

# RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2025

***Année d'exercice 2024***

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

# 1. Table des matières

---

Résumé analytique	4
Faits marquants	4
Executive summary	5
Highlights	5
<b>1. Missions et organisation du CNR</b>	<b>6</b>
Organigramme	6
Mission et Organisation	6
Démarche Qualité	6
<b>2. Activités d'expertise</b>	<b>7</b>
2.1 Evolution des techniques	7
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	7
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	8
2.4 Collections de matériel biologique	8
2.5 Activités d'expertises	9
2.6 Activités de séquençage	12
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	14
<b>3. Activités de surveillance</b>	<b>15</b>
3.1 Description du réseau de partenaires	15
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	15
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	21
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	21
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	22
<b>4. Alertes</b>	<b>23</b>
<b>5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil</b>	<b>27</b>
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	27
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	27
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public...)	28
<b>6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR</b>	<b>29</b>
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
<b>7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux</b>	<b>31</b>
<b>8. Programme d'activité pour les années suivantes</b>	<b>32</b>
8.1 Activités d'expertise	32
8.2 Activités de conseil, formation et information	33
8.3 Surveillance épidémiologique	34
8.4 Alerte	36

<b>1. Annexe 1 : Missions &amp; organisation du CNR</b>	<b>37</b>
1.1 Missions du CNR du virus des hépatites à transmission entérique : hépatite A et E	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
<b>2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR</b>	<b>45</b>
2.1 Liste des techniques de référence	45
1.2 Liste des techniques recommandées par le CNR	46
<b>3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)</b>	<b>47</b>
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
<b>1 Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques (non destinées à être rendues publiques)</b>	<b>49</b>

## RESUME ANALYTIQUE

### FAITS MARQUANTS

**(300 mots ; 1932 caractères espaces compris)**

La surveillance est organisée grâce à une collaboration efficace avec des partenaires publics et privés (CHU, CH, LBM, EFS, CTSA, Biomédecine, ANSES, IFREMER).

Pour le VHA, l'année a été marquée par une augmentation de 78% du nombre d'infections caractérisées, soit 271 patients, et par l'augmentation du nombre de cas groupés investigués, 11 en 2024. Le pourcentage d'hommes ré-augmente progressivement depuis 2020 et atteint 63%. Le génotype IA reste majoritaire et moins souvent associé à la notion de voyage (30% des cas) que les génotypes IB (64%) et IIIA (67%). Aucun des 11 patients infectés par un génotype IIA dans un épisode de cas groupés en Normandie n'avait voyagé, mais la souche a pu être rattachée à un voyage au Cameroun. Le CNR surveillera particulièrement en 2025 les cas survenant chez les HSH.

Concernant le VHE, le CNR a répertorié 3320 cas symptomatiques en 2024. Le dépistage génomique unitaire du CTSA a permis d'identifier 50 cas asymptomatiques conduisant à une incidence de l'infection de 2,3/1000 en 2024 alors qu'elle était de 1,8/1000 en 2023. Le dépistage génomique de l'EFS a permis d'identifier 2487 cas asymptomatiques (incidence 0,9/1000 en minipools de 6 et 1,6/1000 en unitaire). Les variations régionales allaient de 0,5/1000 (Nord-Ouest) à plus de 2/1000 dans plusieurs zones du Sud de la France. Le génotype a été déterminé pour 582 échantillons avec une prépondérance du sous-type 3c (70%). Aucun regroupement spatio-temporel des séquences virales n'a été identifié par l'analyse de régions ciblées (ORF2, PPR) ou de génomes complets. Les recherches en cours visant à préciser le mécanisme de transmission dans les zones à forte incidence 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 sévère).

## EXECUTIVE SUMMARY

### HIGHLIGHTS

**(270 words; 1813 characters including spaces)**

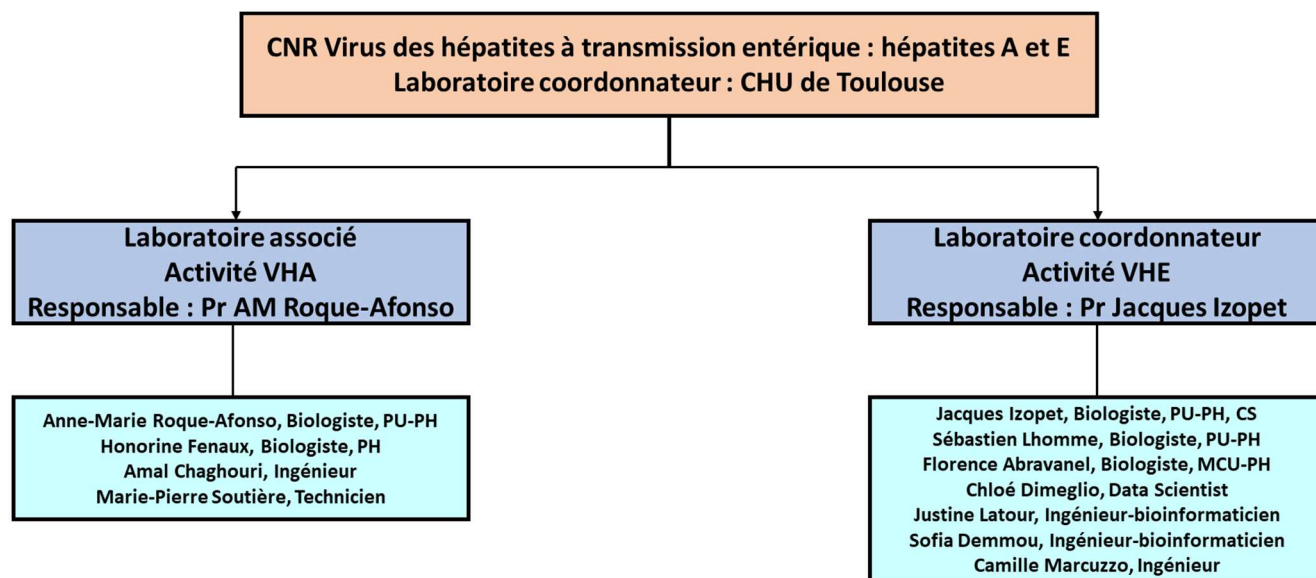
Surveillance is organized through effective collaboration with public and private partners (university hospitals, hospital centers, LBM, EFS, CTSA, Biomedicine, ANSES, IFREMER).

For HAV, the year was marked by a 78% increase in the number of characterized infections, 271 patients, and by an increase in the number of cluster cases investigated, 11 in 2024. The percentage of men has gradually increased again since 2020 and reached 63%. Genotype IA remains the majority and is less often associated with travel (30% of cases) than genotypes IB (64%) and IIIA (67%). None of the 11 patients infected with genotype IIA in a cluster episode in Normandy had traveled, but the strain could be traced to travel to Cameroon. In 2025, the NRC will specifically monitor cases occurring among MSM.

Regarding HEV, the NRC recorded 3,320 symptomatic cases in 2024. CTSA's single-patient genomic screening identified 50 asymptomatic cases, leading to an infection incidence of 2.3/1,000 in 2024, compared to 1.8/1,000 in 2023. EFS genomic screening identified 2,487 asymptomatic cases (incidence 0.9/1,000 in minipools of 6 and 1.6/1,000 in single-patient genomic screening). Regional variations ranged from 0.5/1,000 (Northwest France) to more than 2/1,000 in several areas of southern France. The genotype was determined for 582 samples, with a preponderance of subtype 3c (70%). No spatiotemporal clustering of viral sequences has been identified by analysis of targeted regions (ORF2, PPR) or complete genomes. Ongoing research aimed at clarifying the transmission mechanism in high-incidence areas is essential for the implementation of effective preventive measures, a key element for immunocompromised individuals (60% risk of chronic hepatitis) and those with chronic liver disease (high risk of severe liver failure).

# 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](http://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

Mise en place du séquençage du génome complet par NGS.

#### • 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 de séquençage haut débit de 3<sup>ème</sup> génération (génome complet, ORF2, région hypervariable PPR de ORF1) basée sur le séquençage de longs fragments d'acides nucléiques par la technique Single Molecule Real Time Sequencing sur l'instrument Sequel IIe (Pacbio). Cette technologie permet également l'analyse des quasi-espèces virales et l'identification de co-infections.

Ces nouvelles techniques sont accréditées COFRAC ISO 15189.

### 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

#### • VHA

Pas de nouvelles évaluations.

#### • VHE

##### - Evaluation de l'automate multiparamétrique Wan200+ de Wantai

- Détection des IgM anti-VHE  
Principe basé sur l'immunocapture et la chimioluminescence  
Comparateur : test ELISA Wantai sur microplaque  
Sensibilité clinique : 73% (223/304) et >99% au cours de la phase virémique  
Spécificité clinique : 99,8% (399/400)
- Détection des IgG anti-VHE  
Principe basé sur la chimioluminescence  
Comparateur : test ELISA Wantai sur microplaque  
Sensibilité analytique évaluée sur des réplicats de dilutions du standard OMS : 0,3UI/ml  
Sensibilité clinique : 99% (302/305)  
Spécificité clinique : 97,8% (391/400)
- Détection de l'antigène VHE dans le sang  
Principe basé sur la chimioluminescence  
Comparateur : ARN VHE dans le sang  
Sensibilité : 35% (183/524)  
Fréquence de détection associée à la concentration ARN VHE :
  - <60% si ARN VHE <4 log c/ml
  - >80% si ARN VHE >4 log c/ml
- Détection de l'antigène VHE dans l'urine  
Principe basé sur la chimioluminescence  
Comparateur : ARN VHE dans le sang chez des immunodéprimés  
Sensibilité : 97,7% (84/86)  
Spécificité : 99,5% (199/200)

- **Evaluation d'un test rapide de détection de l'Ag VHE dans l'urine**

Principe basé sur l'immunochromatographie

Comparateur : ARN VHE dans le sang chez des immunodéprimés

Sensibilité : 95,4% (83/87)

Spécificité : 100% (100/100)

- **Evaluation de la technique de RT-PCR VHE BeGenius (Elitech) sur automate**

L'évaluation réalisée en 2023 a été poursuivie au CHU de Toulouse en testant un nouveau protocole d'extraction afin d'améliorer la limite de détection (LoD) de cette technique. Cette étude a montré que la LoD était abaissée de 500 UI/ml à 69 UI/ml en utilisant un volume initial de plasma de 600µl (éluat 50µl) au lieu de 200µl (éluat 100µl).

