

RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Virus des hépatites à transmission entériques (A et E)

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	Laboratoire de Virologie / CHU Toulouse	Professeur Jacques Izopet
Laboratoire Associé	Laboratoire de Virologie / GHU Paris Saclay	Professeur Anne-Marie Roque- Afonso

GUIDE DE REMPLISSAGE

Conformément à l'arrêté du 2 mars 2022 fixant leur cahier des charges, les Centres Nationaux de Référence (CNR) sont tenus de transmettre chaque année un rapport annuel portant sur l'activité du CNR pour l'année « N » à Santé publique France avant la fin du premier semestre de l'année « N+1 ». Ce rapport doit être conforme au rapport-type national défini par le Comité des CNR aux fins de définir un cadre de présentation homogène des activités du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.

Si le CNR comporte un ou plusieurs laboratoires associés, le CNR – Laboratoire coordonnateur doit présenter un rapport commun faisant la synthèse des activités des laboratoires concourant aux missions du CNR.

Ce rapport décrit les activités du CNR et produit une analyse des données recueillies au cours de l'année « N ». Il doit être concis, éviter les redondances, privilégier les illustrations pour les résultats (graphes, cartes, tableaux). Il s'agit de fournir un travail de synthèse mettant en exergue les points forts du bilan d'activité de l'année.

Ce rapport doit inclure un résumé analytique, en français et en anglais, de 300 mots maximum (2700 caractères) destiné à être publié sur le site de Santé publique France.

Ce rapport comporte 3 annexes, regroupées à la fin du document :

- Les annexes 1 et 2 ont pour objet de rappeler les missions et l'organisation du CNR d'une part, ses capacités techniques d'autre part. Ces éléments sont pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature. Seuls les éléments nouveaux (changement d'organisation, de locaux, nouvelles capacités ...) doivent figurer dans le corps du rapport.
- L'annexe 3 regroupe des informations confidentielles, à l'attention de Santé publique France et de son Comité des CNR, non destinées à être rendues publiques : permanence du CNR, détenteurs d'autorisations MOT (Micro-Organismes et Toxines), détenteurs d'autorisations d'exercer la biologie médicale (AEBM), résultats de recherche non encore publiés ou sous embargo, difficultés rencontrées, liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR (cf déclarations d'intérêts et engagement déontologique signé par les responsables des CNR (en précisant la nature des activités, les financements éventuels obtenus et la destination de ces financements). Cette annexe 3 doit figurer dans un document PDF distinct ou être détachable de la version papier fournie.

Il vous est demandé de respecter rigoureusement ce plan-type qui concorde avec celui de la grille d'évaluation utilisée par les experts du Comité. A l'exception de son annexe 3, ce rapport annuel d'activité a vocation à être publié sur le site web du CNR.

NB : Les contrôles de contenus insérés dans la matrice du document sont supprimés dès que vous commencez la saisie, ils rappellent ce qui est attendu par les experts du Comité des CNR

Guide de remplissage	2
Résumé analytique	5
Faits marquants	5
Executive summary	6
Highlights	6
1. Missions et organisation du CNR	7
Organigramme	7
Mission et Organisation	7
Démarche Qualité	7
2. Activités d'expertise	8
2.1 Evolution des techniques	8
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	8
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	8
2.4 Collections de matériel biologique	9
2.5 Activités d'expertises	10
2.6 Activités de séquençage	124
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	177
3. Activités de surveillance	188
3.1 Description du réseau de partenaires	188
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	199
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	22
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	22
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	22
4. Alertes	255
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	277
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	277
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	277
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	27
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	29
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	29
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	29

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux.....	31
8. Programme d'activité pour les années suivantes	32
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	37
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	37
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	37
1.3 Locaux et équipements	39
1.4 Collections de matériel biologique.....	43
1.5 Démarche qualité du laboratoire	43
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....	45
2.1 Liste des techniques de référence.....	45
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR	46
3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)	47
3.1 Permanence du CNR	47
3.2 Autorisations MOT	47
3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale	48
3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo.....	48
3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France.....	48
3.6 Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR.....	48
3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR	48

RESUME ANALYTIQUE

FAITS MARQUANTS

(291 mots ; 1832 caractères espaces compris)

Le CNR a organisé la surveillance grâce à une collaboration efficace avec des partenaires publics et privés (CHU, CH et LBM). Il collabore également avec l'Etablissement Français du Sang (EFS) et le Centre de Transfusion Sanguine des Armées (CTSA).

Pour le VHA, l'année 2023 a été marquée par une reprise de la circulation virale, après une baisse importante du nombre de cas identifiés au CNR entre 2020 et 2022, attribuée aux mesures prises dans le cadre de la pandémie à SARS-CoV-2. En 2023, les caractéristiques démographiques (âge et sex ratio) et virologiques des infections se rapprochent à nouveau de celles observées avant l'épidémie européenne de 2017, avec notamment une prédominance de souches importées. L'activité de diagnostic et d'expertise sérologique demeure stable, et il faut à nouveau souligner que les tests IgM VHA avec un index faible doivent être adressés au CNR pour infirmation ou confirmation du diagnostic.

Concernant le VHE, le CNR a répertorié 3118 cas symptomatiques d'hépatite E dont 127 cas épidémiques en Nouvelle-Calédonie associés au génotype 3 avec 29 hospitalisations (23%) et 3 décès (2,3%). Depuis le 20 mars 2023, l'introduction du dépistage génomique par l'EFS chez les donneurs de sang a permis d'identifier 1634 cas asymptomatiques conduisant à une incidence d'environ 1/1000 avec des variations régionales allant de 0,5/1000 (Nord-Ouest) à 2/1000 (Sud-Ouest). Le profil sérologique des donneurs positifs était IgM-/IgG- (67,3 %), IgM+/IgG+ (21,7 %), IgM+/IgG- (5,5 %) et IgM-/IgG+ (5,5 %). Le génotype a été déterminé pour 472 échantillons : 3c (75 %), 3f (17 %), 3m (3,2 %), 3c+3f (0,85 %), 3e (0,42 %), 3h (1,27 %), 3i (1,27 %), 3ra (0,21 %). La prépondérance du sous-type 3c a été observée dans toutes les régions et aucun regroupement spatiotemporel des séquences virales n'a été identifié.

EXECUTIVE SUMMARY

HIGHLIGHTS

(267 words; 1718 characters including spaces)

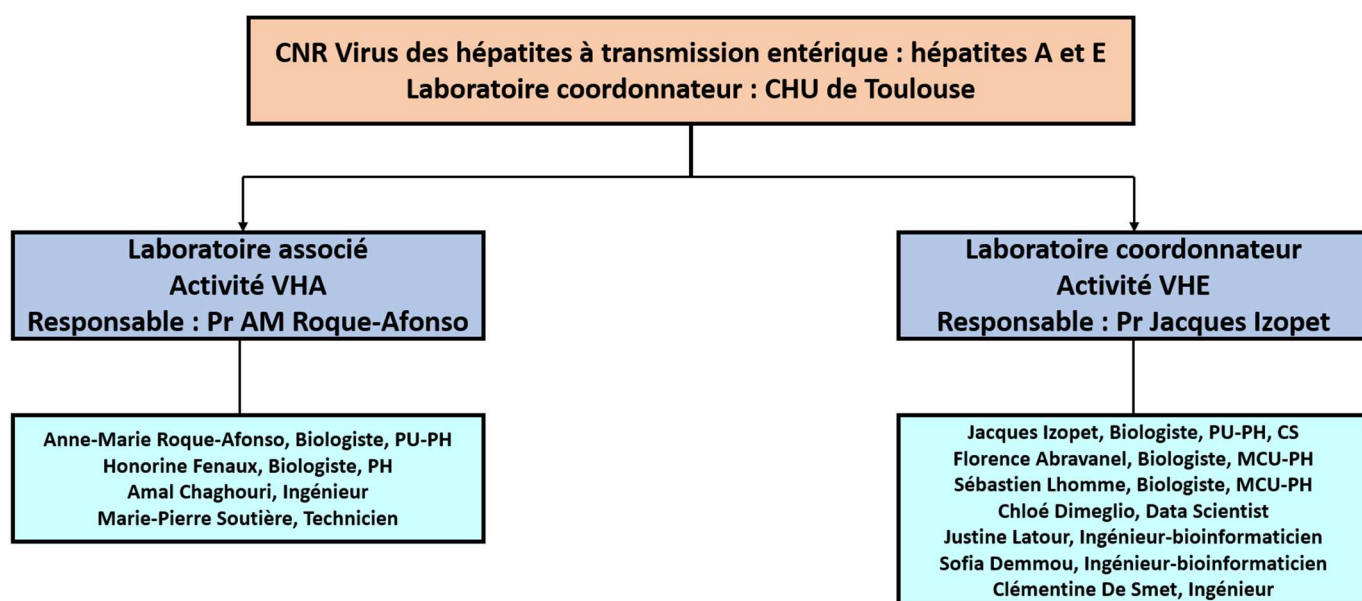
The CNR organized the surveillance through effective collaboration with public and private partners (CHU, CH and LBM). It also collaborates with the French Blood Establishment (EFS) and the Army Blood Transfusion Center (CTSA).

For HAV, 2023 was marked by a resumption of viral circulation, following a significant drop in the number of cases identified at the CNR between 2020 and 2022, attributed to measures taken in the context of the SARS-CoV-2 pandemic. In 2023, the demographic (age and sex ratio) and virological characteristics of infections are close to those observed prior to the 2017 European epidemic, with a predominance of imported strains. Diagnostic and serological expertise activity remains stable, and it must be stressed once again that IgM HAV tests with a low index must be sent to the CNR for invalidation or confirmation of the diagnosis.

Concerning HEV, the CNR has listed 3,118 symptomatic cases of hepatitis E including 127 epidemic cases in New Caledonia associated with genotype 3 with 29 hospitalizations (23%) and 3 deaths (2.3%). Since March 20, 2023, the introduction of genomic screening by EFS in blood donors has made it possible to identify 1634 asymptomatic cases leading to an incidence of approximately 1/1000 with regional variations ranging from 0.5/1000 (Northwest) to 2/1000 (Southwest). The serological profile of positive donors was IgM-/IgG- (67.3%), IgM+/IgG+ (21.7%), IgM+/IgG- (5.5%) and IgM-/IgG+ (5.5%). The genotype was determined for 472 samples: 3c (75%), 3f (17%), 3m (3.2%), 3c+3f (0.85%), 3e (0.42%), 3h (1.27%), 3i (1.27%), 3ra (0.21%). The preponderance of subtype 3c was recorded in all regions and no spatiotemporal clustering of viral sequences was identified.

1. Missions et organisation du CNR

ORGANIGRAMME



MISSION ET ORGANISATION

Les organigrammes du laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse (CNR-Laboratoire coordonnateur) et du laboratoire de Virologie du GHU Paris Saclay (CNR-Laboratoire associé) sont présentés en Annexe 1.

DEMARCHE QUALITE

1. Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

L'activité 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.

2. Laboratoire de virologie du GHU Paris Saclay

Les sérologies VHA Anticorps totaux (COBAS) et VHA IgM (VIDAS) sont accréditées par le COFRAC selon la norme ISO 15189 depuis 2018. Le numéro d'accréditation du LBM est le 8-1128, l'attestation et les examens détaillés sont disponibles sur le site du COFRAC www.cofrac.fr. Selon la gestion de portée flexible, et suite à l'Arrêté du 8 mars 2021 fixant les examens représentatifs et les compétences associées pour l'accréditation des lignes de portée des examens de biologie médicale, la technique de détection/quantification de l'ARN VHA Altostar® HAV RT-PCR Kit 1.5 (Altona) a été déclarée en 2023 comme examen représentatif en extension de la ligne de portée BM, VB01 en portée B.

3. Démarche commune

Les deux laboratoires du CNR pratiquent des échanges inter-laboratoire pour les marqueurs pour lesquels il n'existe pas d'organisation d'évaluation externe de la qualité (génotypage du VHE et du VHA).

2. Activités d'expertise

La description des techniques disponibles au CNR est présentée en annexe 2.

2.1 Evolution des techniques

• VHA

Pour le typage des souche VHA, le CNR a développé des techniques d'enrichissement pour le séquençage du génome complet par des techniques de nouvelle génération. Ces techniques seront mises en place en 2024.

• VHE

Pour la détection et la quantification de l'ARN viral dans le sang, les selles, les urines et le LCR, le CNR a évalué et mis en place la plateforme Altostar® d'Altona Diagnostic depuis novembre 2022.

Pour le typage des souches de VHE, le CNR a développé et mis en place plusieurs protocoles (génom complet, ORF2) de séquençage haut débit de 3^{ème} génération basée sur le séquençage de longs fragments d'acides nucléiques par la technique Single Molecule Real Time Sequencing sur l'instrument Sequel IIe (Pacbio).

