite chronique E

La ribavirine est devenue le traitement de choix des hépatites E chroniques mais son mécanisme d'action reste inconnu. Des échecs thérapeutiques surviennent chez environ 20% des patients traités chez lesquels l'ARN VHE reste détectable dans le sang. Alors que des études in vitro suggéraient que des mutations de la polymérase virale pouvaient être associées à une résistance à la ribavirine, les travaux du CNR ont montré que ces mutations n'avaient pas d'influence sur l'effet antiviral de la molécule in vivo (Kamar Clin Infect Dis 2020). L'étude des séquences génomiques complètes du VHE chez des sujets répondeurs et non répondeurs avec appariement sur des critères démographiques, cliniques et virologiques sera réalisée afin de rechercher des séquences signatures d'un échec thérapeutique.

e- 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 à l'origine de cas groupés, dont un fatal, dans le Cantal. Le VHE a été également détecté dans les eaux usées près de Clermont-Ferrand par le CNR Entérovirus (Bisseux, EuroSurveillance 2018).

En collaboration avec des équipes ayant une compétence dans la recherche des virus dans les eaux (IFREMER, ANSES), des études préliminaires ont été réalisées (Miura, Food Environ Virol 2016). 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 séroprévalence 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 Enterovirus et des virus des gastroentérites tant sur le plan méthodologique que technologique. Un lien avec les projets conduits sur le SARS-CoV-2 dans le cadre du consortium Emergen (WP6-Aubépine) nous paraît également pertinent.

f- Comparaison des distributions des génotypes et sous-génotypes VHE chez l'homme et chez les animaux réservoirs

Plusieurs travaux ont été réalisés antérieurement en collaboration avec les organisations compétentes en santé animale (ANSES), l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maison-Alfort et l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (Bouquet Emerg Infect Dis 2011 ; Izopet Emerg Infect Dis 2012 ; Lhomme J Clin Virol 2013 ; Lhomme Emerg Infect Dis 2015). Une des difficultés actuelles réside dans l'absence d'échantillonnage systématique dans les élevages porcins, principal réservoir animal de VHE. Ainsi la proportion relative des différents sous-types du génotype 3 chez le porc n'a pas été déterminée en France depuis environ 15 ans. Une étude en collaboration avec les mêmes partenaires Nicole Pavio (Ecole Nationale Vétérinaire de Maison-Alfort), Jean-Luc Guérin (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse), et Nicolas Roses (ANSES) est envisagée.

Ce travail nécessitera l'obtention d'un financement spécifique pour la réalisation des prélèvements, la détection de l'ARN VHE et la caractérisation des souches chez les porcins.

7.3.2. Hépatite A

Réseau de partenaires

Notre contribution à la surveillance épidémiologique repose sur la caractérisation des souches (technique sanger puis NGS), l'élargissement de du réseau de partenaires, et la collaboration avec les réseaux de surveillance européens.

La surveillance des souches VHA n'est pas exhaustive puisque l'envoi des sérums IgM positifs au CNR est sur la base du volontariat. Comme vu au chapitre 3.1, l'activité diagnostique est particulièrement importante en ville, nous devons nous attacher à élargir le réseau de nos correspondants, notamment en sollicitant les gros laboratoires privés. Nous renforcerons également les liens déjà établis avec l'outremer, notamment Mayotte et Nouvelle Calédonie.

Pour mieux appréhender la diversité des souches circulantes, y compris chez les sujets asymptomatiques, nous renforcerons nos liens avec l'EFS et avec nos partenaires ayant une compétence dans la recherche des virus dans l'environnement (IFREMER, ANSES, CNR des entérovirus).

Quand l'enquête épidémiologique suggère une source alimentaire, nous travaillons en lien avec les équipes compétentes pour la recherche des virus dans ces matrices ANSES (Laboratoire de sécurité des Aliments, unité Virus Eau et Aliments, S Perelle), DGCCRF (Service commun des laboratoires à Montpellier) et IFREMER (S Leguyader).

Projets d'enquêtes : caractéristiques cliniques des infections

Nous disposons en France des bases de l'ATIH (notamment de 2010 à 2019). Elles nous permettront de décrire (i) l'évolution du nombre de cas hospitalisés (ii) les complications majeures de l'infection; (iii) l'hétérogénéité géographique.

7.4 –Contribution à l'alerte

7.4.1. Hépatite E

Les augmentations inhabituelles de cas, l'apparition de cas groupés, la modification des formes cliniques ou l'émergence de souches particulières seront signalées à l'ANSP / Santé Publique France.

Les expertises effectuées à la demande des ARS seront réalisées en lien avec l'ANSP selon les modalités de la précédente mandature.

Les expertises dans le contexte transfusionnel ou dans le cadre de dons d'organes, tissus ou cellules seront réalisées avec l'EFS et les autorités sanitaires.

7.4.2. Hépatite A

Nous fonctionnerons comme lors du précédent mandant avec des échanges mails immédiats entre CNR et correspondants de Santé Publique France sur tout phénomène anormal : augmentation inhabituelle de cas, apparition de cas groupés signalés par les ARS, modification des formes cliniques (répartition, modification de l'expression clinique, formes inhabituelles).

De plus, Santé Publique France et le CNR ont accès à la plateforme Epipulse, mise en place en 2021 par l'ECDC. Cette plateforme unique d'échange d'information permet de recevoir et d'envoyer des notifications à l'ensemble des partenaires européens impliqués dans la surveillance. Elle est utilisée notamment pour la surveillance de la diffusion européenne des souches. Ces échanges peuvent contribuer à identifier la source de cas groupés, des contaminations alimentaires, ou des populations à risque

Les expertises dans le contexte transfusionnel ou dans le cadre de dons d'organes, tissus ou cellules seront réalisées avec l'EFS, l'agence Biomédecine et les autorités sanitaires.