- **Evaluation d'une technique de RT-PCR VHE sur le système Panther-Fusion (Hologic)**

Un premier protocole a été testé en 2024 mais la sensibilité analytique obtenue n'était pas satisfaisante. Des optimisations sont en cours.

## 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

• **VHA**

Pas de techniques transférées.

• **VHE :**

Le CNR a fourni des échantillons biologiques au CHU de Rouen 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).

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](mailto: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.

• **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 2024	
VHA	VHE
<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1254 prélèvements</li> <li>- 1254 détection/quantification d'ARN VHA</li> <li>- 181 expertises diagnostiques/suivi clinique</li> <li>- <b>277 séquences</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 14458 prélèvements</li> <li>- 9528 analyses sérologiques</li> <li>- 10000 analyses de biologie moléculaire (quantification de l'ARN viral et séquençage).</li> <li>- <b>937 séquences VHE</b></li> </ul>

### • VHA

#### Evolution du nombre et contexte d'envoi des prélèvements au CNR VHA

	Nbre total de Séquences	Dont séquences « cas groupés »	Expertise diagnostique/ suivi clinique*	Diagnostic moléculaire exclusif	Nbre total de prélèvements	Evolution Nbre échantillons	Evolution Nbre de souches
2020	63	17	101	471	635		
2021	91	10	126	753	970	53%	44%
2022	94	0	116	666	876	-10%	3%
2023	153	11	125	671	949	8%	63%
<b>2024</b>	<b>277</b>	65 + 6 séquences environnement	<b>181</b>	<b>796</b>	<b>1254</b>	<b>+32%</b>	<b>+81%</b>

\*ARN et tests sérologiques complémentaires

#### Provenance des échantillons selon le contexte :

	Origine	Nombre (%)
Observatoire et cas groupés	CHU et CH Ile de France	67 (24%)
	CHU et CH hors IDF	195 (70%) dont 9 DOM et étranger
	LBM libéraux	7 (2.5%)
	IFREMER	6 (2%)
	EFS	2
Expertise / suivi clinique	CHU et CH Ile de France	41 (22%)
	CHU et CH hors IDF	117 (65%)
	LBM libéraux	23 (13%)
Diagnostic moléculaire	CHU et CH Ile de France	714 (90%)
	CHU et CH hors IDF	67 (8%)
	IFREMER	6
	LABM libéraux	2

Le nombre de prélèvements, notamment le nombre de prélèvements virémiques, avait atteint un plancher en 2020, en période Covid. Ces nombres ont augmenté significativement en 2024 par rapport à 2023.

L'Ile de France reste le principal pourvoyeur d'échantillons à visée diagnostique, mais représente moins de 25% des échantillons adressés pour expertise ou pour observatoire des souches/cas groupés. Les laboratoires libéraux sont très minoritaires parmi les demandeurs.

#### Analyses réalisées et délai de rendu

- Charge virale VHA < une semaine. Une charge virale détectable confirme le diagnostic Une charge virale indétectable exclut une infection en cours
- Génotypage par séquençage 10 jours.
- Avidité des IgG anti-VHA réalisée en cas de positivité des IgM avec charge virale indétectable < 4 semaines.

• **VHE**

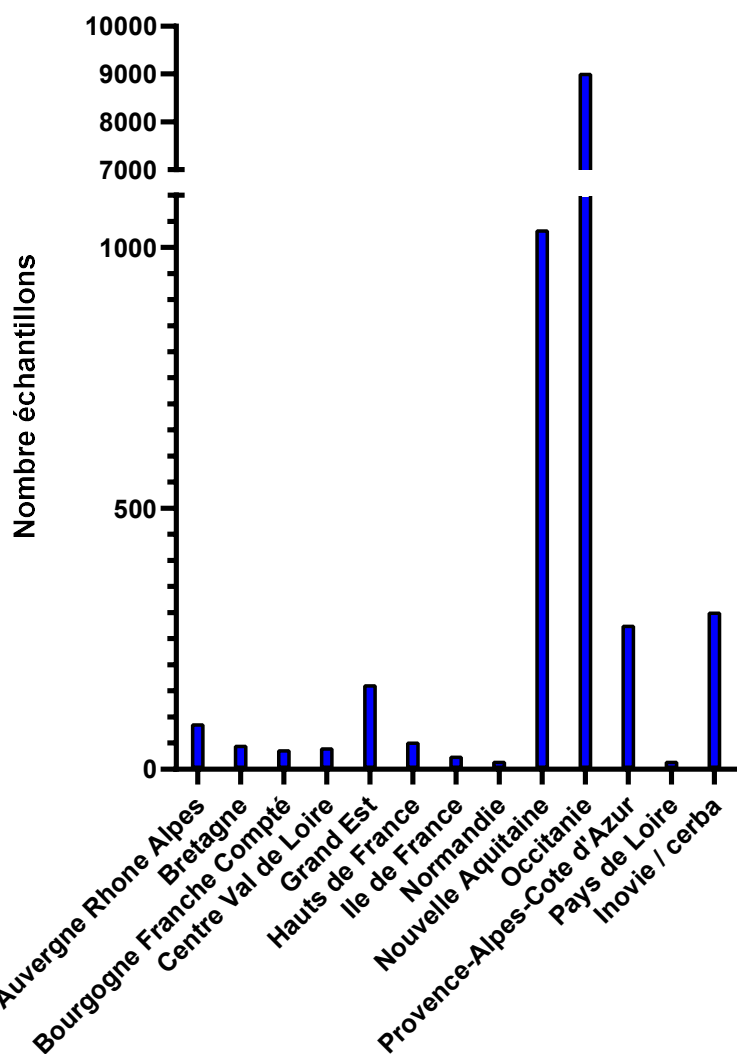
En 2024 le CNR VHE a reçu 14 458 prélèvements. Il a réalisé 6 191 analyses sérologiques et 6 420 analyses de biologie moléculaire (quantification de l'ARN viral et séquençage).

**Provenance des échantillons :**

Origine	Nombre
Centres hospitaliers (CHU et CH)	10524
LBM libéraux	487
EFS – Qualification biologique des dons (QBD)	2487
EFS – Hémovigilance	910 (dont 555 N-1 QBD)
CTSA – Qualification biologique des dons	50

Le délai de rendu en jours ouvrables est de 24h pour les sérologies, 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 :**

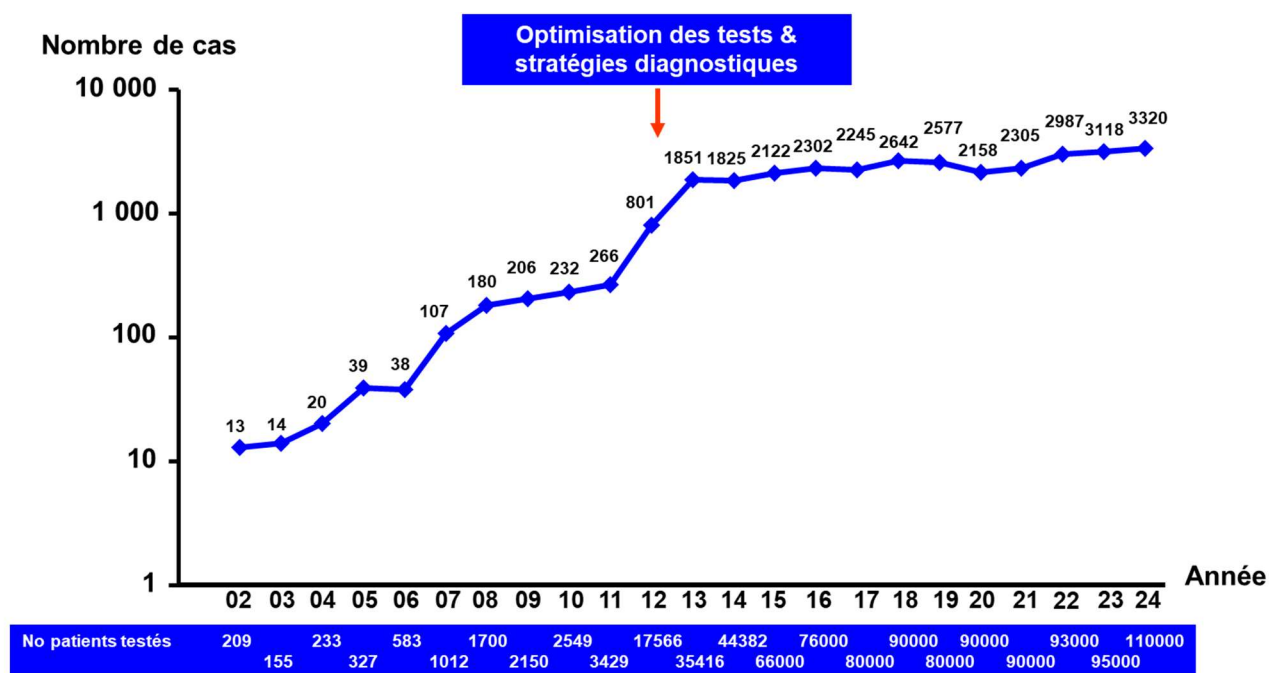


En 2024, le CNR VHE avec l'aide de ses partenaires a répertorié 5807 infections par le VHE : 3320 cas étaient symptomatiques et 2487 provenaient de donneurs de sang asymptomatiques.

L'évolution du nombre de cas symptomatiques (conduisant à la réalisation d'un test de laboratoire) 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
2024	110000	3320	2	3318	3

Il importe de rappeler que l'augmentation des cas symptomatiques répertoriés depuis 2008 est lié à une meilleure connaissance de l'infection à VHE et à un meilleur dépistage. A ce jour, les données nationales des sérologies des hépatites virales (Assurance Maladie) indiquent un sous-diagnostic des hépatites E aiguës pouvant parfois conduire à des errances diagnostiques.