Ces nouvelles techniques sont accréditées COFRAC ISO 15189.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

• VHA

Le CNR VHA a réévalué la sensibilité et la spécificité analytique des principaux tests IgM disponibles pour estimer leur valeur prédictive positive en fonction de l'intensité du signal (résultats présentés lors d'un webinaire organisé par la SFM le 28/02/24, disponible en replay). Il est prévu de modéliser la VPP avec ajout de l'âge et des ALAT.

• VHE

- **Evaluation de l'automate multiparamétrique Wan200 de Wantai**
 - Détection et quantification des IgG et IgM anti-VHE
 - Détection et quantification de l'Ag VHE
- **Evaluation du test rapide de détection de l'Ag VHE (Wantai) dans le sang et les urines**
- **Evaluation de la technique de RT-PCR VHE Altostar® d'Altona Diagnostic**

La plateforme automatisée d'extraction des acides nucléiques et préparation des plaques pour PCR, Altostar HEV RNA RT-PCR, a été évaluée et comparée à la technique utilisée auparavant au laboratoire (extraction sur automate Magnapure96 de Roche et RT-PCR avec le kit Realstar RT-PCR d'Altona). L'extraction a été validée pour toutes les matrices. Les résultats étaient corrélés aux résultats obtenus avec la précédente technique. Les résultats ont été présentés (2nd HEV international symposium, Londres mai 2023) et publiés (Sottit J Virol Methods sous presse).

- **Evaluation de la technique de RT-PCR VHE BeGenius d'Elitech**

En collaboration avec le CHU de Caen, une évaluation des performances cliniques de la plateforme BeGenius d'Elitech pour la détection et la quantification de l'ARN VHE a été réalisée. L'évaluation a été poursuivie au CHU de Toulouse afin de déterminer la limite de détection en fonction des sous-types les plus fréquents, vérifier le domaine de linéarité, et vérifier la détection de l'ARN du VHE dans les selles. Par ailleurs, une étude prospective a été initiée afin d'analyser la concordance et la corrélation avec les résultats de la technique Altostar HEV.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

• VHA

Pour le VHA, il n'y a pas de technique transférée vers d'autres laboratoires en 2023.

- **VHE :**

Des échantillons qualifiés de sérums ont été transférés au laboratoire du CH de Monaco pour la mise en place d'un test de détection des IgM anti-VHE.

Le CNR a fourni des échantillons biologiques au CH de Toulon pour leur permettre la mise en place du diagnostic sérologique et de la recherche de l'ARN viral

Le CNR a fourni des échantillons biologiques au CHU Mondor pour réalisation d'un contrôle interne de qualité.

2.4 Collections de matériel biologique

- **VHA**

Les échantillons issus de l'activité du CNR VHA sont requalifiés pour la recherche et conservés au CRB Paris Saclay après caractérisation virologique au CNR. Il s'agit de sérums (volume > 500 µl) ou de selles contenant de l'ARN VHA dont la souche a été typée et de sérums présentant des IgM VHA d'activation polyclonale (ARN négatif et avidité IgG >70%). Le CRB Paris-Saclay est certifié AFNOR selon la norme NF S96-900 depuis 2011 pour des activités de réception préparation, conservation et mise à disposition (MAD) des ressources biologiques. Les collections (tissus, fluides Acides Nucléiques), dont la collection CNR VHA, sont déclarées au ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation (Dernière mise à jour CODECOH du CRB N° DC-2019-3686). En mars 2024, 2694 échantillons étaient stockés.

Le site internet du CRB (<https://hopital-bicetre.aphp.fr/crb/>) informe les professionnels de la possibilité d'accéder à des échantillons biologiques. La demande d'échantillons peut se faire par mail (crb.paris-saclay@aphp.fr). Le demandeur doit remplir un formulaire. Cette demande est examinée par le COPIL. En cas de faisabilité, un devis est émis auprès du demandeur et une convention ou un MTA (material transfert agreement) est rédigé et signé. Il n'y a pas eu de MAD en 2023.

- **VHE**

Des collections de souches de référence ont été constituées :

- collection de sérums et selles contenant de l'ARN VHE dont la souche a été typée et stockée selon les règles du CRB du CHU de Toulouse.
- collection de surnageants de culture de souches cliniques (3f et 3c).

Une base de données de séquences est également disponible. Les séquences partielles ou complètes de génomes VHE générées par le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse ont été déposées dans GenBank.

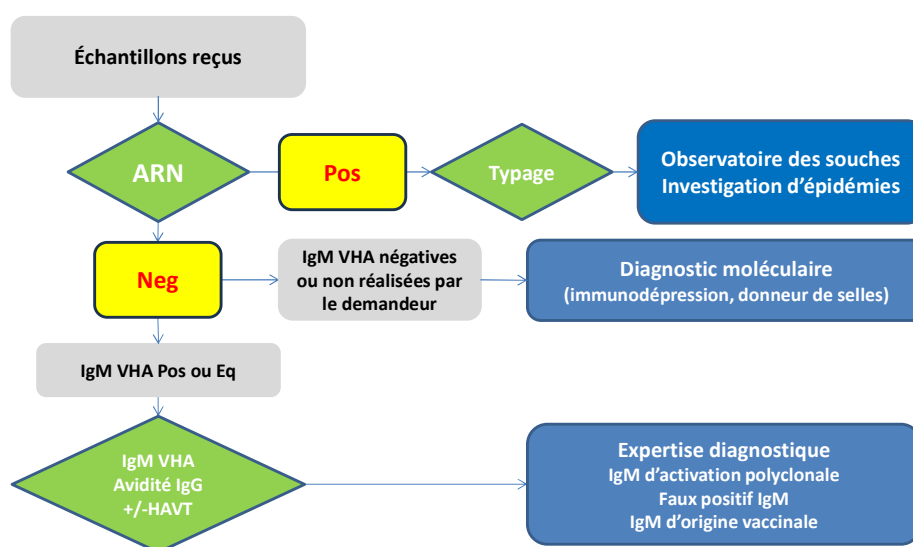
2.5 Activités d'expertises

Expertise : Eléments clés 2023	
VHA	VHE
<ul style="list-style-type: none"> - 949 prélèvements - 949 charges virales - 125 expertises sérologiques - 152 séquences 	<ul style="list-style-type: none"> - 12874 prélèvements - 6191 analyses sérologiques - 6420 analyses de biologie moléculaire (quantification de l'ARN viral et séquençage). - 927 séquences VHE

• VHA

Prélèvements

La démarche appliquée aux prélèvements reçus au CNR VHA est la suivante :



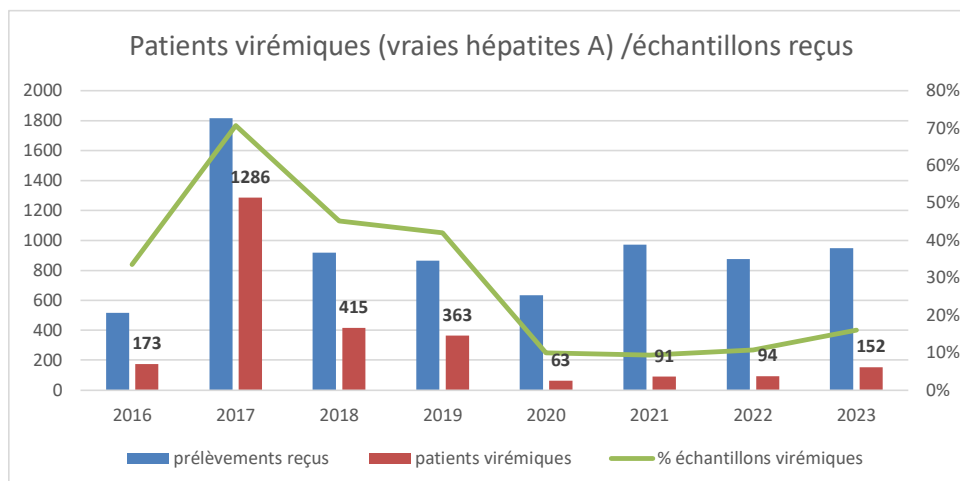
L'incidence de l'hépatite A avait atteint un plancher en 2016, avant d'augmenter en 2017 à la faveur d'une épidémie mondiale ayant pour point de départ la communauté HSH, le nombre d'échantillons reçus avait ainsi été multiplié par 3 cette année-là. Toutefois, le CNR n'ayant pas uniquement en charge l'investigation des cas groupés et l'observatoire des souches, mais aussi l'expertise sérologique et le diagnostic moléculaire, le nombre de prélèvements reçus (2017 excepté) a peu varié depuis 2016, comme le montre le tableau ci-dessous.

Nombre et contexte d'envoi des prélèvements au CNR VHA

	Nombre total de prélèvements reçus	Observatoire des souches	Investigation de cas Groupés	Expertise sérologique	Diagnostic moléculaire
2016	516	93	61	110	252
2017	1820	1105	143	201	371
2018	919	317	59	131	412
2019	865	294	45	154	372
2020	635	46	17	101	471
2021	970	81	10	126	753
2022	876	94	0	116	666
2023	949	142	11	125	671

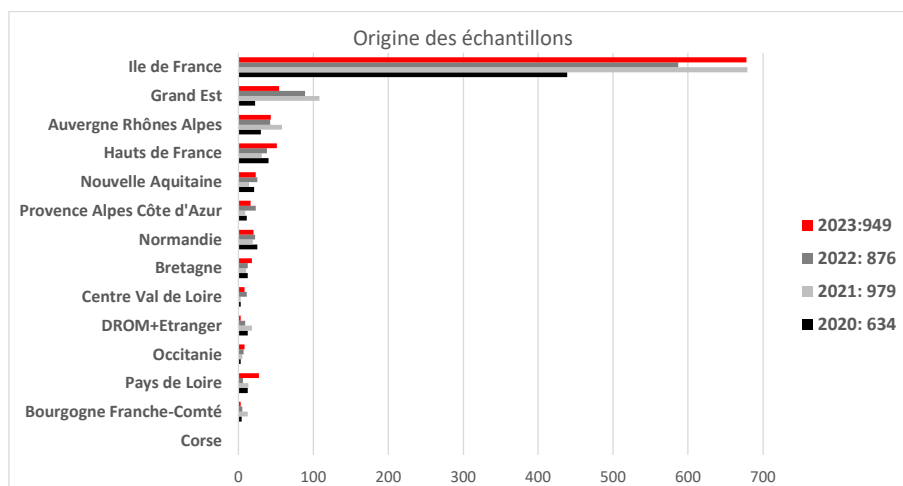
Au fil des années, le nombre de prélèvements pour expertise sérologique est resté stable, mais la proportion de prélèvements adressés pour diagnostic moléculaire a augmenté significativement depuis 2020.

Le % de prélèvements virémiques, permettant le génotypage des souches, a progressivement diminué pour atteindre un plancher de 10% de 2020 et 2022, mais est remonté à 15% en 2023.



Origine des prélèvements

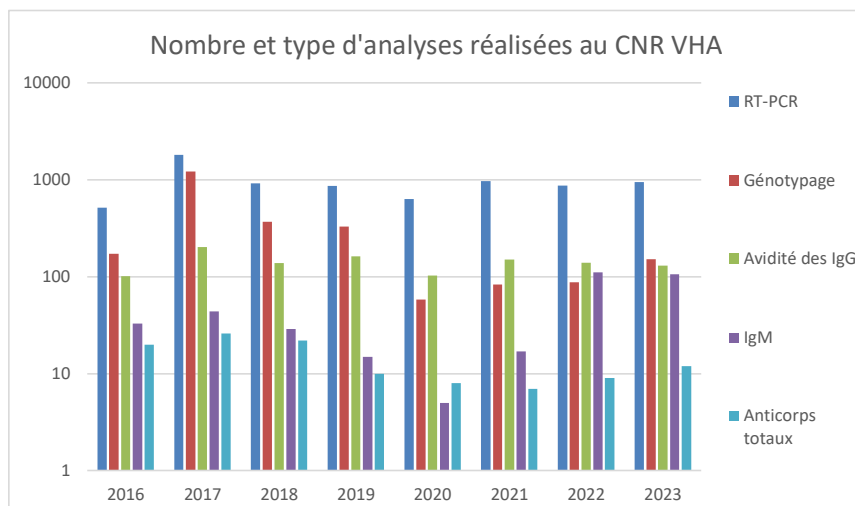
Comme les années précédentes, les prélèvements reçus proviennent majoritairement d'Ile de France : 77% en 2023, suivi du Grand Est à 6%, Auvergne Rhône Alpes et Hauts de France à 5%.



