

RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2025

Année d'exercice 2024

CNR VIRUS DES HEPATITES B, C ET DELTA

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	AP-HP – Hôpital Henri Mondor	Stéphane Chevaliez
Laboratoire Associé	AP-HP – Hôpitaux Universitaires de Paris Seine-Saint Denis	Ségolène Brichler

TABLE DES MATIÈRES

RESUME ANALYTIQUE	4
FAITS MARQUANTS	4
EXECUTIVE SUMMARY	5
HIGHLIGHTS	5
1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR	6
ORGANIGRAMME	6
MISSION ET ORGANISATION.....	7
DEMARCHE QUALITE.....	7
2. ACTIVITÉS D'EXPERTISE	8
2.1 EVOLUTION DES TECHNIQUES	8
2.2 TRAVAUX D'ÉVALUATION DES TECHNIQUES, RÉACTIFS ET TROUSSES.....	8
TECHNIQUES TRANSFÉRÉES VERS D'AUTRES LABORATOIRES	12
2.3 COLLECTIONS DE MATÉRIEL BIOLOGIQUE.....	12
2.4 ACTIVITÉS D'EXPERTISES.....	13
2.5 ACTIVITÉS DE SÉQUENÇAGE.....	15
2.6 PARTAGE DE SÉQUENCES PRODUITES PAR LES CNR.....	18
3. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE	19
3.1 DESCRIPTION DU RÉSEAU DE PARTENAIRES	19
3.2 SURVEILLANCE DE L'ÉVOLUTION ET DES CARACTÉRISTIQUES DES INFECTIONS.....	20
3.3 SURVEILLANCE DE LA RÉSISTANCE DES AGENTS PATHOGÈNES AUX ANTI-INFECTIEUX	31
3.4 INTERFACES AVEC LES RÉSEAUX DE SURVEILLANCE NATIONAUX OU INTERNATIONAUX	33
3.5 ENQUÊTES OU ÉTUDES PONCTUELLES CONCOURANT À LA SURVEILLANCE	33
4. ALERTES	35
5. ACTIVITÉS DE MISE À DISPOSITION DE L'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	38
5.1 CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTÉ.....	38
5.2 CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITÉS SANITAIRES.....	38
5.3 CONSEIL ET EXPERTISE POUR D'AUTRES CIBLES (MÉDIAS, GRAND PUBLIC ...)	39
6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS	40
6.1 ACTIVITÉS DE RECHERCHE EN COURS 2024, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITÉS DU CNR	40
6.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS 2024, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITÉS DU CNR	48
7. COOPÉRATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTÉ ANIMALE, DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS, ENVIRONNEMENTAUX	51
8. PROGRAMME D'ACTIVITÉ POUR LES ANNÉES SUIVANTES	52
1. ANNEXE 1 : MISSIONS & ORGANISATION DU CNR	58
1.1 MISSIONS DU CNR ET DE SES ÉVENTUELS LABORATOIRES ASSOCIÉS	58
1.2 ORGANISATION DU CNR ET DE SES ÉVENTUELS LABORATOIRES ASSOCIÉS	59
1.3 LOCAUX ET ÉQUIPEMENTS	60
1.4 COLLECTIONS DE MATÉRIEL BIOLOGIQUE.....	65
1.5 DÉMARCHE QUALITÉ DU LABORATOIRE	65
2. ANNEXE 2 : CAPACITÉS TECHNIQUES DU CNR.....	66