## 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	Accès Interne : technologie Sanger, séquenceur 4 capillaires SeqStudio (Thermofisher)
	Plateforme NGS d'oncogénétique du GHU Paris Saclay : séquenceurs Illumina MiSeq

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	Pipelines bioinformatiques développés par MOABI (APHP) pour analyse Whole Genome NGS
	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.

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 pour tout échantillon amplifiable

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

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>).

En 2024 : 11 épisodes de cas groupés, 60 séquences au total ; (1 épisode investigué en WGS)

### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

277 prélèvements virémiques séquencés (épidémies incluses) : 271 patients et 6 souches environnementales

Séquençage de tous les prélèvements virémiques (hors doublons pour un même patient)

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

Les fluorogrammes (séquençage Sanger) 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. Les données NGS sont hébergées par l'APHP (MOABI)

Une partie des séquences sous format fasta est partagée sur EpiPulse (ECDC). Les séquences citées dans 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 <sup>ème</sup> G PacBio Séquençage 3 <sup>ème</sup> G ONT Séquençage 2 <sup>ème</sup> 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 : clusters constitués de génotypes VHE rares (génotype 4 en particulier) ou de souches appartenant à un même sous-type (3c, 3f, 3m,...) 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 : **937**

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 2024	
VHA	VHE
<ul style="list-style-type: none"><li>- 271 patients virémiques avec souche séquencée : augmentation de 78% par rapport à l'année précédente</li><li>- Investigation de 11 épisodes de cas groupés</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- 937 patients avec souche séquencée</li><li>- Prépondérance du sous-type 3c chez les cas symptomatiques et asymptomatiques</li><li>- Caractérisation des souches de VHE à l'échelle régionale : régions ciblées (ORF2, PPR) et génomes complets</li></ul>

### 3.1 Description du réseau de partenaires

#### • VHA

L'envoi de sérums IgM VHA+ par les laboratoires, publics ou privés, s'effectue sur la base du volontariat. La consolidation du partenariat par convention avec LBM à recrutement national est en cours. Une convention doit être établie. L'EFS qui pratique le dépistage de l'ARN VHA adresse au CNR systématiquement les prélèvements positifs. 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.

#### • 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.

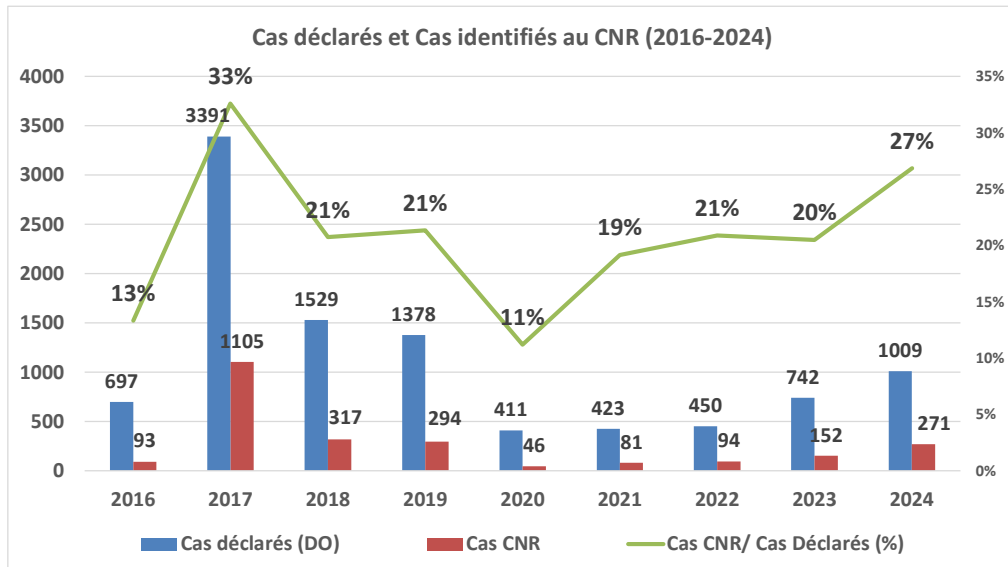
Le CNR collabore avec l'établissement Français du sang (EFS) et le centre de transfusion des armées (CTSA) qui transmettent au CNR les dons qualifiés ARN VHE positifs pour caractérisation (sérologie, quantification de l'ARN VHE et génotypage).

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

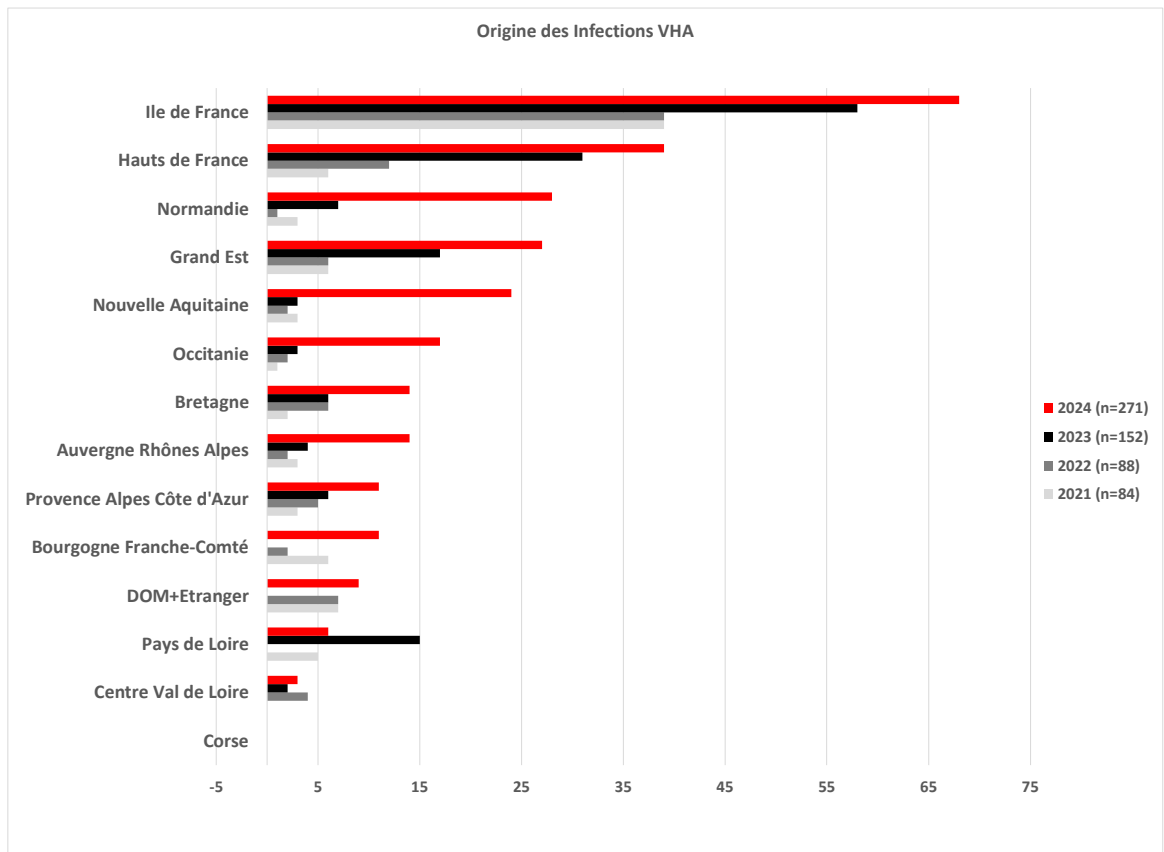
#### • VHA

En 2024, le CNR a caractérisé 271 infections VHA, soit une augmentation de 78% par rapport à 2023.

Le rapport « cas identifiés au CNR/cas rapportés par la DO peut donner une indication de la représentativité de l'échantillonnage du CNR, même s'il nous est impossible de croiser les bases. Ce rapport atteint 27% en 2024, chiffre le plus élevé depuis 2017 où une surveillance active des cas avait été mise en place.



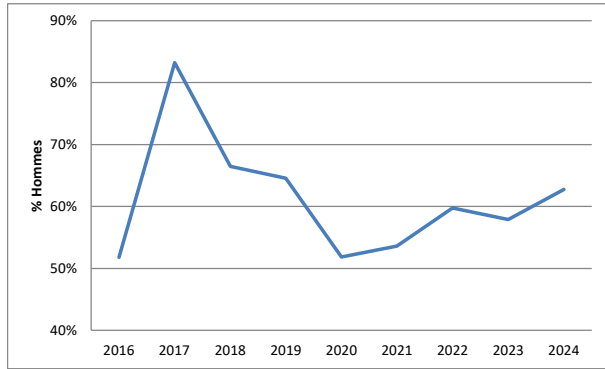
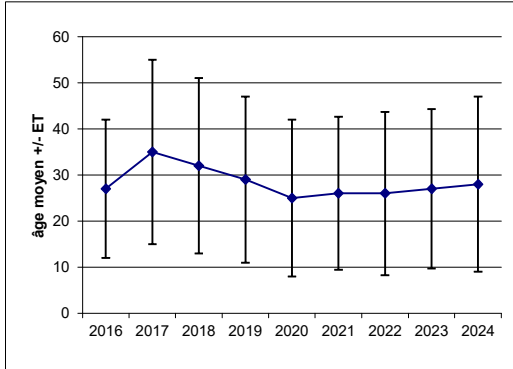
Également en termes de représentativité, le CNR a reçu des échantillons de l'ensemble des régions françaises, Corse exceptée. Quatre régions constituaient près de la moitié des cas identifiés : Ile de France 25%, Hauts de France 14%, Normandie 10% et Grand Est 10%. Ile de France et Hauts de France sont les deux régions les plus représentées depuis plusieurs années, comme montré dans la figure ci-dessous.



Pendant la période Covid-19 (2020-21), marquée par un très faible nombre de cas, le sex ratio était proche de 1. Depuis, le pourcentage d'hommes parmi les cas identifiés au CNR a progressivement remonté et atteint 63% en 2024. L'âge moyen de ces patients remonte également passant de 25±21 en 2020 à 28±20 ans en 2024.

Depuis 2020, cet âge moyen était revenu à des valeurs similaires à celles observée avant l'épidémie de 2017, ayant majoritairement touché des HSH.