Analyses réalisées et délai de rendu

- Charge virale VHA < une semaine. Une charge virale détectable permet de confirmer le diagnostic Une charge virale indétectable permet d'exclure une infection en cours et de rechercher d'autres causes à une cytolysse hépatique
- Génotypage par séquençage 2 à 3 semaines, sauf enquête urgente autour de cas groupés.
- Avidité des IgG anti-VHA réalisée en cas de positivité des IgM < 4 semaines.

L'évolution du nombre et type d'analyses réalisées au CNR VHA est présenté ci-dessous en échelle logarithmique:



• **VHE**

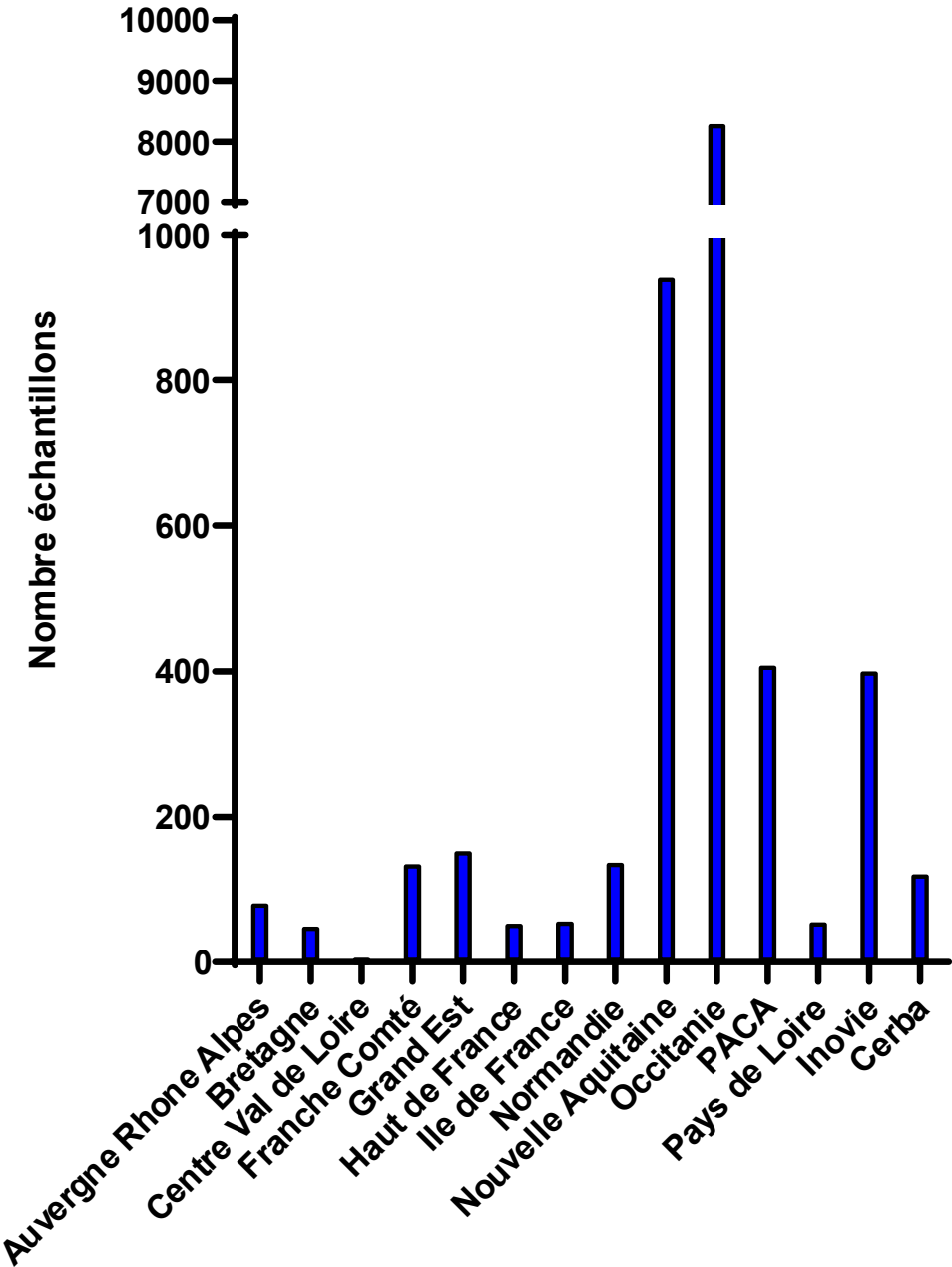
En 2023 le CNR VHE a reçu 12 874 prélèvements. Il a réalisé 6 191 analyses sérologiques et 6 420 analyses de biologie moléculaire (quantification de l'ARN viral et séquençage).

Provenance des échantillons :

Origine	Nombre
Centres hospitaliers	10 005
Laboratoires de biologie médicale libéraux	621
EFS – Qualification biologique des dons (QBD)	1630
EFS – Hémovigilance	583 (dont 283 N-1 QBD)
CTSA – Qualification biologique des dons	35

Le délai de rendu en jours ouvrables des sérologies est de 24h, 48h pour la quantification de l'ARN VHE et 10 jours pour le génotypage.

Origine des prélèvements reçus au CNR VHE pour la sérologie VHE ou analyse moléculaire :



En 2023, le CNR VHE avec l'aide de ses partenaires a répertorié 4800 infections par le VHE : 3118 cas étaient symptomatiques et 1682 provenaient de donneurs de sang asymptomatiques.

L'évolution du nombre de cas répertoriés par le CNR depuis 10 ans figure ci-dessous

Année	Nb de patients testés	NB de cas			% de cas positifs parmi les échantillons testés
		Total	Importés	Autochtones	
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
2022	93000	2987	2	2985	3,2
2023	95000	3118	3	3115	3,3

2.6 Activités de séquençage

• VHA

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/>	NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/>	OUI	<p>Accès Interne : technologie Sanger, séquenceur 4 capillaires SeqStudio (ThermoFisher)</p> <p>Accès à la plateforme NGS de l'oncogénétique du GHU Paris Saclay : séquenceurs Illumina MiSeq</p>

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input checked="" type="checkbox"/>	OUI	<p>Pipelines bioinformatiques développés par MOABI (APHP) fin 2023 pour analyse du génome entier après séquençage NGS</p> <p>Pour le séquençage Sanger, l'expertise des biologistes est suffisante ; le logiciel Bionumériques nous permet de stocker les fasta et les données associées pour comparer toute nouvelle séquence aux séquences déjà stockées.</p>
-------------------------------------	-----	--

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Investigations d'épidémie et surveillance

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Analyse phylogénétique utilisée seule pour tout échantillons amplifiable

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

Oui, depuis 2002 : amplification et séquençage d'un fragment de 508 nucléotides de la région VP1/2A, méthode qui a fait l'objet d'une harmonisation européenne sous l'égide de l'ECDC en 2014 (<https://www.rivm.nl/sites/default/files/2018-11/Typing%20protocol%20HAVNET%20VP1P2A%20a1a.pdf>).

Investigation d'un épisode de cas groupés en 2023

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

En 2023 : l'ensemble des 152 prélèvements virémiques a été séquençé : 146 séquences obtenues (charge virale suffisante)

Aucune sélection (séquençage de toutes les souches reçues)

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Les fluorogrammes et la database Bionumerics sont stockés sur un NAS sécurisé hébergé par le groupe hospitalier, avec 2 sauvegardes journalières. Le dossier informatique a été déclaré à la CNIL (déclaration normale) sous le numéro 2170170.

Une partie des séquences sous format fasta est partagée avec le réseau HAVNet et l'ECDC. Les séquences utilisées pour les articles scientifiques sont déposées dans GenBank.

• VHE

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s)
	Accès interne au CNR
	Technologie/matériel de la (des) plateforme(s) de séquençage auquel le CNR a accès

Séquençage 3^{ème} G PacBio
Séquençage 3^{ème} G ONT
Séquençage 2^{ème} G Illumina

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s)
	Accès interne
	Outils utilisés pour l'analyse des séquences : commercial (BioNumerics par exemple), outil open source, outil maison ... Outils maison

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Si OUI, précisez pour quelles activités. Indiquez s'il s'agit d'investigations d'épidémies ou d'investigations intervenues dans le cadre de la surveillance.
	Documentation de cas groupés Enquêtes d'hémovigilance

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Génotypage
Analyses phylogénétiques
Etude de la diversité génétique des souches

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

Séquençage de souches ayant permis de documenter une épidémie à VHE de génotype 3 en Nouvelle-Calédonie. Caractérisation du génome complet de la souche VHE impliquée ayant permis de définir un nouveau sous-type de VHE. Séquençage de souches VHE issus d'animaux, aliments et environnement visant à identifier la source de l'épidémie.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Précisez ici le nombre de souches séquencées dans l'année : **927**

Modalités de sélection des souches pour séquençage : aucune sélection (séquençage de toutes les souches reçues), échantillonnage (préciser son type), études répétées, ...

Séquençage systématique des souches correspondant à des charges virales supérieures à 3 log UI/ml de sang (ou autre matrice)

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : **LBM du CHU de Toulouse (cluster CHU) et HEVNet**

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : **GenBank**

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Le CNR reçoit des échantillons cliniques (sérums ou selles majoritairement), les séquences obtenues à partir des échantillons virémiques sont partagées à l'échelle Européenne pour investigation d'événements transfrontaliers, et avec les LNR si des aliments ou des prélèvements environnementaux s'avèrent contenir de l'ARN Viral. Les séquences utilisées pour les articles scientifiques ont été déposées dans GenBank.

3. Activités de surveillance

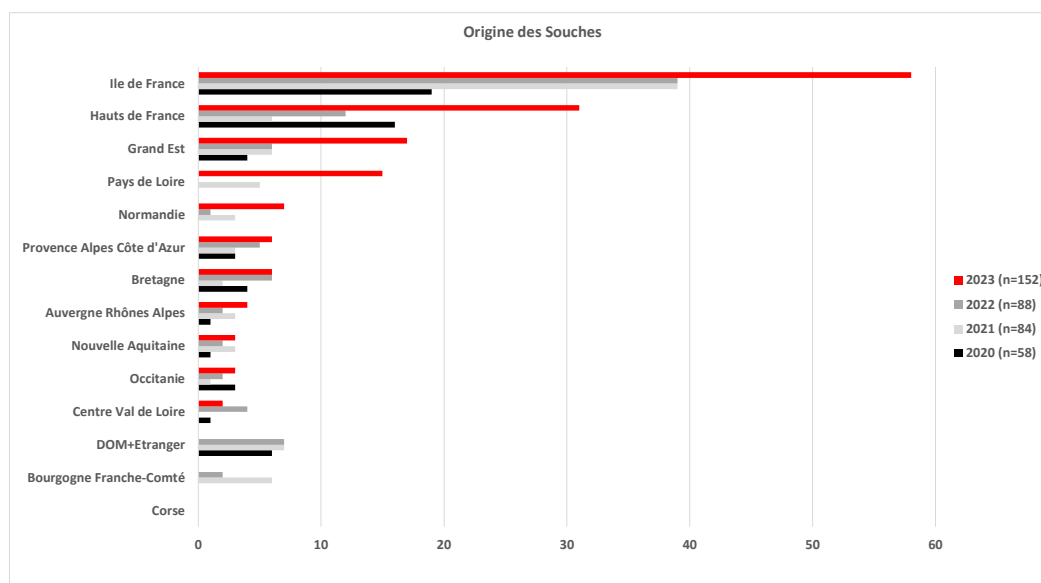
Surveillance : Eléments clés 2023	
VHA	VHE
<ul style="list-style-type: none"> - 152 patients virémiques avec souche séquencée : augmentation de 73% - Investigation d'un épisode de cas groupés 	<ul style="list-style-type: none"> - 927 patients avec souche séquencée - Prépondérance du sous-type 3c chez les cas symptomatiques et asymptomatiques - Documentation de la première épidémie à VHE de génotype 3 (Nouvelle-Calédonie)

3.1 Description du réseau de partenaires

• VHA

L'envoi de sérums IgM VHA+ dans le cadre de l'observatoire des souches par les laboratoires, publics ou privés, s'effectue sur la base du volontariat. Lors de l'investigation de cas groupés, les ARS peuvent demander une recherche active de cas, en sollicitant l'envoi de sérums par les laboratoires ayant procédé à une déclaration obligatoire.

Comme pour l'ensemble des échantillons reçus, l'Ile de France est surreprésentée dans les souches identifiées au CNR, mais cette prédominance est moins marquée que pour l'ensemble des prélèvements : 38% en 2023 pour l'Ile de France, suivi des Hauts de France, 20%, du Grand Est, 11% et des Pays de Loire, 10%. L'ensemble des régions, Corse exceptée, sont ainsi représentées, comme le montre la figure ci-dessous. De plus, l'EFS nous adresse les échantillons des donneurs dépistés virémiques.