2.1	LISTE DES TECHNIQUES DE RÉFÉRENCE	66
2.2	LISTE DES TECHNIQUES RECOMMANDÉES PAR LE CNR	67
3.	ANNEXE 3	68
4.	ANNEXE 4.....	69
5.	ANNEXE 5 : AUTRES INFORMATIONS	70
5.1	PERMANENCE DU CNR	70
5.2	AUTORISATIONS MOT	70
5.3	AUTORISATIONS D'EXERCER LA BIOLOGIE MÉDICALE	71
5.4	RÉSULTATS DE RECHERCHES NON ENCORE PUBLIÉS OU SOUS EMBARGO.....	71
5.5	DIFFICULTÉS RENCONTRÉES PAR LE CNR AU COURS DE L'ANNÉE 2024, Y COMPRIS EN TERMES DE MISE À DISPOSITION DE LA SUBVENTION VERSÉE PAR SANTÉ PUBLIQUE FRANCE.....	71
5.6	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	71
5.7	AUTRES REMARQUES À DESTINATION DU COMITÉ DES CNR	71
6.	ANNEXE 6 : RECENSEMENT DES COLLECTIONS DE MATÉRIELS BIOLOGIQUES.....	72

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Le **Centre National de Référence (CNR) Virus d'Hépatites B, C et delta** est localisé au sein du laboratoire de virologie de l'hôpital Henri Mondor à Créteil (Val-de-Marne). Sa direction est assurée depuis le 1^{er} janvier 2023 par le Professeur Stéphane Chevaliez. Le CNR comprend également un laboratoire associé, le laboratoire de microbiologie clinique des hôpitaux universitaires Paris Seine-Saint Denis, localisé à l'hôpital Avicenne à Bobigny (Seine-Saint Denis), dirigé par la Docteure Ségolène Brichler, pour les aspects concernant le virus de l'hépatite delta.

Le CNR Virus d'Hépatites B, C et delta a pour missions d'assurer l'expertise biologique et de contribuer à la surveillance des infections par les virus d'hépatites B, C et delta et de leur résistance aux antiviraux. L'ensemble de ces activités permet d'assurer un conseil technique d'expert et, en cas de phénomènes épidémiologiques inhabituels d'alerter la Direction Générale de la Santé et Santé publique France (arrêté du 29 novembre 2004, publié au JORF n°281 du 3 décembre 2004, page 20584, texte n°4).

L'année 2024 a été une année de développement de nouvelles techniques en alternative au prélèvement veineux (tests de diagnostic rapides, micro-prélèvements volumétriques, spots de sang séché, POCT moléculaires, ...) pour le dépistage, le diagnostic et le suivi des hépatites virales chroniques, en particulier pour le virus delta. L'évaluation des trousses de réactifs s'est poursuivie comme en témoignent les publications sur le sujet. Un contrôle de qualité national pour la détection et la quantification de l'ARN du VHD a été mis en place auprès d'un grand nombre de laboratoires. La surveillance des infections par les virus B, C et delta avec la mise en place de réseaux de surveillance dans des populations fréquentant les structures médico-sociales d'addictologie, chez les patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite chronique B dans les Centres Experts en Hépatologie (FPRH) et les Services d'Hépatologie des Hôpitaux Généraux (ANGH), ainsi que la surveillance de la résistance du VHB et du VHC aux antiviraux directs se sont amplifiées. La cartographie des géotypes et sous-types du VHC impliquant un réseau de laboratoire de virologie a été initiée. La surveillance de la circulation des souches de virus delta s'est également poursuivie et amplifiée en France, mais également dans de nombreux pays d'Afrique. La surveillance épidémiologique et virologique des donneurs de sang a continué.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

French National Reference Center (NRC) for hepatitis B, C and delta viruses is located at the Henri Mondor University hospital in Créteil (Université Paris-Est Créteil). NRC consists in two medical laboratories including an additional associated laboratory, the NRC's "delta hepatitis", which is located in the virology unit of the clinical microbiology of the Paris Seine-Saint-Denis University hospitals.

Missions of the French National Reference Centers are described in the Official Journal of the Republic of France (JO n°141 of June 8, 2016, text 10 of 118). Missions are based on 4 main principles: expertise, advice, epidemiological surveillance and alerts.