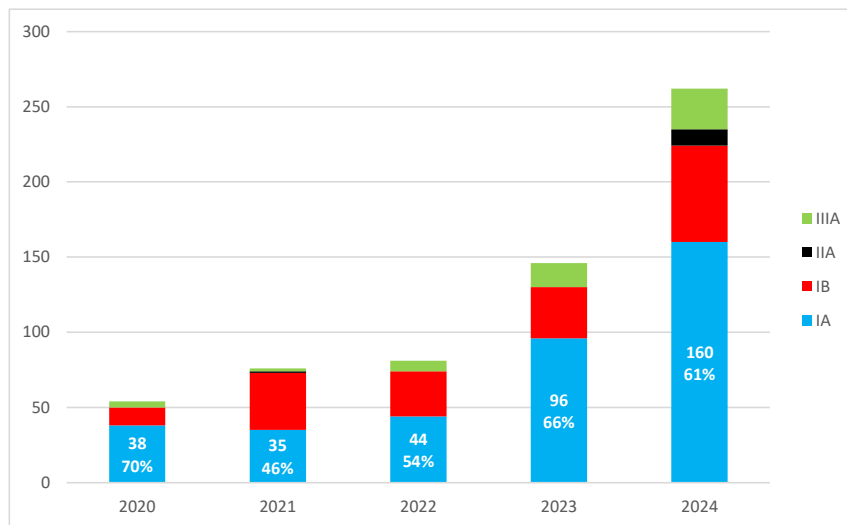
### Evolution de l'âge moyen et du % d'hommes parmi les infections identifiées au CNR 2016-2024



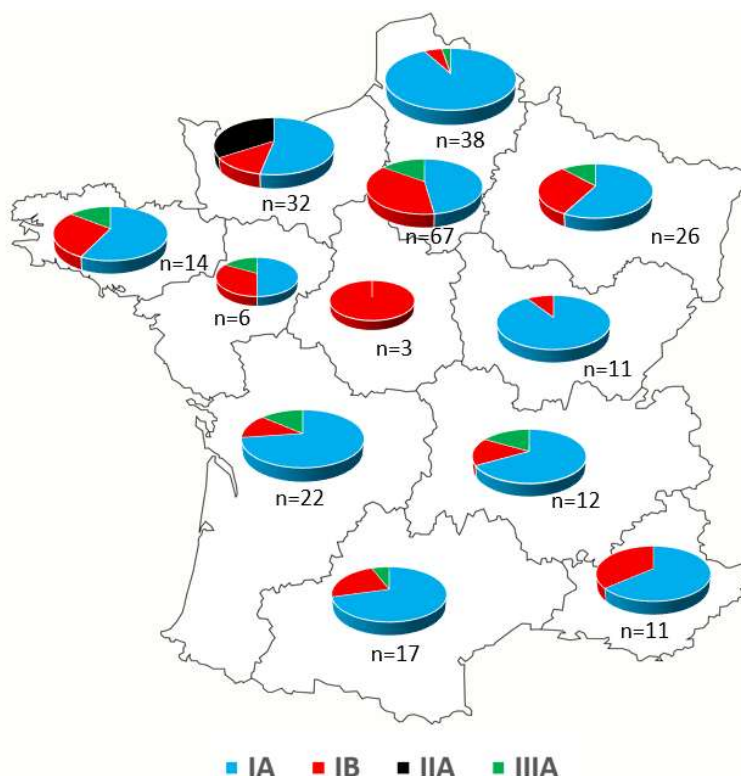
La charge virale moyenne des 271 patients identifiés était de  $4,8 \pm 1,3$  log UI/ml et a permis le génotypage dans 262 cas. Les neuf échantillons non typables et avaient une charge virale moyenne de 2,2 log UI/ml. Parmi ces 271 patients, 2 étaient des donneurs de sang : ils présentaient tous les deux des IgM anti-VHA détectables. L'un n'a pu être typé en raison d'une charge virale faible à 2.2 log UI/ml. Le second avait une charge virale à 5.8 log UI/ml, avec un génotype IA. Après confirmation auprès de l'EFS, il n'y a eu effectivement que 2 donneurs identifiés en 2024 : pas de signal au niveau EFS alors que le nombre de cas recensés par le CNR ou la DO augmente.

Au total, les 262 génotypes identifiés étaient majoritairement IA (61.1%), suivi de IB (24.4%), IIIA (10.3%) et IIA (4.2%). L'émergence du génotype IIA en 2024 est liée à des cas groupés dans un collège en Normandie, il ne s'est pas diffusé au-delà. Le génotype IA est majoritaire dans toutes les régions, Centre Val de Loire excepté.

### Nombre de souches et distribution des génotypes VHA depuis 2020 :



## Nombre de souches et distribution des génotypes par région en 2024 :



La notion de voyage était rapportée dans seulement 30% des génotypes IA et dans aucun des génotypes IIA. En revanche les souches IB et IIIA étaient majoritairement importées, respectivement dans 64 et 67% des cas.

### • VHE

En 2024, la détermination du génotype du VHE a été effectuée par séquençage pour 937 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 349 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 et 3f. La technique de séquençage haut débit utilisée a permis d'identifier des co-infections avec 2 souches différentes chez 2 patients.

L'infection avec un génotype 1 était un cas importé d'Inde identifié dans la région de Poitiers. Une infection avec un génotype 4 importée de Chine a été identifiée à Paris. Les 3 autres infections avec un génotype 4 étaient identifiées chez des patients n'ayant pas voyagé.

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

Génotype	1	4	3c	3e	3f	3g	3h	3i	3m	3 lapin	Co-infection ss-type 3	3 non ss-typé	Total
Nombre (%)	1 (0,3)	4 (1,1)	188 (53,8)	4 (1,1)	131 (37,5)	1 (0,3)	2 (0,6)	5 (1,1)	9 (4)	1 (0,3)	2 (0,6)	1* (0,3)	349

\* 1 souche de l'épidémie de Noumea indiquant une circulation résiduelle en 2024 en Nouvelle-Calédonie

A titre d'exemple au CHU de Toulouse, 59 personnes ayant une hépatite E aigüe ont été hospitalisées en 2024 (37 hommes/22 femmes, moyenne d'âge 53 ans). Parmi ces personnes, 43 avaient une cause d'immunodépression (21 transplantés d'organes, 17 patients d'héματο-oncologie et 5 patients traités pour une maladie rhumatologique ou un cancer) et 16 étaient immunocompétents. On note en 2024 des chiffres d'hospitalisation plus élevés que ceux observés au cours des années précédentes (31 en 2019, 41 en 2020, 31 en 2021 et 35 en 2022, 40 en 2023). Les génotypes VHE identifiés étaient 3c (57.6%), 3f (18%), 3i (1,7%), coinfection 3i-3c (1,7%) et 4 (5,1%).

### Surveillance nationale chez les donneurs de sang et d'organes (cas asymptomatiques)

#### Collaboration avec l'Établissement Français du Sang (EFS)

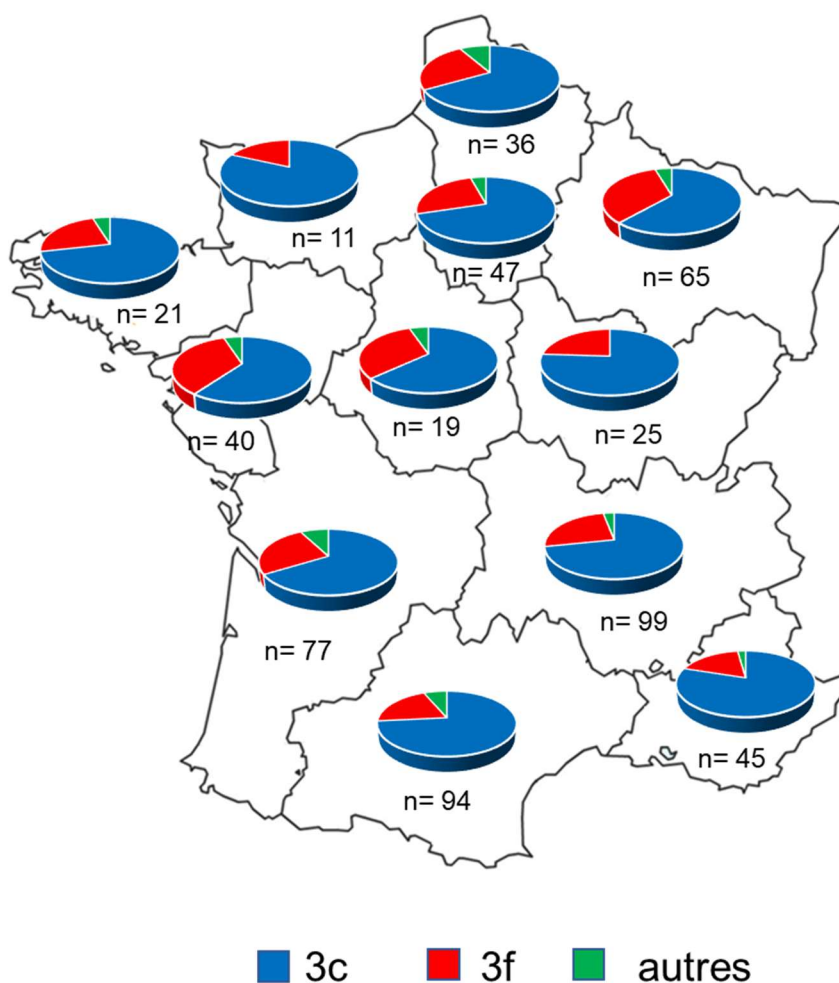
Dans le cadre du dépistage génomique systématique réalisé par l'EFS depuis le 20 mars 2023 (minipools de 6 pour 85% des dons et unitaire pour 15%), les échantillons positifs (n=2487) ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification, typage des souches et analyse du profil sérologique. En 2024, 2487 échantillons ont été identifiés. L'estimation de l'incidence était de 0,9/1000 sur la base d'un screening en minipool de 6 échantillons et de 1,6/1000 sur la base d'un screening unitaire. L'âge médian des donneurs virémiques était de 43 ans (IQR 29-55 ; min 18, max 77) avec une prédominance masculine (61%).