• VHE

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

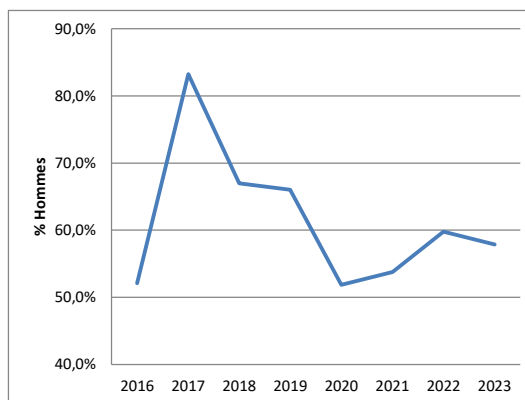
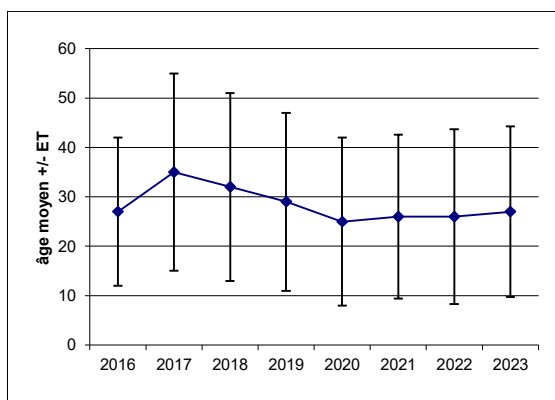
Le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse travaille en collaboration avec les laboratoires de virologie des CHU de France, membres du réseau ANRS-MIE, et de nombreux laboratoires de centres hospitaliers et privés. Il réalise la détection et la quantification de l'ARN VHE par PCR ainsi que la caractérisation des souches identifiées par séquençage des acides nucléiques. 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 collabore avec l'établissement Français du sang (EFS) et le centre de transfusion des armées (CTSA) qui transmettent au CNR les dons qualifiés ARN VHE positifs pour caractérisation (sérologie, quantification de l'ARN VHE et génotypage).

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

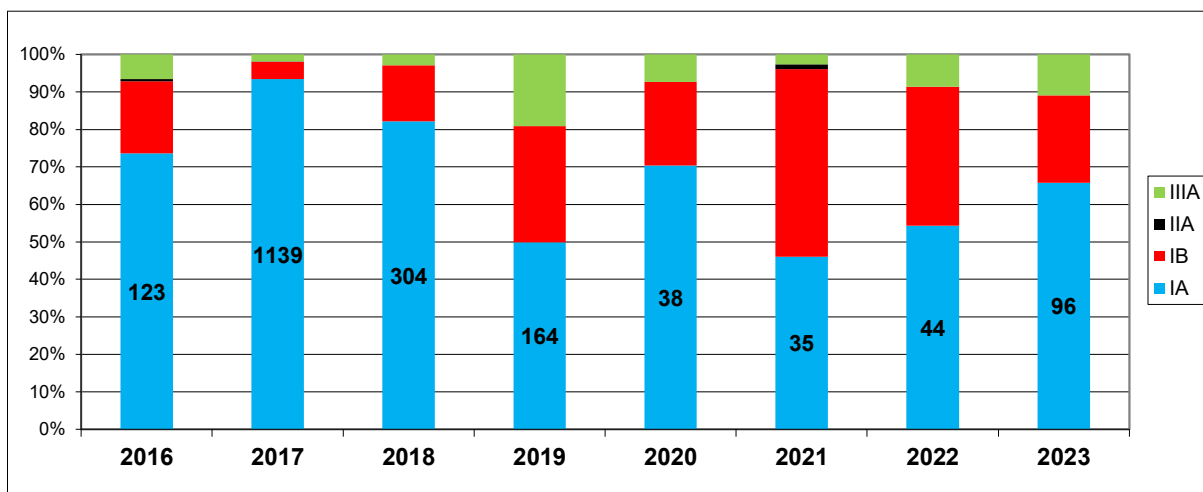
• VHA

En 2023, les 152 infections VHA identifiées au CNR étaient survenues chez des hommes dans 60% des cas et l'âge moyen des patients était de 27 ± 18 ans. Depuis 2020, cet âge moyen est revenu à des valeurs similaires à celui observé avant l'épidémie de 2017.



La charge virale moyenne était de $4,7 \pm 1,1$ log UI/ml. Six échantillons non typables avaient une charge virale moyenne de 2,6 log UI/ml, alors que les échantillons typables avaient une virémie moyenne de 4,8 log UI/ml, sans différence selon le génotype.

Les souches identifiées étaient majoritairement de génotype IA (66%), suivi de IB (23%) et IIIA (11%), comme montré ci-dessous.



En 2023, l'EFS nous a adressé 3 échantillons virémiques. Les charges virales étaient faibles, entre 2,4 et 3,5 log UI/ml. Deux donneurs avaient des IgM VHA détectables et le 3^{ème} des IgM négatives, indiquant une phase d'incubation. La souche a pu être typée dans 2 cas sur 3, retrouvant des séquences de génotypes IA, non reliées.

• VHE

En 2023, la détermination du génotype du VHE a été effectuée par séquençage pour 927 souches. La classification en génotype et sous-type a été réalisée selon la classification proposée par un groupe d'experts sur la base d'un panel de séquences de référence (Nicot Rev Med Virol, 2018 ; Smith et al, J Gen Virol, 2020 ; Nicot Front Microbiol 2021).

Surveillance nationale des cas symptomatiques

Le CNR a réalisé 449 séquençages pour des patients symptomatiques et virémiques. L'âge moyen des patients pour lesquels un séquençage a été effectué était de 59 ans. Le sex-ratio H/F était de 2,3. Le génotype 3 est largement prédominant (99%) et les principaux sous-types sont 3c (2 tiers) et 3f (1 tiers). La technique de séquençage haut débit utilisée a permis d'identifier des co-infections avec 2 souches différentes chez 2 patients. Les infections avec un génotype 1 étaient des cas importés identifiées dans la région de Limoges et à Angers chez des migrants. L'infection avec un génotype 4 a été identifiée à Paris.

La répartition des génotypes caractérisés chez des patients symptomatiques était la suivante :

Génotype	1	4	3a	3c	3e	3f	3h	3i	3m	3 lapin	Co-infection ss-type 3	3 non ss-typé	Total
Nombre (%)	3 (0,7)	1 (0,2)	1 (0,2)	221 (49,2)	4 (0,9)	108 (24)	5 (1,1)	5 (1,1)	18 (4)	2 (0,4)	2 (0,4)	79* (17,6)	449

* 74/79 souches liées à l'épidémie de Noumea (nouveau sous-type en cours de caractérisation)

A titre d'exemple au CHU de Toulouse, 40 personnes ayant une hépatite E aigüe ont été hospitalisées en 2023 (21 hommes/19 femmes, moyenne d'âge 53 ans). Parmi ces personnes, 24 avaient une cause d'immunodépression (12 transplantés d'organes, 8 patients d'hémato-oncologie et 4 patients traités pour une maladie rhumatologique) et 16 étaient immunocompétents. Les sous-types VHE identifiés étaient 3c (82%) et 3f (18%). Les chiffres d'hospitalisation sont similaires à ceux observés chaque année (31 en 2019, 41 en 2020, 31 en 2021 et 35 en 2022).

Surveillance nationale chez les donneurs de sang (cas asymptomatiques)

Collaboration avec l'Etablissement Français du Sang (EFS)

Dans le cadre du dépistage génomique systématique réalisé par l'EFS depuis le 20 mars 2023 (minipools de 6 pour 90% des dons et unitaire pour 10%), les échantillons positifs (n=1630) ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification, typage des souches et analyse du profil sérologique. Sur les 9 premiers mois, l'estimation de l'incidence était de 0,8/1000 sur la base d'un screening en minipool de 6 échantillons et de 1,4/1000 sur la base d'un screening unitaire.

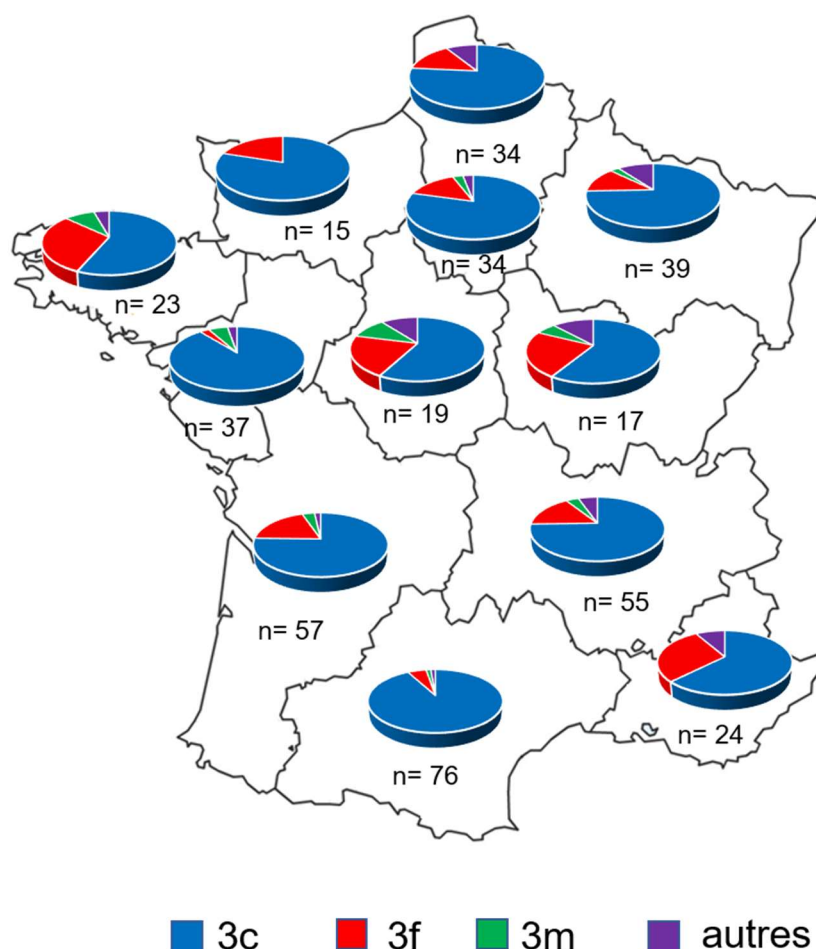
Les virémies des donneurs allaient de 1 à 62,5 millions UI/ml (moyenne = 127 111 UI/ml). La médiane était de 441 UI/ml (IQR : 67-4212 UI/ml). Le génotype 3 a été identifié dans tous les cas.

La distribution des sous-types retrouvés chez les donneurs virémiques dont la charge virale était suffisante pour le séquençage était la suivante :

Génotype	3c	3f	3m	3h	3i	3c + 3f	3e	3ra	3 non ss typé	Total
Nombre en 2023 (%)	353 (75)	80 (17)	15 (3,2)	6 (1,3)	6 (1,3)	4 (0,85)	2 (0,42)	1 (0,2)	5 (1,1)	472

L'analyse phylogénétique d'un fragment de 1 kilobase dans la région 5' ORF2 n'a montré aucun regroupement génétique en fonction des différentes régions du territoire national. Ainsi, différents sous-clades ont été identifiés aussi bien dans les régions à forte incidence (Occitanie, PACA, Nouvelle-Aquitaine) que dans les régions à faible incidence (Bretagne). Les profils sérologiques étaient les suivants : IgM-/IgG- (67,3%), IgM+/IgG+ (21,7%), IgM+/IgG- (5,5%) et IgM-/IgG+ (5,5%).

La distribution des sous-types ne montre pas de différence majeure d'une région à une autre. Cependant, la prépondérance du sous-type 3c est plus marquée en Occitanie alors que cette même région se caractérisait par une prépondérance du sous-type 3f il y a 10 ans (Lhomme *Infect Genet Evolution* 2015 ; Lhomme *Emerg Infect Dis* 2015). Cette évolution de la distribution des sous-types identifiés chez l'homme est liée à l'évolution de la circulation des sous-types dans le réservoir animal porcin.



Collaboration avec le Centre de Transfusion Sanguine des Armées (CTSA)

Dans le cadre du dépistage génomique systématique réalisé par le centre de transfusion des armées chez les donneurs de sang depuis 2019 (environ 20 000 tests/an), les échantillons positifs en 2023 (n=35) ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification, typage des souches et sérologie. Les virémies des donneurs allaient de 3 à 60 516 UI/ml. Pour 29 échantillons, le génotypage n'a pu être déterminé en raison d'une charge virale trop faible. Les 6 échantillons analysables ont permis l'identification du génotype 3 dans tous les cas. La distribution des génotypes retrouvés chez les donneurs virémiques était la suivante:

Génotype	3c	3f	3i	Total
Nombre en	2	3	1	6
2023 (%)	(33)	(50)	(17)	

Le taux de positivité dans cette population un peu plus jeune que celle des donneurs de sang de l'EFS était de 1,8/1000 (screening unitaire). La distribution des génotypes du VHE (faible effectif) ne présente pas de différence significative avec celle des années précédentes où le génotype 3c était prépondérant.