During 2024, establishment and development of new technologies occurred such as rapid diagnostic tests (RDT), molecular point-of-care tests (POCT) and dried blood spot (DBS) sampling for whole blood collection. These alternatives are potentially interesting alternatives to venous whole blood for large-scale screening, diagnosis and monitoring viral hepatitis B, C and delta infections. New kits and platforms are being evaluated, and their analytical and clinical performance were published in peer-review journals. Another important aspect was the development of molecular quality controls for delta hepatitis with the involvement of a large number of clinical laboratories including public and private labs. Surveillance of hepatitis B, C and delta infections in different populations such as people who attend in drug and alcohol treatment services or patients newly treated for viral hepatitis in Hepatology expert Centers or Hepatology units, and surveillance of resistance of viral hepatitis to direct antivirals have been conducted. Distribution of hepatitis C types and subtypes involving a network of virology laboratories has been initiated. Surveillance of delta hepatitis strains circulating in France as well as in African and Asian countries have been also conducted. Finally, surveillance of viral hepatitis in blood donors has been persuaded.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme

Le Centre National de Référence Virus d'Hépatites B, C et delta est constitué d'un laboratoire coordonnateur (Département Prévention, Diagnostic, Traitement des infections – Hôpitaux Universitaires Henri Mondor – Créteil – Responsable : Professeur Stéphane Chevaliez) et d'un laboratoire associé (Laboratoire de Microbiologie Clinique – Hôpitaux Universitaires Paris Seine-Saint-Denis – Responsable : Docteure Ségolène Brichler) (**Figure 1**).

Depuis l'année précédente, les évolutions suivantes ont eu lieu :

- . Mme Meriem Harrabi a été recrutée en tant que Chef de Projet pour la mise en place et la coordination des études épidémiologiques des infections par le VHB ou le VHC
- . Mme Jeanne-Marie Le Glaunec a été recrutée en mai 2024
- . Le Docteur Odon Thiébault de la Crouée a été recruté en tant qu'Ingénieur de Recherches en mai 2024
- . Les deux laboratoires ont recruté sur un contrat d'apprentissage en alternance M François Navaratnam au sein du laboratoire coordonnateur et Mme Sezen Zheng au sein du laboratoire associé
- . Au niveau du CNR associé, le Professeur Etienne Carbonnelle a quitté le service au mois de septembre 2023, remplacé par la Professeure Brigitte Lamy, nommée au 1^{er} septembre 2024.
- . Le Docteur Chakib Alloui est parti à la retraite en juin 2024.