Les virémies des donneurs allaient de 1 à 12,5 millions UI/ml (moyenne = 33 500 UI/ml). La médiane était de 357 UI/ml (IQR : 55-3415 UI/ml). 582 échantillons ont été génotypés. Le génotype 3 a été identifié dans tous les cas sauf 1 (génotype 4b). La distribution des sous-types retrouvés chez les donneurs virémiques dont la charge virale était suffisante pour le séquençage indique une prédominance des sous-types 3c (70%) et 3f (26%).

Il est intéressant de noter qu'une prépondérance du sous-type 3f était observée 10 ans auparavant (Lhomme *Infect Genet Evolution* 2015 ; Lhomme *Emerg Infect Dis* 2015). Cette évolution de la distribution des sous-types identifiés chez l'homme est très probablement liée à l'évolution de la circulation des sous-types dans le réservoir animal porcin. Le CNR souhaite documenter ce point en collaboration avec l'ANSES.

Génotype HEV	Nombre d'échantillons	Pourcentage
<b>3</b>	2	0,3
<b>3a</b>	1	0,2
<b>3c</b>	405	70
<b>3e</b>	2	0,3
<b>3f</b>	149	26
<b>3i</b>	6	1
<b>3m</b>	10	2
<b>4b</b>	1	0,2
<b>Coinfection 3c/3f</b>	4	0,7
<b>Coinfection 3i/3c</b>	2	0,3
<b>Total</b>	582	100

Aucune différence significative de distribution des sous-types en fonction des régions n'a été observée.



L'analyse phylogénétique d'un fragment de 1039 nucléotides 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). Cette donnée nouvelle a été confirmée par l'analyse de la région hypervariable PPR (Poly-proline rich) et de génomes complets du VHE. A l'inverse, plusieurs clusters avec des souches identiques impliquant plusieurs régions ont été identifiés sur une même période de temps. Ces données doivent être rapprochées de celles obtenues par SPF sur 1281 répondants au questionnaire adressé par l'EFS au cours de la 1<sup>ère</sup> année de DGV confirmant que la consommation de charcuterie, d'abats et de fruits de mer sont des facteurs de risque très fréquemment retrouvés.

Les profils sérologiques étaient les suivants : IgM-/IgG- (68,6%), IgM+/IgG+ (23,3%), IgM+/IgG- (4,4%) et IgM-/IgG+ (3,6%).

#### **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 2024 (n=50) ont été adressés au laboratoire de virologie du CHU de Toulouse pour quantification, typage des souches et sérologie. Le screening des donneurs est réalisé en test unitaire (TMA-Griffols) depuis mi-2022.

En 2024, 21 281 dons ont été testés et 50 étaient positifs (2,3/1000). Ce chiffre est supérieur à celui de 2023 (35 positifs sur 19 938 tests soit 1,8/1000). L'âge médian des donneurs virémiques était de 28 ans (IQR 23-44 ; min 19, max 61) avec une prédominance masculine (88%).

Les virémies étaient quantifiables pour 35 échantillons (70%) et allaient de 1 à 383 600 UI/ml (moyenne 14 800 UI/ml). La médiane était de 64 UI/ml (IQR 8-15 700 UI/ml). La charge virale était suffisamment élevée pour permettre le génotypage de 6 échantillons (génotype 3 dans tous les cas).

Génotype	3c	3f	3i	Total
<b>Nombre en 2023 (%)</b>	2 (33)	3 (50)	1 (17)	6
<b>Nombre en 2024 (%)</b>	3 (50)	3 (50)	0 (0)	6

### Collaboration avec l'Agence de Biomédecine

La qualification des donneurs d'organes pour le VHE a été initiée en France le 1<sup>er</sup> janvier 2024. Un donneur ARN VHE positif avec une charge virale faible (80 UI/ml) a été identifié. A titre dérogatoire, les organes reins et cœur de ce donneur ont été greffés. Le suivi des deux receveurs n'a pas montré de transmission du VHE, ce qui était cohérent avec la faible dose infectieuse administrée.

### Synthèse

**La surveillance chez les donneurs de sang (EFS et CTSA) permet d'objectiver une incidence annuelle de l'infection à VHE allant de 0,9/1000 à 2,3/1000 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.**

## 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

**Au plan national :** Le CNR est plus rarement contacté directement par les ARS, celles-ci passent par Santé Publique France qui redescend ensuite l'information au CNR. Cette modalité ne rend pas les échanges fluides et peut retarder/compliquer l'investigation des cas groupés. En l'absence de contact direct, il n'y a pas de retour d'information, sauf épidémie majeure. A l'occasion d'une épidémie impliquant des huîtres contaminées, nous avons pu constater la multiplication des acteurs de la surveillance et les difficultés de communication.

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

La détection de dons de sang positifs pour le VHA par l'Etablissement Français de Sang (EFS) est confirmée par le CNR et le génotypage est réalisé. Toutefois, seulement 2 cas nous sont parvenus en 2024, alors que la circulation du VHA augmente.

**Au plan européen :** 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.

### • 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

Epidémiologie du VHA en Nouvelle Calédonie (article en révision dans Trans R Soc Trop Med Hyg). A l'occasion d'une surincidence de cas en 2018-21 dans ce territoire, l'origine des souches a pu être tracée au Vanuatu et montrée distincte de l'épidémie précédente de 2005-2006.

#### • 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.

##### Etude de la prévalence du VHE du rat (*Rocaepevirus rattii*) chez des patients avec cytolysse inexpliquée

La souche *Rocaepevirus rattii* n'est pas détectée par les PCR commerciales recherchant l'ARN VHE. Entre 2023 et 2024, nous avons testé 822 échantillons de patients présentant une cytolysse hépatique, pour lesquels une recherche de l'ARN VHE du genre *Paslahepevirus* était négative. La technique utilisée, développée par le CNR en 2021 (Parraud Front Med 2021), a montré une très bonne performance dans une évaluation comparative indépendante récemment publiée (Caballero-Gomez, J Hepatol 2025). Notre étude a inclus 375 immunocopétent et 447 immunodéprimés, aucun patient n'était positif pour l'ARN VHE du rat.

##### Enquêtes lors de suspicion de contamination transfusionnelle

- En 2024, le CNR a été sollicité pour réaliser 3 enquêtes avec suspicion de contamination transfusionnelle.

- 1 enquête transfusionnelle ascendante ayant impliqué 31 donneurs a été réalisée. Un patient hospitalisé au CHU de Grenoble a développé une hépatite E aigüe en Octobre 2024. L'ARN VHE a été détecté positif par PCR le 15/10/2024. Le patient avait été transfusé entre le 20 septembre et le 4 octobre et 10 épisodes transfusionnels ont été répertoriés. 17 concentrés de globules rouges (CGR), 1 mélange de concentré plaquettaire (MCP) et 6 plasmas ont été transfusés. Les 31 donneurs impliqués étaient :

- 6 donneurs correspondant aux 6 plasmas

- 19 donneurs correspondant à des donneurs screenés en DGV VHE réalisé en minipools de 6 et des donneurs avec DGV VHE unitaire inclus dans le MCP

- 6 donneurs screenés en DGV VHE unitaire

Ces 3 groupes de donneurs présentant un risque de transmission du VHE décroissant ont été testés en 3 étapes par le CNR. Pour tous les échantillons, la recherche de l'ARN du VHE par PCR a été négative. Une transmission transfusionnelle associée à un DGV VHE en minipools de 6 a pu ainsi être exclue.

- Pour les 2 autres enquêtes, 1 seul don était incriminé à chaque fois. Les 2 dons étaient négatifs.

**Aucun cas de transmission transfusionnelle du VHE n'a été identifié depuis l'instauration du DGV par l'EFS.**

## 4. Alertes

---

### • VHA

Le CNR et ses correspondants de Santé publique France (Dr J. Figoni) échangent en cas de phénomène anormal, généralement par mail. Plus rarement, le CNR est contacté par les ARS

**Signalements EpiPulse :** Le CNR a répondu à 6 notifications. Aucune n'a eu d'implications sur l'épidémiologie en France. Le CNR a également signalé sur epipulse les souches impliquées dans deux des cas groupés ci-dessous.

### Cas groupés

#### 1. Janvier-février : Normandie, cas intrafamiliaux à Caen

Analyse de 3 cas, 2 enfants de 3 et 4 ans et un adolescent, suite à un voyage en Egypte. Génotype IB

#### 2. Février-mars : Nouvelle Aquitaine, augmentation de cas à Limoges

Analyse de 5 cas (2 adultes 28 et 30 ans) et 3 enfants (5, 8 et 11 ans) non reliés (souches différentes), peu d'informations disponibles

#### 3. Mars-juin : Normandie, cas liés à la consommation d'huîtres en provenance du Calvados

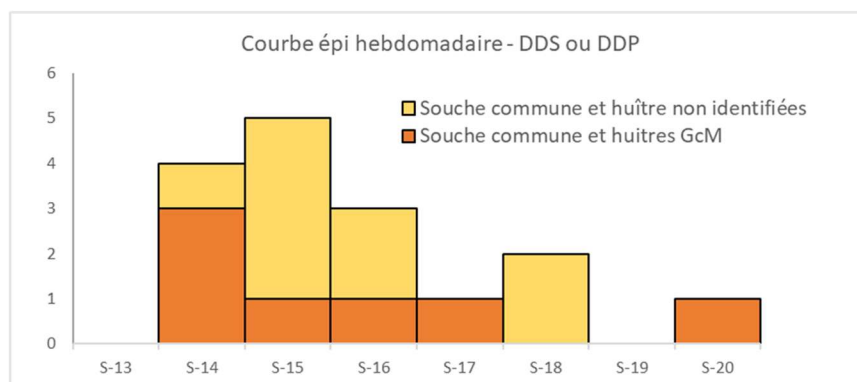
L'alerte est lancée le 9 avril, avec la réception d'une DO par l'ARS Normandie mentionnant la consommation d'huîtres et le 10 avril, la Mission Urgences Sanitaires de la DGAL (MUS/DGAL) est informée d'investigations autour de 2 cas en Pays de Loire/Centre Val de Loire et Normandie sans exposition à risque en dehors de la consommation d'huîtres pouvant provenir d'une même zone de conchyliculture du Calvados. Notamment, le cas Normand avait consommé le 25/02 des huîtres offertes pour sa participation au trail d'Isigny.