Synthèse

La surveillance chez les donneurs de sang (EFS et CTSA) permet d'objectiver une prévalence globale de l'infection à VHE > 1/1000, avec un ratio H/F de 1,9 et une distribution des génotypes/sous-types similaire

à celle des cas symptomatiques. Ces données indiquent que l'infection à VHE est endémique en France avec probablement plus de 60 000 infections/an, la plupart étant asymptomatiques. Les recherches en cours visant à préciser le mécanisme de transmission dans les zones hyper-endémiques sont essentielles pour la mise en place de mesures préventives efficaces, élément clef pour les personnes immunodéprimées (60% de risque d'hépatite chronique) et celles ayant une maladie chronique du foie (risque élevé d'insuffisance hépatique).

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

Pour le VHA, il n'y a pas de traitement spécifique.

Pour le VHE, les échecs au traitement par ribavirine des hépatites E chroniques chez l'immunodéprimé font l'objet de travaux de recherche (voir publications). Le génome complet du VHE a été caractérisé sur des échantillons longitudinaux de plusieurs patients (n=3) avant traitement par ribavirine, sous traitement et après arrêt du traitement. A ce jour, aucune mutation signature de résistance n'a été identifiée.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

• VHA

Santé Publique France et le CNR VHA 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 (partage de séquences). Ces échanges peuvent contribuer à identifier la source de cas groupés, des contaminations alimentaires, ou des populations à risque.

Le CNR VHA peut être contacté directement par les ARS en cas de cas groupés, avec échange d'informations entre Santé Publique France et CNR. Un retour d'information (nombre de prélèvements reçus, résultats) vers les ARS et Santé Publique France est réalisé.

Pour identifier les sources éventuelles à l'origine de cas groupés, le CNR collabore avec l'ANSES (Laboratoire de sécurité des Aliments, unité Virus Eau et Aliments, S Perelle), avec la DGCCRF (Service commun des laboratoires à Montpellier) et avec L'IFREMER.

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

• VHE

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

Pour identifier les sources éventuelles à l'origine de cas groupés, le CNR collabore avec l'ANSES (Laboratoire de sécurité des Aliments, unité Virus Eau et Aliments, S Perelle), avec la DGCCRF (Service commun des laboratoires à Montpellier) et avec IFREMER (S Leguyader).

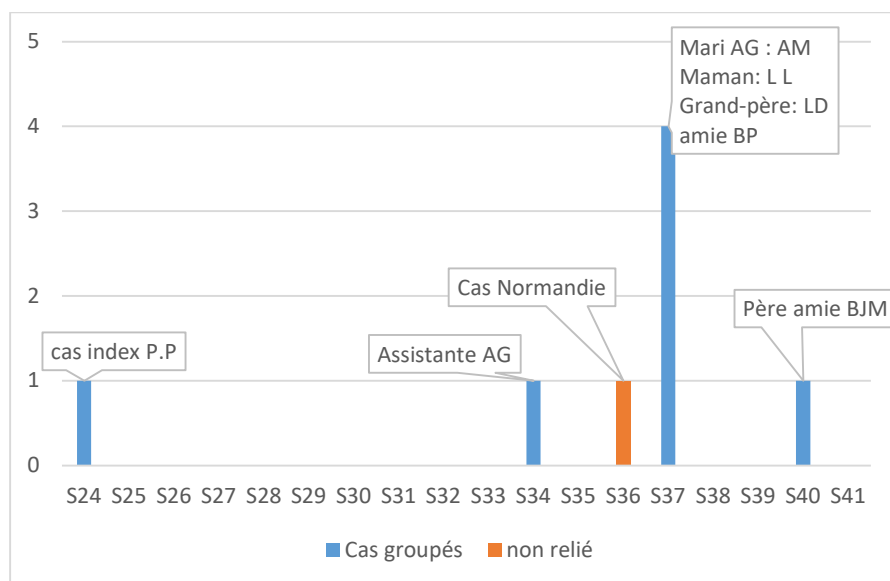
La détection de dons de sang positifs pour le VHE par l'EFS ou le CTSA est systématiquement confirmée par le CNR avec mesure de la charge virale et génotypage.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

• VHA

En 2023, le CNR a été sollicité pour l'investigation d'un épisode de cas groupés en Pays de Loire, concernant des adultes, dont une assistante maternelle, et des enfants. Le cas index était un homme, symptomatique, diagnostiqué en juin (S24), père d'un enfant qui n'a pas été symptomatique et n'a pas été testé. L'assistante maternelle en charge de cet enfant et de 3 autres bébés a été symptomatique le 24 août (S34). Les 3 autres bébés et leur famille ont été contaminés, ainsi que le mari de l'assistante maternelle et ses deux enfants. Lors de vacances passées ensemble fin août, les cas groupés ont été amplifiés au sein de l'une des familles, touchant demi-frères et sœurs, mais aussi le grand père, une amie de la mère, et le père de cette amie.

Le CNR a reçu les échantillons de quelques cas, 7 au total et une même souche de génotype IA a été retrouvée. Cette souche avait déjà été isolée en 2019 et 2020 chez des patients au retour ou en contact avec le Maghreb (Algérie/Tunisie).



Il faut souligner que les délais de notification par les laboratoires ont engendré un retard dans les mesures de gestion. Il n'y a notamment pas eu de vaccination autour du cas index, ni autour de l'assistante maternelle.

Le CNR a répondu à 2 notifications EpiPulse.

Le CNR a pu analyser des échantillons reçus de Nouvelle Calédonie dans le but de caractériser une surincidence de cas survenus en 2018-21 dans ce territoire. L'origine des souches a pu être tracée au Vanuatu. Cette étude a fait l'objet d'une communication aux JNI en juin 2023.

• VHE

Etude de séroprévalence chez des donneurs de sang en Occitanie

L'Occitanie est la région française qui présente la plus forte incidence d'infection à VHE. Plus de 5000 donneurs de sang ont été testés lors du dernier trimestre 2023 et un questionnaire individuel sur les données démographiques et les facteurs de risque a été recueilli. La séroprévalence globale des IgG anti-VHE est de 47% alors qu'elle était de 39% en 2011 (Mansuy Hepatology 2016). Une hétérogénéité intra-régionale, observée également il y a 10 ans, est retrouvée. Les analyses en cours visent à préciser la part attribuable à la contamination alimentaire mais aussi la part attribuable à une contamination par voie hydrique.

Enquêtes lors de suspicion de contamination transfusionnelle

En 2023, le CNR a été sollicité pour réaliser 4 enquêtes avec suspicion de contamination transfusionnelle.

- Patiente présentant une myélodysplasie et hospitalisée au CH de Quimper. La patiente était infectée par un virus de génotype 3c. Le donneur de produits sanguins labiles administrés à la patiente a été testé en PCR et était ARN VHE positif (43 306 UI/mL) avec un génotype 3c. Les résultats ont montré une homologie de séquences entre les souches VHE 3c du donneur et du receveur. Le produit incriminé était un CGR, dont le volume était de 302mL, le volume de plasma résiduel étant estimé à 20-25 mL. L'administration du CGR a eu lieu le 30 novembre 2022. La PCR a été retrouvée positive le 14 avril 2023 chez la receveuse. Aucun traitement n'a été mis en place.
- Patiente de Marseille. La patiente était infectée par un virus de génotype 3h. Le donneur de produits sanguins labiles administrés à la patiente a été testé en PCR et était ARN VHE positif (13 164 UI/mL) avec un génotype 3h. Les résultats ont montré une homologie de séquences entre les souches VHE 3h du donneur et du receveur. Le produit incriminé était un plasma frais congelé, dont le volume était de 270mL. L'administration du PFC a eu lieu le 19 octobre 2022. La PCR a été retrouvée positive le 21 novembre 2022 chez la receveuse. La patiente a été traitée un mois par ribavirine entre février et mars 2023, la PCR de contrôle réalisée fin avril 2023 était négative pour l'ARN du VHE.

- Patient suivi à l'institut Curie pour une tumeur maligne de l'ovaire. Le génotype du virus infectant le patient n'a pas pu être déterminé du fait de la faible charge virale (350 UI/mL). Le donneur de produits sanguins labiles administrés au patient a été testé en PCR et était ARN VHE positif (29 520 UI/mL) avec un génotype 3c. Le produit incriminé était un CGR, dont le volume était de 305 mL, le volume de plasma résiduel étant estimé à 20-25 mL. L'administration du CGR a eu lieu le 21/10/22. La PCR a été retrouvée positive le 23/12/22 chez le receveur. Le bilan hépatique s'est rapidement normalisé au mois de janvier.
- Patient transplanté cardiaque hospitalisé en chirurgie cardiaque à la Pitié Salpêtrière. Le patient était infecté par un virus de génotype 3. Les 9 donneurs de produits sanguins labiles administrés au patient ont été testés en PCR. Les dons étaient tous négatifs.

4. Alertes

• VHA

Le CNR et ses correspondants de Santé publique France (Dr J. Figoni) échangent immédiatement sur tout phénomène anormal.

• VHE

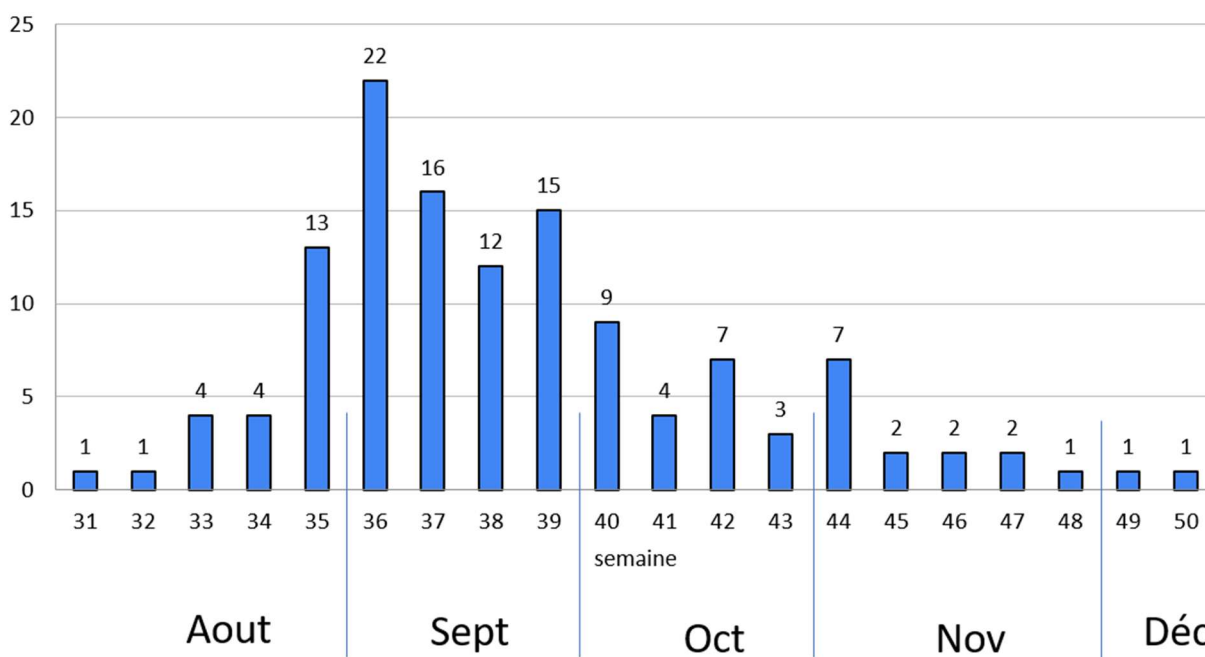
- Les cas d'hépatite E ne font pas l'objet de déclaration obligatoire.
- En décembre 2022, le CNR a été alerté par Santé Publique France de la détection récente du VHE dans les eaux usées de la principale station d'épuration de Toulouse ainsi que d'autres villes du nord de la France. Le CNR a vérifié que cette détection n'était pas associée à une hausse des cas d'infections par le VHE répertoriées au CHU de Toulouse ni une hausse de l'incidence détectée par les principaux laboratoires privés de la ville (Réseau des laboratoires Cerba, Inovie et Biomnis). Les échantillons issus des stations d'épuration de Toulouse, Denain et Dunkerque ont été collectés par SUEZ et adressés au laboratoire IAGE réalisant la détection de l'ARN VHE dans les eaux usées. Des extraits d'acides nucléiques ont été adressés au CNR pour la caractérisation des souches. La technique de séquençage utilisée par le CNR (PacBio) a permis de séquencer de longs fragments d'acides nucléiques, d'identifier les haplotypes de régions pertinentes, et ainsi de faciliter la détection de mélange de souches.