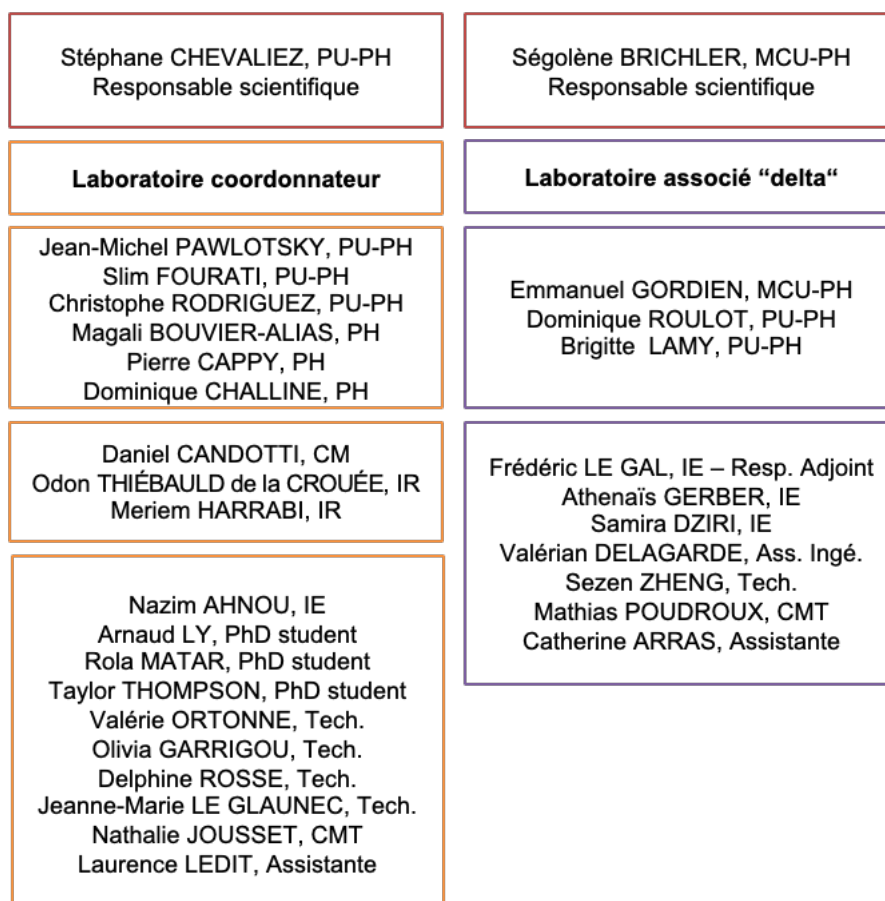


Figure 1 : Organigramme du CNR Virus des Hépatites B, C et delta

Mission et Organisation

Aucun changement dans l'organisation des laboratoires, coordonnateur et associé, n'est intervenu au cours de l'année 2024.

Démarche Qualité

Au niveau des Hôpitaux Universitaires Henri Mondor, la dernière visite du COFRAC Norme ISO 15189 a eu lieu la semaine du 23 mars 2023, semaine pendant laquelle l'ensemble de la sérologie infectieuse a été audité. Aucun écart, critique ou non critique, n'a été relevé (Cf. Attestation d'Accréditation N°8-3372 rev.13).

Au niveau des Hôpitaux Universitaires Paris Seine-Saint-Denis, la visite du COFRAC de levée de suspension d'accréditation du LBM a eu lieu la semaine du 6 janvier 2025, et a porté à la fois sur les lignes de sérologie infectieuse et de biologie moléculaire. Aucun écart, critique ou non critique, n'a été noté sur ces deux secteurs par l'auditeur technique.

2. Activités d'expertise

L'activité d'expertise a essentiellement consisté en (i) le développement, la standardisation et l'évaluation analytique et clinique des tests pour la détection et la quantification des génomes viraux ; (ii) le typage moléculaire des souches de VHB et du VHD ; (iii) la mise au point de la détection des marqueurs virologiques du VHD à partir de spot de sang séché sur papier buvard.

2.1 Evolution des techniques

Il n'y pas eu de modifications majeures des techniques au cours de l'année 2024. La trousse de réactif pour la quantification de l'ARN du VHD (EurobioPlex HDV RT-PCR EBX-071) recommandée par le laboratoire associé delta est désormais disponible au laboratoire de virologie de l'hôpital Henri Mondor afin d'optimiser la prise en charge des patients infectés par l'hépatite delta.

La technologie Oxford Nanopore Technologies (GridION) pour le séquençage des génomes complets du VHB, du VHC et VHD est en cours de développement. En effet, cette technologie permet le séquençage de molécules d'ADN ou d'ARN de plusieurs mégabases. Des amplicons de tailles différentes à partir des génomes du VHB ou du VHC ont été générés. Une banque par ligation des codes-barres puis des adaptateurs aux amplicons a été réalisée au moyen de la trousse Ligation sequencing amplicons - Native Barcoding kit 24 v14 (Oxford Nanopore Technologies, ONT). Le séquençage a permis l'obtention de plusieurs dizaines de milliers de "reads".

La trousse de quantification de l'ARN du VHD (EurobioPlex HDV RT-PCR EBX-071) est désormais utilisée au laboratoire associé, ainsi que 9 autres laboratoires français permettant ainsi une meilleure harmonisation des résultats de charges virales delta (Cf. "Activité d'expertise").