Dans les jours et semaines suivantes se tiennent des réunions pluridisciplinaires (DGS, ARS Normandie, Préfecture, DGAL, Ifremer, CNR VHA, SpFrance) : l'objectif était de sensibiliser des ARS sur les DO de VHA mentionnant la consommation d'huîtres pour envoi des échantillons au CNR et pour contacter la DDPP afin de réaliser une traçabilité des huîtres consommées.

Le CNR a identifié une souche de génotype IA, FR-HA9.13, chez les premiers cas. Suite à la recherche active de cas dans toute la France, cette souche était retrouvée prospectivement chez un total de 30 patients prélevés entre le 11 avril et le 28 août 2024. La recherche dans la base CNR a retrouvé 9 autres patients prélevés entre août 2019 et mars 2024, avec l'Algérie comme origine géographique probable de la souche.

Concernant la recherche de cas en lien avec l'épisode de contamination des huîtres produites en Normandie, la DDPP 14 a tracé les huîtres offertes dans le cadre du trail d'Isigny à la zone de production de Grandcamp-Maisy. Dès le 10 avril, la Direction Départementale des Territoires et de la Mer (DDTM) avait contacté le LNR (Ifremer) pour l'analyse d'échantillons d'huîtres qui s'avéraient contenir de l'ARN VHA (échantillons positifs le 10 et 22 avril 2024, négatifs ensuite). L'Ifremer a également détecté la présence du virus dans les eaux de la station d'épuration de Grandcamp Maisy, en entrée du 16 avril au 28 mai, et en sortie du 16 au 24 avril. Le CNR a pu typer ce virus et identifier la souche FR-HA9.13 dans ces eaux usées, en amont des parcs conchylicoles. Il est à noter que ni la DO ni le CNR n'ont pu identifier de cas d'hépatite A dans cette zone dans les 3 mois précédant l'épisode et que la contamination était probablement le fait de cas asymptomatiques.

**Au total, l'enquête épidémiologique a relié 20 cas dans toutes la France (entre semaine 14 et semaine 20), infectés par la souche FR-HA.13 et ayant déclaré la consommation d'huîtres, dont 15 ont nécessité une hospitalisation (adultes de 36 à 73 ans).**



Les mesures de gestion ont été tardives avec arrêt de commercialisation des huîtres de la zone et interdiction de la pêche à pied du 24 mai au 7 juin.

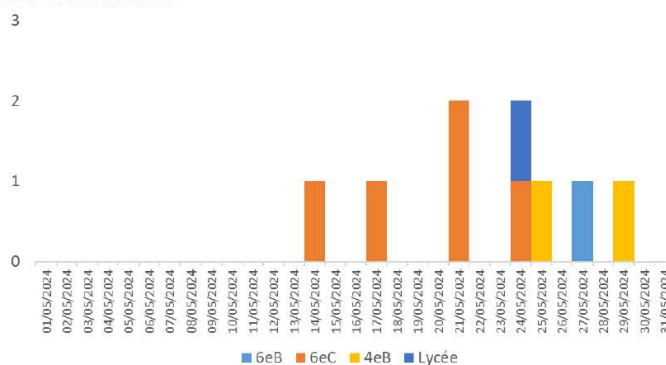
#### 4. Mars, Hauts de France, cas groupés intrafamiliaux à Lille

Analyse de 2 cas, de 8 et 14 ans, une même souche de génotype IA identifiée

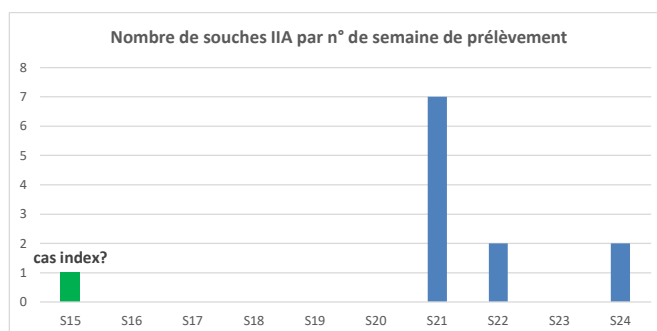
#### 5. Avril-juin : Normandie, cas groupés dans un collège du Havre

Suite au signalement le 23 mai, à la cellule de veille et sécurité sanitaire de l'ARS Normandie, de plusieurs cas chez enfants scolarisés au collège Montesquieu, une enquête épidémiologique a été menée et a retrouvé 9 cas confirmés (IgM VHA+), avec des dates de début des signes comprises entre le 14 et le 29 mai, compatibles avec une date d'exposition commune. Il s'agissait d'enfants âgés de 11 à 16 ans, dont 8 étaient scolarisés dans ce collège et 1 au lycée Jeanne d'Arc.

Figure 1. Répartition quotidienne des cas d'hépatite A confirmés au Havre entre le 1er mai et le 31 mai 2024, selon le lieu de scolarité



Le CNR a analysé les échantillons de ces 9 enfants (prélèvements en semaine 21 et 22) ainsi que ceux de deux cas secondaires (prélèvements en semaine 24). Une même souche de génotype IIA a été retrouvée. Après recherche de souches identiques dans la base, un enfant de 6 ans infecté par la même souche en avril au Havre a été identifié.



Le génotype IIA étant endémique au Cameroun, des investigations complémentaires ont été menées : le père de l'enfant avait voyagé au Cameroun et son frère était scolarisé dans le même établissement que les autres cas, en 6èmeC et faisait partie du groupe d'amis des autres cas.

L'hypothèse retenue est que le frère du cas de 6 ans, identifié par le CNR en avril, ait été contaminé en même temps. Il serait ainsi le cas index du cluster dans ce collège. Il ne sera pas possible de confirmer cette hypothèse par des prélèvements chez le frère, qui était asymptomatique et a été vacciné, en post-exposition, en même temps que sa famille en avril.

**6. Mai : Hauts de France, cas groupés intrafamiliaux à Dunkerque**

5 cas chez des enfants de 7 à 19 ans avec une même date de débuts des signes et une même souche de génotype IA, pas d'autres informations

**7. Septembre, Grand Est, cas groupés intrafamiliaux à Thionville**

3 cas chez des enfants de 11 et 17 ans et un jeune adulte de 21 ans, au retour d'un voyage au Maroc. Une même souche de génotype IA a été identifiée.

**8. Octobre, Bretagne, cas groupés intrafamiliaux à Rennes**

2 cas chez des enfants de 2 et 5 ans, au retour d'un voyage en Iran. Une même souche de génotype IIIA a été identifiée

**9. Septembre-Octobre, Nouvelle Aquitaine, cas intrafamiliaux à Marmande**

Un cas chez un enfant de 8 ans au retour d'un voyage au Maroc, suivi d'un cas secondaire chez un jeune adulte de 20 ans 4 semaines plus tard. Une même souche de génotype IA a été identifiée.

**10. Septembre, Grand Est, cas groupés autour d'un traiteur commun, Sarreguemines, Forbach**

8 cas symptomatiques ont été identifiés par l'ARS début octobre. Une exposition commune avec des prises de repas dans 2 événements différents (18/08 et 24/08) venant d'un même traiteur a été identifiée. Pour cet épisode, le CNR a reçu 3 prélèvements et retrouvé une même souche de génotype IA, d'origine marocaine probable.

Il n'y a pas eu de communication directe avec l'ARS et SPF a eu également du mal avoir les informations. Néanmoins, après investigation, la famille du traiteur avait voyagé au Maroc en juillet et 2 des 3 enfants de la fratrie ont fait une hépatite A au retour.

**11. Octobre, Bretagne, cas groupés intrafamiliaux**

2 cas chez des enfants de 7 et 10 ans, au retour d'un voyage au Tchad. Une même souche de génotype IB a été identifiée.

**• VHE**

- Les cas d'hépatite E ne font pas l'objet de déclaration obligatoire.
- 127 cas d'hépatite E symptomatiques ont été recensés en Nouvelle-Calédonie au deuxième semestre 2023 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 sérologiques conduites en 2024 chez les donneurs de sang ont permis d'estimer le nombre d'infections asymptomatiques à plus de 5000 soulignant l'ampleur de cette épidémie. Les études épidémiologiques et virologiques de l'épidémie menées avec la direction des Affaires Sanitaires et Sociales de Nouvelle-Calédonie ont identifié de la viande de porc importée d'Australie comme source potentielle de contamination. Cependant, l'absence de détection du virus dans les produits alimentaires testés n'a pas permis d'apporter une preuve formelle. La souche épidémique a été détectée chez un patient en 2024.
- 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 début d'année 2025, le CNR a alerté SPF de l'identification d'un donneur du Centre Val de Loire prélevé fin décembre porteur d'un génotype 4b (génotype très rare en Europe et potentiellement associé à des formes cliniques plus sévères que le génotype 3). Cette déclaration a été associée à celle de 5 autres cas d'hépatite E aigüe à HEV-4b répertoriés à Toulouse (3 cas) et à Marseille (2 cas) sur une période inférieure à 4 semaines. Une

analyse phylogénétique de ces 6 souches virales a montré l'identité ou une très grande proximité génétique indiquant une source commune. L'enquête réalisée par SPF auprès de ces 6 personnes n'a pas permis d'identifier cette source.

## 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).
- Un webinaire « One Health HEV » avec contribution du CNR organisé par le DIM One Health 2.0 est prévu le 02/10/2025.

**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.cnrva-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 donneurs (Pillonel Vox sanguinis 2023).

Jacques Izopet a participé en 2024 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.

<https://www.anses.fr/sites/default/files/Fiche-danger-biologique-virus-hepatite-E.pdf>

Anne-Marie Roque-Afonso a participé en 2024 à la refonte de la fiche hépatite A EFICATT (exposition fortuite à un agent infectieux et conduite à tenir en milieu de travail) pour l'INRS.

### 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**

- Analyse systématique des données 2013-2024 du PMSI disponibles sur le site de l'ATIH pour évaluer l'évolution dans le temps du nombre d'hospitalisations pour hépatite A et des facteurs associés à la sévérité et à la mortalité. Resoumission à Eurosurveillance en cours.