Parmi 27 échantillons positifs, 52 souches de VHE ont été détectées, avec un mélange de souches (de génotypes identiques ou différents) dans 50% des cas. Les génotypes étaient tous de type 3, majoritairement 3c et 3f, mais des sous-types rares (3m et 3k) ont également été détectés.

La distribution des sous-types observée dans les eaux usées reflétait ce qui était observé dans les infections humaines sur la même période avec une prédominance des sous-types 3c et 3f.

- En Août 2023, le CNR a été alerté par le laboratoire du CH de Nouméa et par la Direction des Affaires Sanitaires et Sociales de la Nouvelle-Calédonie en raison d'une épidémie d'hépatite E suscitant interrogations et inquiétudes. L'épidémie a débuté en semaine 31 et s'est terminée en semaine 50.

Nombre de cas / semaine



127 cas ont été recensés parmi lesquels 29 (22,8%) ont été hospitalisés. Trois décès sont survenus soit 2,3% des cas symptomatiques. Le point essentiel à souligner est que la souche impliquée dans l'épidémie était une souche

de génotype 3 alors que ce génotype était associé jusqu'à présent uniquement à des cas sporadiques ou plus rarement des cas groupés avec des effectifs limités. Le génome complet du virus a été caractérisé. Les analyses phylogénétiques ainsi que l'analyse des distances génétiques sont en faveur d'un nouveau sous-type au sein du clade abk de HEV-3. Les investigations se poursuivent afin d'estimer le nombre d'infections asymptomatiques et préciser l'ampleur de cette épidémie. Par ailleurs, les études épidémiologiques et virologiques initiées visent à déterminer la source de l'épidémie et à préciser le mécanisme de transmission.

- En Janvier 2024, le CNR a été alerté par Santé Publique France (Dr J. Figoni), en lien avec une alerte de l'ECDC via la plateforme EpiPulse, en raison d'une augmentation des cas d'hépatite E identifiés en Finlande.
- En septembre, le CHU de Nice et l'ARS Provence-Alpes Cote d'Azur, a alerté le CNR sur 2 cas de Guillain Barré associé au VHE. Le CNR a retrouvé un virus de génotype 3c chez les 2 patients mais ne présentant pas d'homologie de séquence. De plus, L'enquête épidémiologique de l'ARS de ces 2 cas n'a pas retrouvé de potentielle source commune de contamination. Ces travaux écartent l'hypothèse que ces 2 cas de complication neurologique de l'infection par le VHE soient liés.

5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Moocs, e-learning, Webinaires

- Un webinaire sous l'égide de la SFM sur les activités du CNR VHA-VHE réunissant les partenaires du réseau CNR a été réalisé le 28/02/2024. Les points abordés et discutés avec la modération de Sonia Burrel ont été les suivants :
 - L'ABC de la surveillance pour le VHE (Sébastien Lhomme)
 - Une épidémie surprenante à VHE-génotype 3 (Florence Abravanel)
 - Diversité génétique du VHE issue du dépistage génomique chez les donneurs de sang (Jacques Izopet)
 - L'ABC de la surveillance pour le VHA (Honorine Fenaux)
 - Une investigation d'épidémie, apport de l'épidémiologie moléculaire (Anne-Marie Roque-Afonso)
 - Une épidémie...d'IgM ? (Anne-Marie Roque-Afonso).

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

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

Le CNR a rédigé une fiche de synthèse sur le site internet de la société française de microbiologie (SFM) : [VIRUS HEPATITE-E.pdf \(sfm-microbiologie.org\)](#).

Les résultats des analyses pratiquées au CNR sont adressés au laboratoire demandeur par courrier. Les diagnostics positifs d'hépatite E sont également transmis par téléphone au médecin prescripteur. Le rapport d'épidémiologie moléculaire est adressé aux ARS en cas d'épidémie et au service d'hémovigilance de l'EFS en cas de contamination transfusionnelle.

Un site web <http://www.cnrvha-vhe.org/>, créé en 2012 qui comporte tous les rapports d'activité de 2011 jusqu'à 2023, présente les informations récentes ainsi que les coordonnées du CNR (téléphone, fax et mail) et les modalités d'envoi des prélèvements. Le rapport d'activité est mis en ligne dès réception de son évaluation par le comité des CNR. Le site liste également les publications du CNR.

Les membres du CNR sont disponibles par téléphone (secrétariat du laboratoire ou téléphone direct de 9h à 18h du lundi au vendredi) ou par courrier électronique (disponibles sur le site web) pour répondre aux interrogations des professionnels : conseils diagnostiques, type de prélèvement et conditions d'acheminement.

Les biologistes du CNR sont joignables par téléphone (secrétariat du laboratoire ou téléphone direct) de 9h à 18h du lundi au vendredi ou par messagerie.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Anne-Marie Roque Afonso est Membre du groupe de travail Sécurité des éléments et produits du corps humain (Secproch) du HCSP.

Jacques Izopet a participé au groupe de travail du HCSP pour la mise en place du dépistage génomique du VHE chez les donneurs de sang, et pour la recherche de l'ARN du VHE chez les donneurs d'organes et de cellules souches hématopoïétiques.

Jacques Izopet est membre du Comité d'interface pour la surveillance des donneurs de sang.

Le CNR a collaboré avec l'EFS et le CTSA pour estimer le nombre de dons ARN-VHE positifs en France (environ 1/1000) (Laperche Blood Transfusion 2023). Cette estimation a pu être affinée après ajustement sur 3 variables (établissement, sexe, âge) à 1/1682 pour l'ensemble de la population des donateurs (Pillonel Vox sanguinis 2023).

Jacques Izopet participe au groupe d'expertise ANSES comme rapporteur pour l'actualisation de la fiche de description du danger biologique transmissible par les aliments relative au virus de l'Hépatite E.

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

Deux conférences grand public ont été données par Jacques Izopet

- Infection virale, persistance, réponse de l'hôte et physiopathologie - Journée scientifique sur l'Holobionte (Toulouse, Genotoul, 09/11/2023)
- Où se cache le virus de l'hépatite E ? - Université populaire de Philosophie de Toulouse (Toulouse, 20/02/2024)

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

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

• VHA

- 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. Il n'existe pas de techniques permettant de déterminer si des sujets mauvais répondeurs au vaccin, notamment les cirrhotiques, restent protégés après négativation des anticorps anti-VHA. Nous avons mis au point des méthodes d'évaluation de la réponse humorale : IgA sériques, IgG et IgA salivaires.
- Développement de protocoles de séquençage du génome complet, comparaison de différentes approches d'enrichissement
- Analyse systématique des données 2013-2022 du PMSI disponibles sur le site de l'ATIH pour évaluer l'évolution dans le temps du nombre d'hospitalisations pour hépatite A aigue, les variations régionales, et les facteurs associées aux formes sévères (réanimation, transplantation hépatique, décès). Communication orale à l'ECCMID 2024.

• VHE

- Etude de la réponse immune lors du traitement par ribavirine des hépatites E chroniques chez les transplantés d'organe solide (ANRS-MIE)
- Etude des mécanismes améliorant la capacité répliquative des variants recombinants du virus de l'hépatite E (ANRS-MIE)
- Etude de la libération vectorielle du virus de l'hépatite E dans un modèle d'organoïdes intestinaux et effets de la ribavirine (ANRS-MIE)

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

• VHA

Publication Nationales

1. AM Roque-Afonso. Le virus de l'hépatite A. EMC biologie médicale 2023
2. AM Roque-Afonso. Prévention et nouveaux traitements de l'hépatite A. Bulletin de l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur. 2023. n° 250, vol. 65: 85-88.

Communications nationales et conférences nationales sur invitation

1. C Tijani Hamed, E Marchadier, T Soumbara, M Ahmed Aiche, M Mahmoud El Yezid, AM Roque-Afonso. Séroprévalence de l'hépatite E chez les donneurs de sang en Mauritanie, étude préliminaire. (P59). **JFV**, Paris, 2023
2. AC. Gourinat, A. Cannet, L. Dupont, N. Bargeolle, MR. Waia, A Pfannstiel, L. Flourey, L. Mouna, AM. Roque-Afonso, S. Laumond. Epidémie d'hépatite A dans un territoire outre-mer du Pacifique associée à un taux d'hospitalisation inhabituel. **JNI**, Grenoble, 2023.

Communications internationales

- 1- A-M Roque-Afonso, C Mouliade, L Parlati, N Goutte, S Bouam, P Sogni, S Pol, V Mallet. Outcomes of hospitalisations for acute hepatitis A in France: a 10-year nationwide study. ECCMID, Barcelona, 2024.

• VHE

Publications nationales

1. Lhomme S, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Izopet J. Virus de l'hépatite E. EMC Biologie Médicale 2023

2. Izopet J. Hépatite E : diagnostic, traitement et vaccin. Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur (sous presse).

Publications internationales

1. Abravanel F, Lhomme S, Marion O, Péron JM, Kamar N, Izopet J. Diagnostic and management strategies for chronic hepatitis E infection. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2023;21:143-148.
2. Laperche S, Maugard C, Lhomme S, Lecam S, Ricard C, Dupont I, Richard P, Tiberghien P, Abravanel F, Morel P, Izopet J, Gallian P. Seven-years (2015-2021) of blood donor screening for HEV-RNA in France: lessons and perspective. *Blood Transfusion* 2023;21:110-118.
3. Lhomme S, Magne S, Perelle S, Vaissière E, Abravanel F, Trelon L, Martin-Latil S, Izopet J, Figoni J, Spaccaverri G. Clustered cases of waterborne hepatitis E virus infection, France. *Viruses* 2023;15:1149
4. Peron JM, Larrue H, Izopet J, Buti M. The pressing need for a global HEV vaccine. *Journal of Hepatology* 2023;79:876-880.
5. Abravanel F, Lhomme S. Hecolin vaccine: long-term efficacy against HEV for a three-dose regimen. *Lancet* 2024
6. Cottu A, Kante A, Megherbi A, Lhomme S, Maisonneuve L, Santoli F. A frantic confusion: beyond rabies and anti-N-methyl-D-aspartate encephalitis. *J Neurovirol* 2023 (3):358-363.
7. Sottit P, Lhomme S, Sauné K, El Hayani S, Oliveira-Mendes K, Péron JM, Kamar N, Izopet J, Abravanel F. Evaluation of an automated platform for the detection of HEV RNA in plasma and stool. *J Virol Methods* (sous presse).
8. Izopet J, Kamar N. Hepatitis A and E viruses, *Manual of Clinical Microbiology*, 13th Edition (sous presse).

Communications et conférences nationales sur invitation

1. Izopet J. Hépatite E : pourquoi, quand et comment ? Journée Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène des Hôpitaux – Paris (2023).
2. Allieux C, Paronetto O, Pucelle M, Da Silva I, Lhomme S, Izopet J, Chapuy-Regaud S. Rôle de LC3B dans l'infection d'hépatocytes polarisés par le virus de l'hépatite E. Réunion annuelle AC42 - Réseau national hépatites virales de l'ANRS | Maladies Infectieuses Emergentes – Paris (2023).
3. Paronetto O, Allieux C, Pucelle M, Chapuy-Regaud S, Dimeglio C, Izopet J, Lhomme S. Caractérisation des variants recombinants du virus de l'hépatite E (VHE). Réunion annuelle AC42 - Réseau national hépatites virales de l'ANRS | Maladies Infectieuses Emergentes – (Paris 2023).
4. Martini F, Retailliau M, J. Izopet, E. Champagne. Interactions HEV/CMV : indications résultant de l'étude des lymphocytes T $\gamma\delta$ ex-vivo et in vitro. Réunion annuelle AC42 - Réseau national hépatites virales de l'ANRS | Maladies Infectieuses Emergentes – (Paris 2023).
5. Izopet J. VHE : clinique / perspectives. XXXI^{ème} Congrès de la Société Francophone de Transfusion Sanguine – Toulouse (2023).

Communications et conférences internationales sur invitation

1. Izopet J. Mechanisms of HEV persistence in immunocompromised patients. Global Hepatitis Summit – Paris (2023).
2. Abravanel F, Lhomme S, Sottit P, Chapuy-Regaud S, Izopet J. Performance of the Altostar HEV RNA RT-PCR Kit for quantifying HEV RNA in plasma and stool. 2nd International Hepatitis E Symposium – Londres (2023).
3. 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. 2nd International Hepatitis E Symposium – Londres (2023).
4. S. Lhomme. Hépatite virale E et femmes enceintes: nécessité de la mise en place d'un système de surveillance. 3^{èmes} Journées Scientifiques sur les Hépatites Virales au Burkina Faso (JSHV-BF) – Visioconférence (2023).
5. Laperche S, Tribout M, Dimeglio C, Tolini S, Somme S, Pouchol E, Delataille V, Abravanel F, Le Cam S, Lacoste M, Lhomme S, Morel P, Gallian P, Izopet J. HEV Infection in Blood Donors in France: first results from NAT testing. 38th International Congress of the ISBT - Barcelone (2024)

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

IFREMER

- Le CNR collabore avec Soizick LEGUYADER, dans le domaine de la détection du VHA et du VHE dans les coquillages et les effluents et les enquêtes épidémiologiques autour de cas groupés impliquant des coquillages : échanges de souches et de techniques (séquençage).