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le développement, la standardisation et l'évaluation des performances analytiques et cliniques et des indications des tests et des nouvelles technologies virologiques à visée diagnostiques et de suivi thérapeutique des hépatites virales chroniques ont donné lieu à des études (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Trousses et plateformes évaluées en 2024

Trousse/platforme	Application(s)	Fabricant
cobas® 5800 System	Quantification de l'ADN VHB et l'ARN VHC à partir de plasma/sérum	Roche Diagnostics
ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay	Détermination du génotype du VHB et des profils de résistance aux analogues nucléos(t)idiques	Vela Diagnostics GmbH
Test rapide ESPLINE™	Détection du marqueur composite AgHBcr	Fujirebio Inc
Elecsys Anti-HDV assay sur cobas e601	Détection des anticorps delta à partir de plasma/sérum	Roche Diagnostics

Performances de la plateforme cobas® 5800 System pour la quantification de l'ADN VHB et l'ARN VHC à partir de plasma/sérum. Les infections par les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C constituent un problème de santé mondial sous-diagnostiqué. La mesure des niveaux d'ADN du VHB ou d'ARN du VHC à l'aide de trousse moléculaires est recommandée par les sociétés savantes afin de poser un diagnostic, guider la décision de traitement et évaluer les réponses aux traitements antiviraux. Les performances du système cobas® 5800 (Roche Molecular Systems, Pleasanton, États-Unis) pour la quantification des acides nucléiques du VHB et VHC à partir

d'une large série d'échantillons collectés chez des porteurs chroniques de l'AgHBs ou du VHC ont été évaluées. La spécificité des tests cobas® VHB et VHC sur le système 5800 était élevée (respectivement, 99,1% et 100%). La linéarité évaluée à partir de panels AcroMetrix était excellente ($r=0,99$). Les coefficients de variation (répétabilité et fidélité intermédiaire) étaient inférieurs à 5%. Parmi les 334 échantillons cliniques testés en parallèle avec les systèmes cobas 5800 et 4800 pour le VHB et les systèmes m2000 RealTime ou Alinity m pour le VHC, seuls 12 échantillons (3,6%) ont donné des résultats discordants, qui se situaient généralement à la limite de quantification des tests cobas. La corrélation des valeurs de charges virales était extrêmement élevée, et seuls de faibles biais ont été observés sur l'ensemble de l'intervalle testé, sans impact clinique chez des patients éligibles à un traitement antiviral. Cette étude comparative a démontré l'équivalence des performances du cobas 5800 System par rapport à d'autres plateformes de biologie moléculaire largement utilisées en pratique clinique pour la quantification de l'ADN du VHB ou de l'ARN du VHC. Le système cobas 5800 peut être utilisé en toute confiance en pratique clinique. Des charges virales proches de la limite de quantification des tests peuvent ne pas être détectées. Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ce résultat (Vo-Quang et al., Diagn Microbiol Infect Dis 2025).