- **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 Internationales**

C Gourinat, L Dupont, N Bargeolle, A Pfannstiel, C Duval, V Portet-Sulla, L Mouna, A Cannet, AM Roque-Afonso. Vulnerability of French overseas territories: the 2018-2022 Hepatitis A outbreak in New Caledonia. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. En révision

**Communications orales nationales**

A Marcadet-Hauss, S Gellenoncourt, M Pellerin, AM Roque Afonso, N Pavio, V Doceul. Identification d'effecteurs de la réponse interféron humains et porcins exerçant une activité antivirale lors de l'infection par le HEV-3 in vitro. **JFV**, Lyon avril 2025

**Communications orales internationales**

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.

**Communications affichées nationales**

A. Chaghouri, I Padioleau, T Guinoiseau, E Poidras, A Bourillon, Catherine Gaudy-Graffin, AM Roque-Afonso. Comparison of Molecular Enrichment Methods for Whole-Genome Sequencing of Hepatitis A Virus in Outbreak Surveillance. **JFV**, Lyon avril 2025

**Communications affichées internationales**

A Chaghouri, C Coquisart, MP Soutière, E Marchadier, AM Roque-Afonso. IgG avidity analysis reveals patterns of Hepatitis E virus reinfection in viremic patients. **ESCV**, Frankfurt, Germany. Sept-2024

- **VHE**

**Publications nationales**

1. Lhomme S, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Izopet J. Virus de l'hépatite E. EMC Biologie Médicale 2024
2. Izopet J. Hépatite E : diagnostic, traitement et vaccin. Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur 2024 ; Volume 66 N° 251.

### Publications internationales

1. Marion O, Izopet J, Kamar N. Which Hepatitis E virus to worry about in our transplant patients. *Transplant Infectious Disease* 2024;26:e14285.
2. Paronetto O, Allioux C, Diméglio C, L. Lobjois, Jeanne N, Ranger N, Pucelle M, Demmou S, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Izopet J and Lhomme S. Characterization of the virus host recombinant variants of the hepatitis E virus. *Journal of Virology* 2024;98:e0029524.
3. Abanto J, Sanchez-Boluarte A, Castillo Y, Perez E, Saavedra H, Gonzales I, Bustos JA, Abravanel F, Izopet J, Madden RG, Garcia HH, Dalton HR, for the Cysticercosis Working Group in Peru. Increased prevalence of antibodies to hepatitis E virus in patients with neurocysticercosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2024;110:1210-1213.
4. 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. *Journal of Virological Methods* 2024;327:114920.
5. Marion O, Abravanel F, Conan L, Dubucs C, Danjoux M, Izopet J, Kamar N. Hepatitis E Virus Infection in a Pregnant Liver Transplant Recipient Leading to Chronic Infection. *Transplantation direct* 2024;10:e1634.
6. Abravanel F, Lhomme S. Hecolin vaccine: long-term efficacy against HEV for a three-dose regimen. *Lancet* 2024;403:782-783.
7. Abravanel F, Vignon C, Mercier A, Gaumery JB, Biron A, Filiseti C, Goujart MA, Colot J, Chamillard X, Demortier J, Raz M, Boutet C, Dupont L, Duval S, Castric C, Desoutter D, Desoutter A, Verge M, De Smet D, Demmou S, Lhomme S, Gourinat AC, Nicot F, Izopet J. Large-scale Hepatitis E Genotype 3 outbreak in New Caledonia Island. *Hepatology* 2025;81(4):1343-1352.
8. Kamar N, Marion O, Abravanel F, Esposito L, Del Bello A, Izopet J. Porcine-derived pancreatic enzyme replacement therapy: a cause of hepatitis E virus transmission? *Gut* 2025;74(2):331-332.

### Communications et conférences nationales sur invitation

1. Izopet J, Hépatite E : Actualités diagnostiques et épidémiologiques, 7ème Journées Francophones de Biologie Médicale, Troyes, 2024
2. Lhomme S, Hépatites virales D et E : diagnostic et intérêt de la quantification, Microbes, SFM, Lille, 2024
3. Lhomme S, Présentation du CNR du virus de l'hépatite E, 3<sup>ème</sup> Soirée de la Biologie, Toulouse, 2024
4. Izopet J, Où se cache le virus de l'hépatite E ? Université Populaire de Philosophie, Toulouse, 2024

### Communications et conférences internationales sur invitation

1. Abravanel F, Chair HEV symposium. European Association for the study of Liver Diseases (EASL), Milan, Italy, 2024
2. Izopet J, New diagnostic tools for a better understanding of HEV epidemiology, Bologne, 2024
3. Lhomme S, Hepatitis E virus infection in immunocompromised patients», 7<sup>th</sup> International congress of Viral infection in Immunocompromised Patients, Varèse, Italy, 2024
4. 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
5. Abravanel F, Large-Scale HEV genotype 3 outbreaks on New Caledonia Island, European Society of Clinical Virology (ESCV), Francfort, Germany, 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.

**Le CNR VHE-VHA est partenaire du projet national OBEPINE+ (ANR France 2030) qui a débuté en Mars 2025. Il est impliqué dans plusieurs Work-Package (WP3-9).**

## 8. Programme d'activité pour les années suivantes

### 8.1 Activités d'expertise

#### • VHA

##### a) Evaluation de tests de détection de l'Ag VHA

Peu de tests sont disponibles et leur performances et valeur ajoutée pour le diagnostic ou la caractérisation des formes cliniques ne sont pas connues

##### b) Relance des cultures de souches cliniques

La plupart des études utilisant des souches VHA pour des études de stabilité ou l'investigation des interactions entre le cycle viral et la biologie cellulaire font appel à des souches adaptées qui peuvent avoir des caractéristiques assez éloignées des souches cliniques. La culture des souches cliniques est lente et aléatoire mais permettra d'obtenir des stocks viraux de souches présentant un minimum de mutations par rapport aux souches primaires.

##### c) Valorisation de l'activité d'expertise diagnostique

Projet d'écriture d'un papier sur les 10 ans de cette activité correspondant à la réévaluation de la fréquence des IgM VHA positives en l'absence d'infection aiguë par le VHA (faux positifs ou activation polyclonale)

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

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

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

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

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

### c) **Activité de séquençage**

Le protocole de séquençage de 3<sup>ème</sup> 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<sup>ème</sup> génération (ONT) ou de 2<sup>ème</sup> 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:

- a. aux professionnels de santé : biologistes, médecins spécialistes et généralistes, épidémiologistes
- b. aux autorités de santé (Santé Publique France, ARS, autres agences, ministère en charge de la santé)
- c. 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<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> 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

Ces études seront valorisées par des publications en 2025

### • 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 conduit, 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 (Jebbloui 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 85% des dons (Cobas VHE, Cobas 8800, Roche Diagnostics) et en unitaire pour 15% 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 (L'homme 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 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

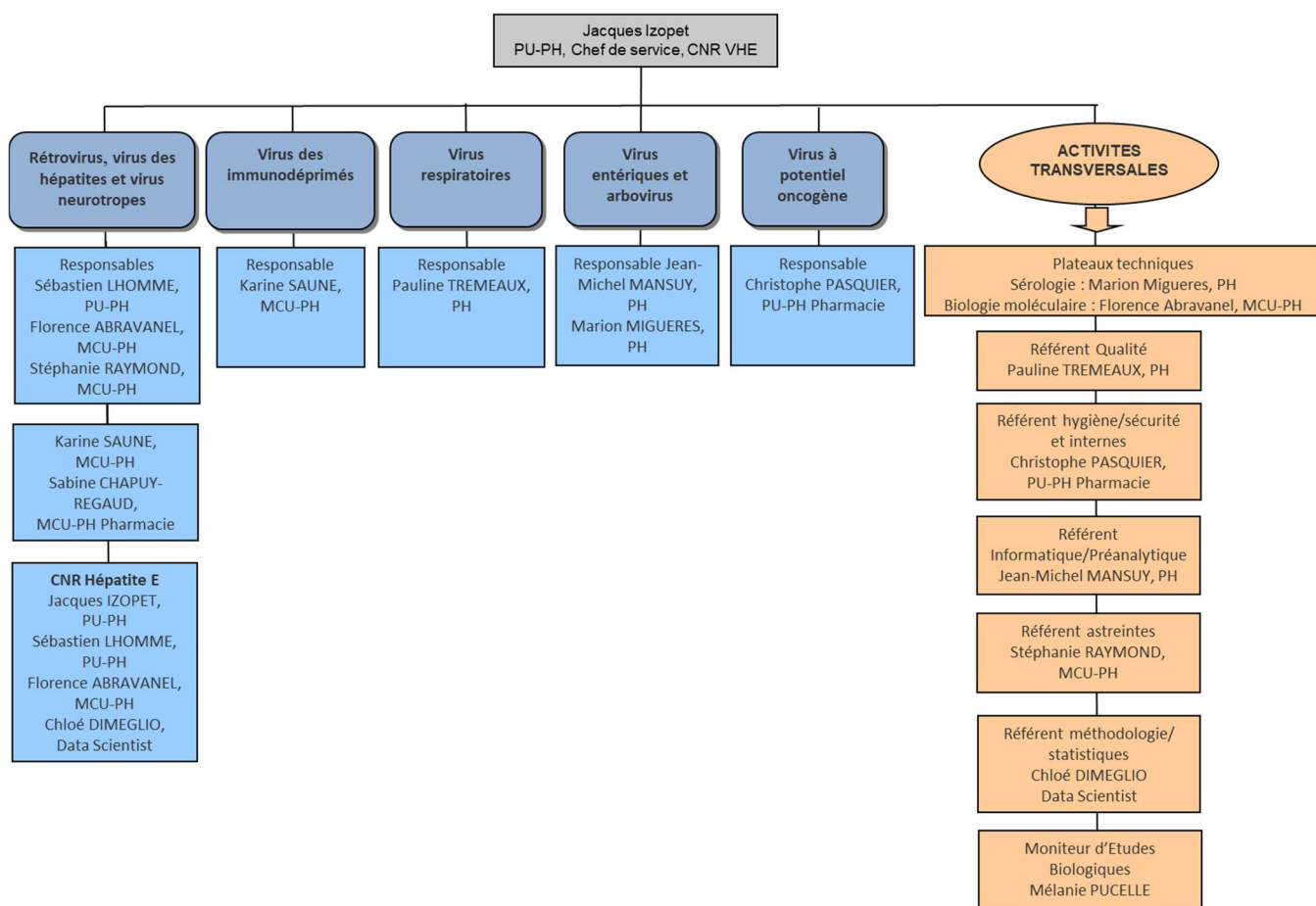
Nom	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Jacques Izopet	0.2	Biologiste, CS, Directeur du CNR coordonnateur	PU-PH	CHU Toulouse
Sébastien Lhomme	0.2	Biologiste	PU-PH	CHU Toulouse
Florence Abravanel	0.2	Biologiste	MCU-PH	CHU Toulouse
Chloé Dimeglio	1	Data Scientist		
Justine Latour	1	Ingénieur-bioinformaticien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