ANSES/Laboratoire de sécurité des aliments

- Le CNR collabore avec Sylvie Pérelle et Sandra Martin-Latil, ANSES, dans le domaine de la détection du VHA et du VHE des produits alimentaires : échanges de souches, de techniques, accueil ponctuel d'étudiants. Validation inter-laboratoire de la RT-PCR temps réel pour la détection du VHA.
- Le CNR collabore avec Nicole Pavio, ANSES Maisons-Alfort, dans le cadre d'enquêtes alimentaires et dans le cadre du réseau CoVetLab.

DGCCRF – DGDDI

- Le CNR collabore avec le service commun des laboratoires de la DGCCRF à Montpellier, dans le domaine de la détection du VHA dans les aliments, par la fourniture d'échantillons de contrôle, notamment.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Activités d'expertise

• VHA

a) Séquençage

Les protocoles de séquençage NGS et les pipelines informatiques sont en développement pour des études génome entier du VHA. 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.

a) Caractérisation de la réponse vaccinale

Nous allons poursuivre le développement de techniques 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) et d'un test de neutralisation en culture cellulaire. Ce dernier test contribuera à la validation du « seuil protecteur » d'anticorps anti-VHA.

Nous caractériserons la réponse vaccinale dans différentes cohortes de patients.

• VHE

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 bibliothèque 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 immunitaire 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 sera développée.

c) **Activité de séquençage**

Le protocole de séquençage de 3^{ème} génération développé par le CNR basé sur la technologie PacBio permet le séquençage de longs fragments d'acides nucléiques avec une exactitude proche de 100%. Cette approche permet le génotypage mais aussi la détection de variants minoritaires, de mélanges de variants, et de virus recombinants. Une optimisation des conditions de réaction sera réalisée pour obtenir des séquences génomiques complètes de VHE sur une plus grande proportion d'échantillons dont la charge virale est inférieure à 3 log copies/ml.

Les autres techniques de séquençage de 3^{ème} génération (ONT) ou de 2^{ème} génération (Illumina) seront également évaluées par le CNR.

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

8.2 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 termes 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).

8.3 Surveillance épidémiologique

Les orientations proposées dans le cadre de la 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 et Innovie. Pour chacun de ces laboratoires, des correspondants ont été identifiés. Une animation commune du réseau est prévue.
- Poursuite du partenariat avec l'EFS et le CTSA 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).

• VHA

a) Caractérisation des souches VHA circulant dans les DROM : Mayotte et Nouvelle Calédonie

b) Réévaluation de la fréquence des IgM VHA positives en l'absence d'infection aiguë par le VHA (faux positifs ou activation polyclonale)

• VHE

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'examens 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'examens moléculaires complémentaires (quantification de l'ARN VHE et génotypage). La transmission concomitante des données clinico-biologiques (fiche CNR VHE) permettra d'identifier un lien entre le génotype 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 - génotype 4 (rares en France) comparativement aux infections à VHE de génotype 3 (Jebblaoui et al, Clin Infect Dis 2013 ; Micas et al, Frontiers in Microbiology 2021)
- une plus grande sévérité des infections à VHE - génotype 3f comparativement aux infections à VHE - génotype 3c (Subissi et al, Epidemiol Infect 2019 ; Abravanel et al, Liver International 2020 ; Peeters, J Hepatol 2023)

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

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

Depuis le 20 mars 2023, l'EFS a mis en place le dépistage génomique du VHE pour l'ensemble des dons à visée thérapeutique. Le plasma d'aphérèse à destination exclusive du fractionnement est exclu du périmètre. Le dépistage est réalisé dans 4 laboratoires de qualification biologique des dons en métropole et 3 laboratoires en territoire ultramarin. Le dépistage est réalisé en pools de 6 dons sur 90% des dons (Cobas VHE, Cobas 8800, Roche Diagnostics) et en unitaire pour 10% des dons de métropole et pour les territoires ultramarins (Ultrioplex E, Panther, Grifols).

Les échantillons testés positifs sont adressés au CNR avec une fréquence mensuelle pour quantification de l'ARN VHE, détermination du génotype et sérologie.

Les donneurs positifs sont informés de l'infection par un courrier spécifique et invités à consulter leur médecin traitant. Par ailleurs un questionnaire épidémiologique est complété par le donneur et retourné par courrier à l'EFS.

Le CNR prévoit de déterminer la charge virale et le génotype chez environ 3000 individus par an dépistés par l'EFS. Le CNR poursuivra également la détermination de la charge virale et du génotype VHE chez les militaires donneurs de sang testés par le CTSA. Le caractère systématique de cette approche permet 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 génotypes et sous-génotypes, 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. Un dépistage universel du VHE a été instauré au Japon.

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 et al, 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 (Lhomme Viruses 2023). 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 et al, 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 Entérovirus 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-Obépine) 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 et al, Emerg Infect Dis 2011 ; Izopet et al, Emerg Infect Dis 2012 ; Lhomme et al, J Clin Virol 2013 ; Lhomme et al, 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.

8.4 Alerte

• VHA

Le fonctionnement reposera comme lors du précédent mandat 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.

• VHE

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

Les expertises effectuées à la demande des ARS seront réalisées en lien avec Santé Publique France selon les modalités de la précédente mandature.

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

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR du virus des hépatites à transmission entérique : hépatite A et E

Le laboratoire du CHU de Toulouse (Pr Jacques Izopet) est en charge de l'activité hépatite E et le laboratoire du GHU Paris Saclay, à Villejuif (Pr Anne-Marie Roque-Afonso) est en charge de l'activité hépatite A. La coordination est 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 se sont engagés à renforcer la synergie sur les aspects logistiques, technologiques et scientifiques.

- 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 dans l'environnement.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse, CNR-Laboratoire coordonnateur

- **Ressources humaines** : Etat des emplois affectés au CNR

L'équipe dédiée au CNR pour l'activité VHE est constituée de 3 biologistes (0.6 ETP), 1 data scientist et 3 ingénieurs

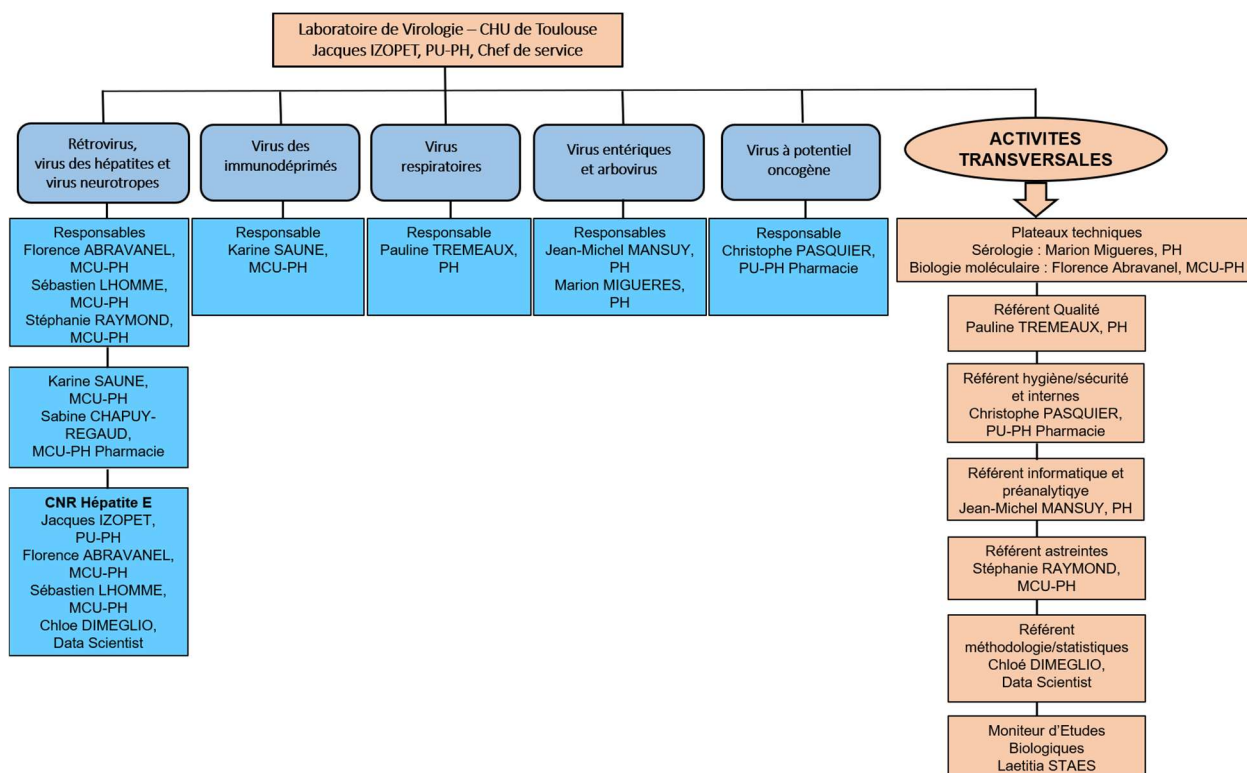
Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Jacques Izopet	0.2	Biologiste, CS, Directeur du CNR coordonnateur	PU-PH	CHU Toulouse
Florence Abravanel	0.2	Biologiste	MCU-PH	CHU Toulouse
Sébastien Lhomme	0.2	Biologiste	MCU-PH	CHU Toulouse
Chloé Dimeglio	1	Data Scientist		
Justine Latour	1	Ingénieur-bioinformaticien		
Sofia Demmou	1	Ingénieur-bioinformaticien		
Clémentine De Smet	1	Ingénieur		

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

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

Nicolas Jeanne : ingénieur bio-informaticien

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



Laboratoire de Virologie du GHU Paris Saclay, CNR-Laboratoire associé

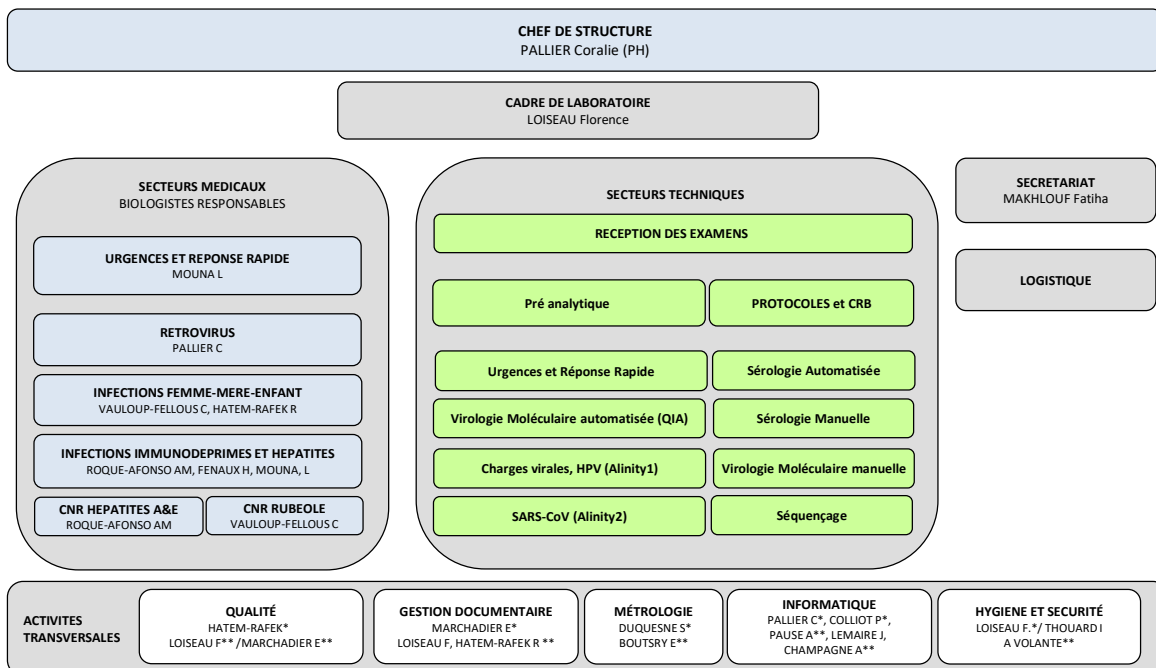
- **Ressources humaines** : Etat des emplois affectés au CNR

L'équipe dédiée au CNR pour l'activité VHA est constituée de 2 biologistes (0.5 ETP), 1 ingénieur (1 ETP) et 1 technicien (0.5 ETP). Le Pr Anne Marie Roque-Afonso (PU-PH) coordonne le CNR VHA.

Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Anne-Marie Roque-Afonso	0.2	Médecin Biologiste, Directeur du CNR Associé	PU-PH	APHP
Honorine FENAUX	0.1	Médecin Biologiste, Directeur adjoint	PH	APHP
Amal CHAGOURI	1	Ingénieur d'études	Ingénieur	CNR
Marie-Pierre SOUTIERE	0.5	Technicien	TLM	CNR

Le CNR est intégré au service de Virologie (LBM des Hôpitaux universitaires Paris Sud, accréditation ISO 15189). En complément de l'équipe dédiée au CNR, l'organisation ci-dessous permet l'implication d'autres personnels en fonction des projets et des activités du CNR, notamment pour la gestion des biothèques.

- **Organigramme du laboratoire de virologie du GHU Paris Saclay :**



*Titulaire ; **Suppléant

1.3 Locaux et équipements

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

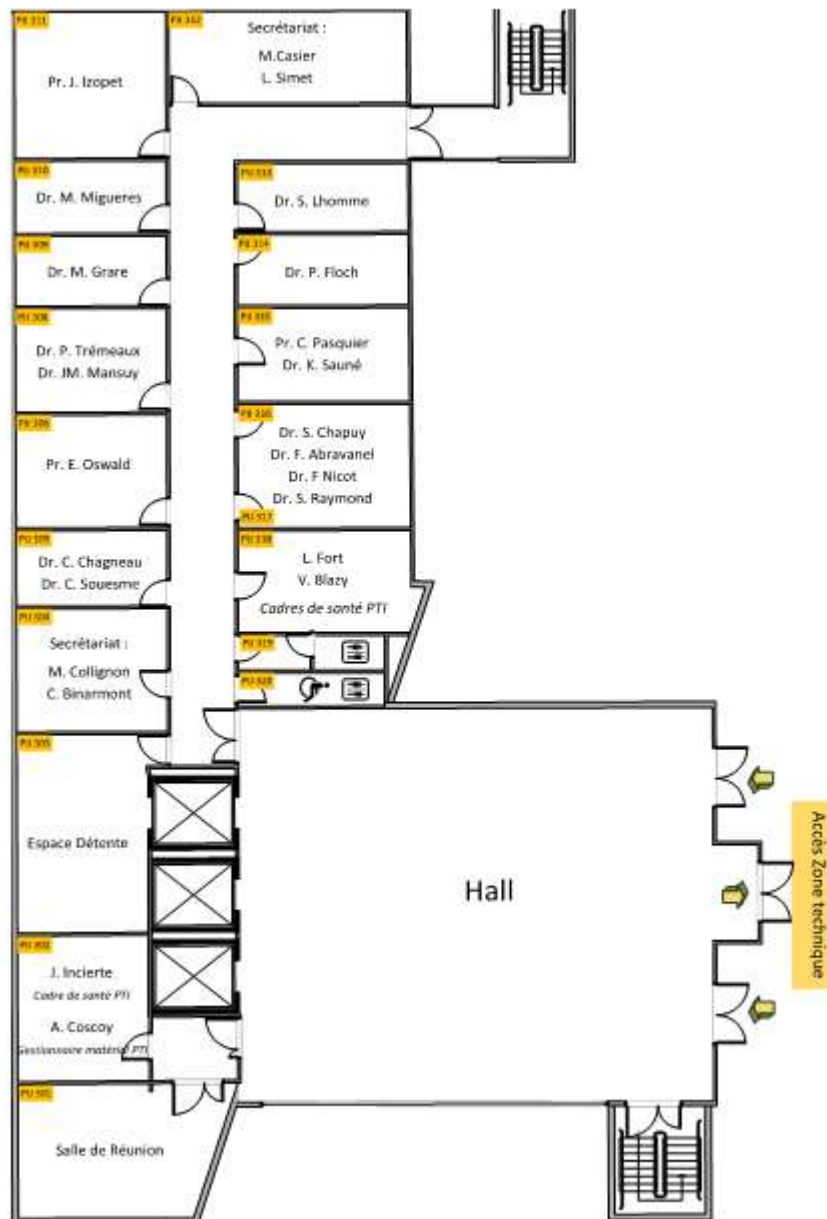
Le CNR hépatite E est intégré au laboratoire de virologie appartenant au plateau technique d'infectiologie à l'Institut Fédératif de Biologie (IFB), sur le site de Purpan du LBM du CHU de Toulouse.

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

Le laboratoire comporte des espaces tertiaires et 3 plateaux techniques :

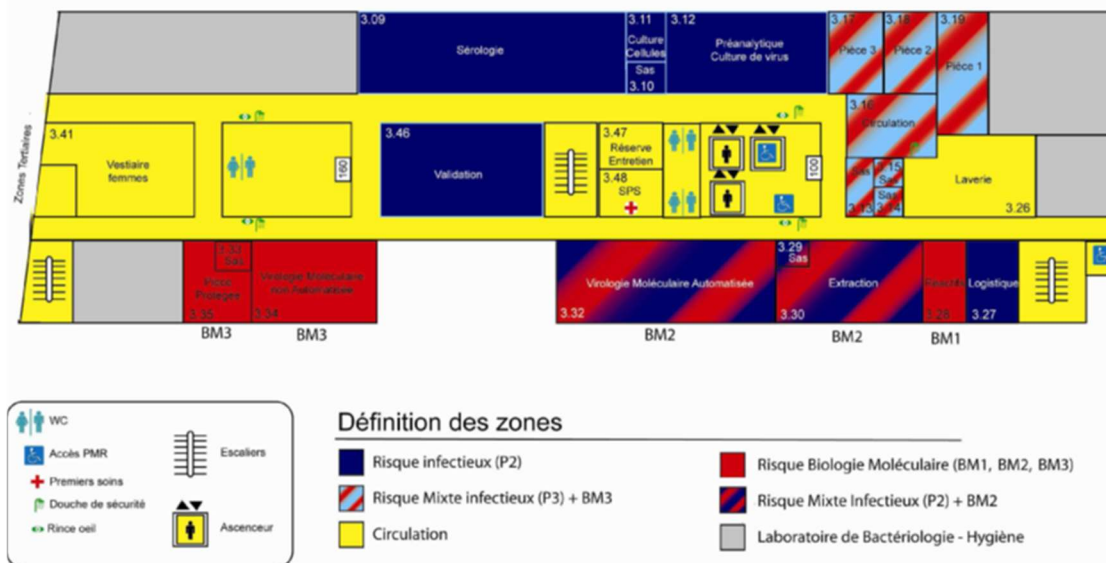
- sérologie
- virologie moléculaire
- culture de virus en laboratoires L2 et L3

Plan des espaces tertiaires du laboratoire de Virologie Institut Fédératif de Biologie – CHU de Toulouse



C

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 :

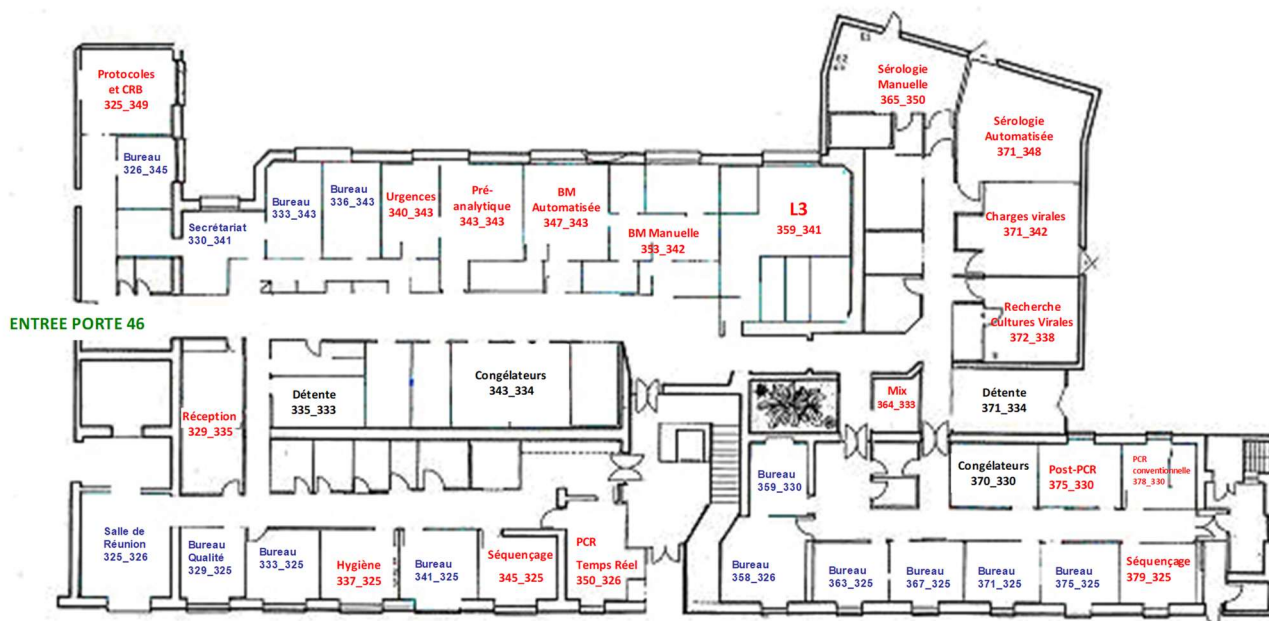
- cytométrie en flux
- imagerie cellulaire
- génomique / transcriptomique
- immunomonitoring

Laboratoire de Virologie du GHU Paris Saclay

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 et NextSeq (Illumina). L'aspect bioinformatique est assuré par l'équipe MOABI au siège de l'APHP. 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.

1.4 Collections de matériel biologique

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

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).

Laboratoire de Virologie du GHU Paris Saclay

Les échantillons issus de l'activité du CNR VHA sont requalifiés pour la recherche et conservés au CRB Paris Saclay après caractérisation virologique au CNR. Le CRB Paris-Saclay est certifié AFNOR (NF S96-900). Les collections (tissus, fluides Acides Nucléiques), dont la collection CNR VHA, sont déclarées au ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation : dernière mise à jour CODECOH N° DC-2019-3686.

En juin 2023, 2687 échantillons étaient stockés : sérums (volume > 500 µl) ou selles contenant de l'ARN VHA dont la souche a été typée et sérums présentant des IgM VHA d'activation polyclonale (ARN négatif et avidité IgG >70%).

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

L'activité de Virologie du CHU de Toulouse est accréditée par le COFRAC selon la norme ISO 15189 depuis avril 2007 (n° 8-1769). L'accréditation concerne 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.

Laboratoire de Virologie du GHU Paris Saclay

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 : Accréditée en portée A (Sérologies VHA IgM, VHA IgG Ac Totaux, IgM VHE). Rajout prévu en portée A (IgG VHE). Extension prévue en portée B (Avidité IgG VHA)
- VB01 : Accréditée en portée A (PCR VHE). Extension prévue en portée B (PCR VHA, Géotypage VHA/VHE en 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 identifiées, 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 auditée 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.

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 pour le génotypage du VHE.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Laboratoire de Virologie du CHU de Toulouse

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 Ile (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 Infect Dis, 2011 ; Abravanel et al, J Clin Virol 2013) et technique Liaison Murex anti-HEV IgG et IgM (Abravanel et al, Viruses 2022).
- Etude de l'avidité des IgG VHE (par adaptation de la technique EIA IgG Wantai)
- Titrage 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 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 développés 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 et al, J Virol 2019) et des cultures sur entérocytes primaires ou explants intestinaux (Marion et al, 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 et al, J Gen Virol, 2020).

Laboratoire de Virologie du GHU Paris Saclay

Tests Sérologiques

- Détection des anticorps totaux (Cobas, Roche), quantification des anticorps totaux (Biorad) et détection des IgM (Vidas, BioMérieux)
- Avidité des IgG VHA (Desbois et al, J Clin Microbiol 2004 ; Roque-Afonso et al, 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), par utilisation du standard international (3rd WHO International Standard for Hepatitis A Virus VL For Nucleic Acid Amplification Techniques, NIBSC code: 15/276)

Caractérisation des souches

- RT-PCR de la région VP1-2A (500 nucléotides) permettant le génotypage par séquençage sanger et analyse phylogénétique de la région VP1/2A
- Séquençage du génome complet par NGS sur MiSeq après enrichissement par hybrid-capture ou PCR multiplex

Culture cellulaire

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

Base de données de séquences

La Base de données de séquences VHA est gérée par le logiciel Bionumerics (>2500 séquences génotypées 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.

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

- Tests sérologiques commercialisés
- Tests moléculaires commercialisés