Performances de la trousse ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay pour la détermination des profils de résistance aux analogues nucléos(t)idiques et du génotype viral. Le traitement de l'infection chronique par le VHB nécessite l'administration, généralement à vie, d'analogues nucléos(t)idiques ayant une barrière élevée à la résistance et une puissance antivirale importante. La principale limite du traitement au long cours est l'émergence de souches portant une ou plusieurs substitutions amino acidiques (RAS) responsables d'une diminution de sensibilité aux antiviraux. Les sociétés savantes recommandent que la détermination des profils de résistance soit effectuée dans des laboratoires de référence. Les performances de la trousse de séquençage haut débit ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay (Vela Diagnostics GmbH, Hambourg, Allemagne), ont été évaluées. Au total 67 échantillons prélevés chez des porteurs chroniques de l'AgHBs ont été séquencés par 2 méthodes : séquençage direct Sanger d'une portion du gène chevauchant P/S et séquençage haut débit à l'aide de la trousse ViroKey SQ FLEX Genotyping Assay. Le **Tableau 2** résume les caractéristiques des 67 patients inclus dans cette étude rétrospective. Tous les échantillons, sauf 3, ont été génotypés avec succès à l'aide des deux méthodes. Le niveau de l'ADN du VHB pour les 3 échantillons non génotypés par le test basé sur le séquençage haut débit était inférieur à celui recommandé par le fournisseur (<1000 UI/mL), ce qui pourrait expliquer l'absence d'amplification. La proportion des génotypes correctement identifiée par la trousse ViroKey SQ FLEX Genotyping Assay était la suivante : 44,8% de génotype E, 16,4% de génotype D, 16,4% de génotype A, 10,4% de génotype C, 6% de génotype B, 4,5% de génotype G et 1,5% de génotype F (**Tableau 2**). La concordance avec la méthode de référence (analyse phylogénique d'une portion du gène P/S) était de 100%. Parmi les 28 patients naïfs de traitement, aucun n'avait de RAS détectable, et ce quelle que soit la méthode de séquençage. Trois patients (10,7%) avaient des mutations de "fitness" en position 78 (S78T) et 163 (I163V). Certaines mutations étaient uniquement détectées par la trousse ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay. Dans tous les cas, les mutations étaient présentes à des niveaux faibles, respectivement 3,5% et 4,7% de la quasi-espèce virale. Parmi les 36 patients traités par analogues nucléos(t)idiques, 18 (50%) avaient une ou plusieurs RAS détectables généralement associées à des mutations de "fitness", tandis que 14 (38,9%) patients n'avaient aucune substitution détectable, et ce quelle que soit la méthode de séquençage. Un patient (2,8%) avait des mutations de fitness (position 163) non associées à des RAS. Trois patients (8,3%) avaient de multiples RAS ou des mutations de fitness uniquement détectées par le test basé sur le séquençage haut débit. Dans tous les cas, les mutations étaient présentes à des niveaux faibles à modérés, représentant 5,0% à 32,2% de la quasi-espèce virale. Le test ViroKey SQ FLEX Genotyping Assay permettait d'obtenir un taux élevé de concordance avec la technique Sanger. La technique de séquençage haut débit était plus sensible pour détecter les variants minoritaires. La trousse ViroKey SQ FLEX Genotyping Assay peut être utilisée en toute confiance en pratique clinique pour le génotypage du VHB et la détermination des profils de résistance (Ortonne et al., J Antimicrob Chemother 2025).

Tableau 2 : Caractéristiques des patients inclus (n=67)

Age médian (années [IQR])	52 [42-61]
Sexe masculin [n (%)]	47 (70,1)
Pays de naissance [n (%)]	
France	10 (16,4)
Europe (hors France)	1 (1,6)
Afrique du Nord	4 (6,6)
Asie	9 (14,8)
Afrique sub-Saharienne	36 (59,0)
Amérique du Nord	1 (1,6)
Coinfections [n (%)]	

VIH	9 (18,75)
VHC	2 (4,2)
VHD	1 (2,1)
AgHBe-négatif [n (%)]	39 (58,2)
ADN VHB (log₁₀ UI/mL) (médiane [IQR])	3,8 [3,2-5,5]
Titre de l'AgHBs (log₁₀ UI/mL) (médiane [IQR])	3,4 [2,6-4,2]
Génotype viral [n (%)]	
Génotype A	11 (16,4)
Génotype B	4 (6,0)
Génotype C	7 (10,4)
Génotype D	11 (16,4)
Génotype E	30 (44,8)
Génotype F	1 (1,5)
Génotype G	3 (4,5)
Score de fibrose [n (%)]	
F0-F1	23 (60,5)
F2	5 (13,2)
F3	2 (5,3)
F4	8 (21,0)
ALAT (U/L) (médiane [IQR])	28 (20-57)
ALAT >40 [n (%)]	17 (35,4)
Traitement antiviral [n (%)]	
LAM	1 (2,7)
LAM + ADV	1 (2,7)
ETV	20 (54,1)
TDF	6 (16,2)
TDF/FTC	6 (16,2)
TDF + ETV	3 (8,1)
Absence de traitement antiviral	30