Mélanie Pucelle : 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**

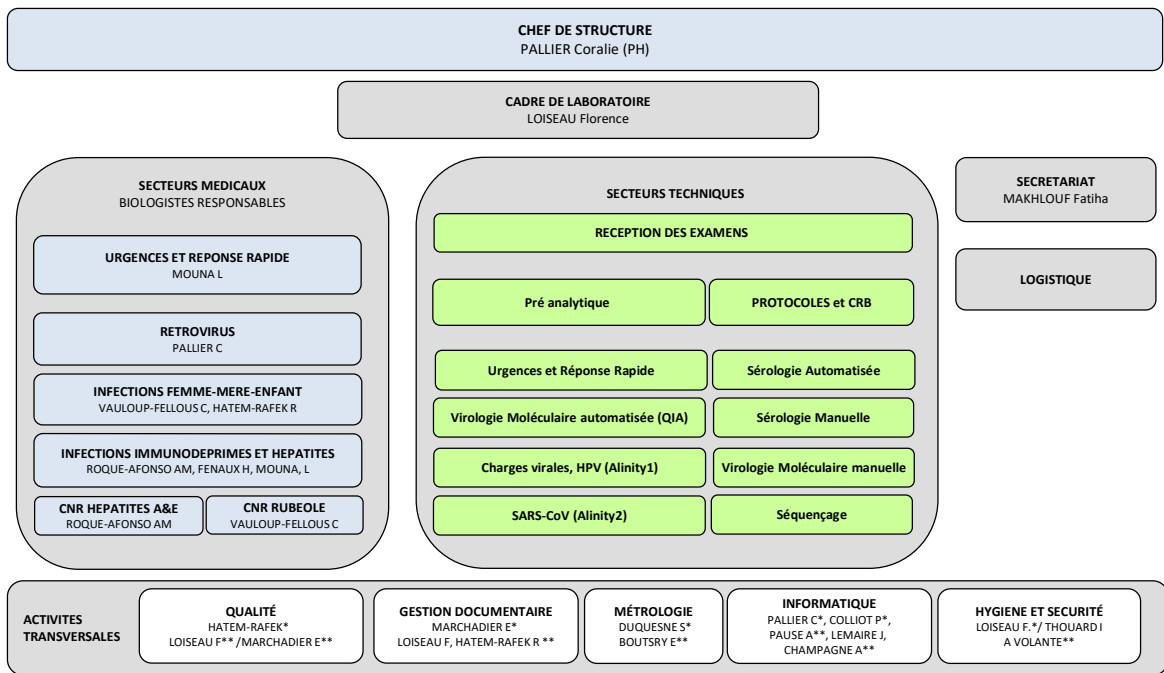
• **Ressources humaines** : Etat des emplois affectés au CNR

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	0.4	Médecin Biologiste, Directeur du CNR Associé	PU-PH	APHP
Honorine FENAU	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

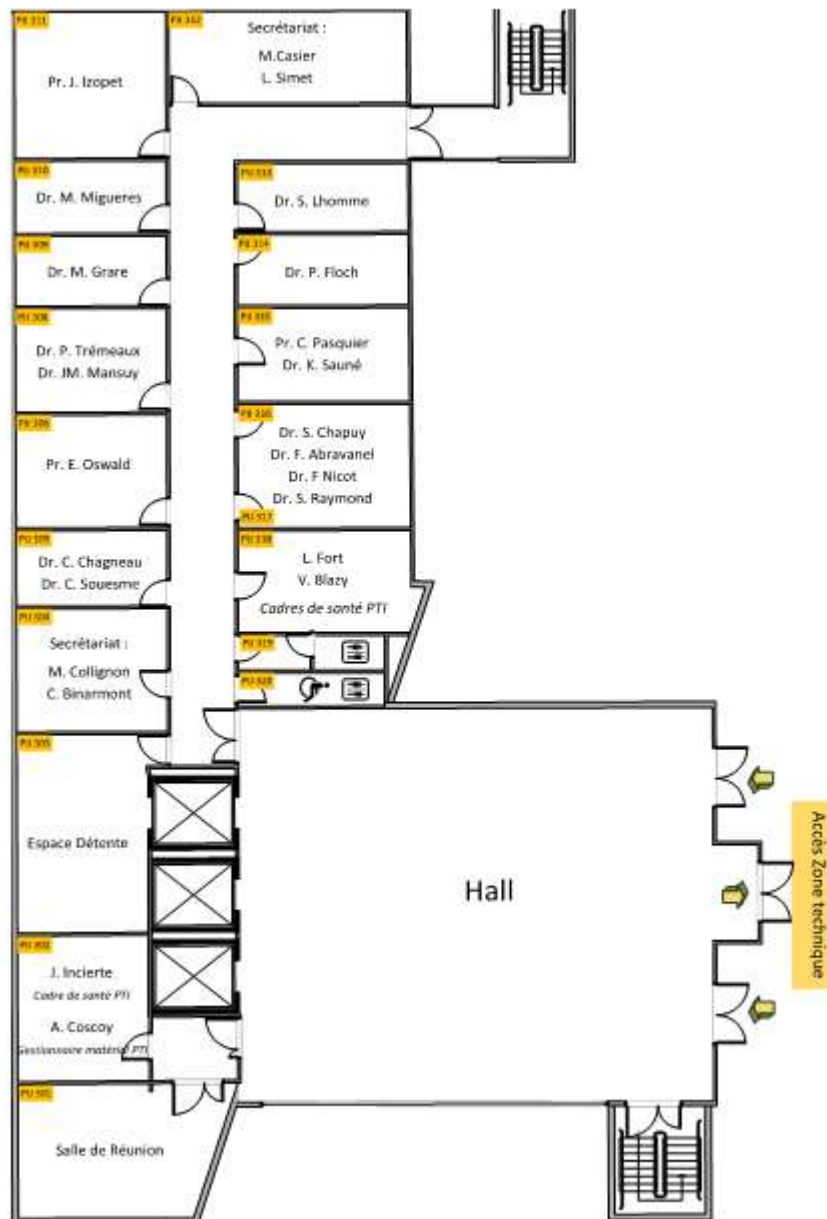
Le CNR hépatite E est intégré au laboratoire de virologie appartenant au plateau technique d'infectiologie à l'Institut Fédératif de Biologie (IFB), sur le site de Purpan du LBM du CHU de Toulouse.

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

Le laboratoire comporte des espaces tertiaires et 3 plateaux techniques :

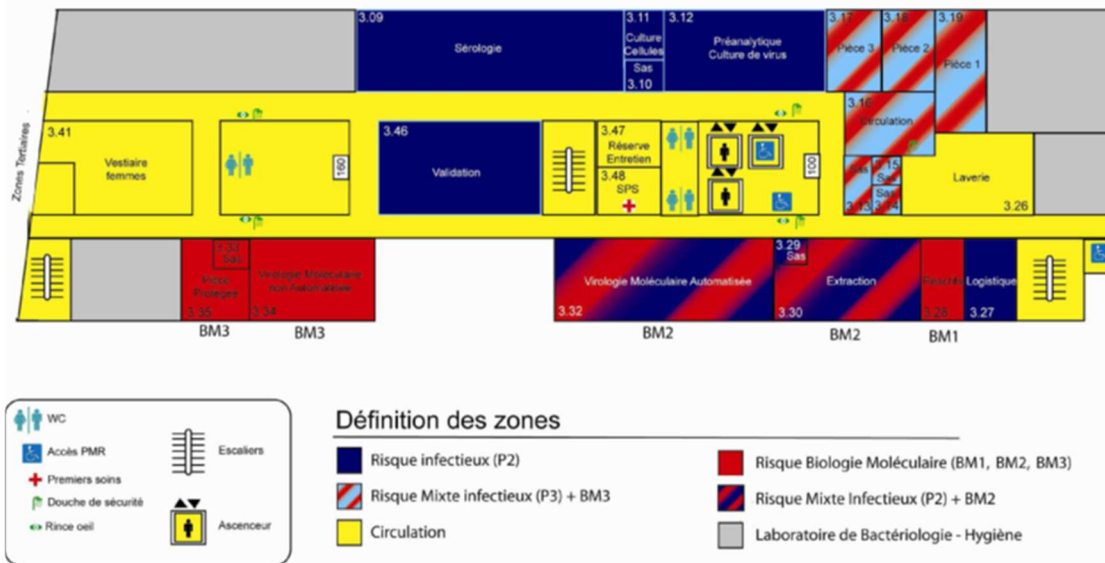
- sérologie
- virologie moléculaire
- culture de virus en laboratoires L2 et L3

## 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, Altostar AM16 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) , 4 Light Cycler 480 (Roche) ; 2 QuantStudio 5 (ThermoFisher) ; 7 CFX 96 (Biorad)
- Séquenceurs automatiques d'acides nucléiques : 1 séquenceur conventionnel, 3500 XL 24 capillaires (Applied Biosystems) et 1 séquenceur NGS 3<sup>ème</sup> génération Sequel IIe (Pacific Biosciences). Accès à des séquenceurs NGS 2<sup>ème</sup> génération Illumina (NextSeq et Novaseq, Life Technologies) et NGS 3<sup>ème</sup> 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



## 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. 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).

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](mailto: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.

## 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<sup>ème</sup> 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, Sottit et al, J Virol Methods, 2024)
- 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 HepG2. 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). Bionuméric permet le croisement rapide des données en cas d'alerte transfrontalière, par échange avec nos correspondants européens.

## 1.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

- Tests sérologiques commercialisés
- Tests moléculaires commercialisés