IQR, interquartile range ; ALAT, alanine aminotransférase ; LAM, lamivudine ; ADV, adéfovir dipivoxil ; ETV, entécavir ; TDF, ténofovir disoproxil fumarate ; FTC, emtricitabine

Performances du test rapide ESPLINE™ pour la détection du marqueur composite AgHBcr (antigène lié au core du VHB). A côté des marqueurs classiques (AgHBs, AgHBe et ADN VHB), la détection voire la quantification de l'AgHBcr pourrait avoir un intérêt dans l'histoire naturelle de l'hépatite B (classification des patients dans les différents stades du portage chronique de l'AgHBs, arrêt des traitements par analogues, éligibilité au traitement) et la prévention de la transmission mère-enfant (PTME) du VHB pour les populations n'ayant pas un "accès facile" aux tests moléculaires de détection et de quantification de l'ADN du VHB. L'AgHBcr est un marqueur composite qui peut être facilement détecté et quantifié à l'aide de trousses sérologiques basées sur le principe de la chimiluminescence. Ainsi, 3 protéines partageant une séquence amino acide commune sont ciblées par des anticorps : AgHBe, antigène de capsid du VHB (AgHBc) et une protéine précore de 22 kda (p22cr). Le laboratoire Fujirebio Inc a développé un test de diagnostic rapide (Espline™) permettant la détection de l'AgHBcr en 30-40 minutes. Au total, 353 échantillons cliniques (sérum et plasma) collectés chez des individus positifs pour l'AgHBs et l'AgHBe (n=116) ou négatif pour le VHB (i.e., séronégatifs pour l'AgHBs et les anticorps totaux HBc ; n=237) ont été sélectionnés entre janvier 2017 et avril 2024. Les variables démographiques et virologiques en fonction du statut de l'AgHBs sont présentées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Caractéristiques des patients inclus (n=353)

	AgHBs-positif (n=116)	AgHBs-négatif (n=237)
Age médian (années [IQR])	32 [25-48]	44 [31-59]
Sexe masculin [n (%)]	79 (66,4)	92 (39)
AgHBe-positif [n (%)]	116 (100)	0 (0)
ADN VHB (log₁₀ UI/mL) (médiane [IQR])	7 [3,5-8,2]	
Génotype viral [n (%)]		
Génotype A	16 (21,9)	
Génotype B	7 (9,6)	

Génotype C	13 (17,8)	
Génotype D	11 (15,1)	
Génotype E	24 (32,9)	
Génotype F	1 (1,4)	
Génotype G	1 (1,4)	

Les performances du test rapide Espline étaient très satisfaisantes. La sensibilité et la spécificité étaient de 100% (intervalle de confiance à 95% [IC95%] : 96,8-100% et 98,4-100%), lorsque la trousse LIAISON® HBeAg (DiaSorin, Saluggia, Italie) était utilisée pour la détermination du statut HBe. En revanche, les performances étaient substantiellement moins bonnes si l'on utilisait la trousse immunoenzymatique HBe Ag&Ab DIA.PRO (Diagnostic Bioprobes, Milan, Italie) pour la détermination du statut HBe (sensibilité et spécificité, respectivement de 99% et 97%). Cette étude souligne l'importance de la méthode de référence pour évaluer les performances analytiques d'un nouveau test.

Performances de la trousse Elecsys Anti-HDV assay sur la plateforme cobas e601. L'évaluation de 2 trousse prototypes de la gamme Elecsys a été réalisée en partenariat avec le laboratoire de Biochimie de l'hôpital d'Avicenne, équipé d'un cobas e601 (Roche Diagnostic). Un total de 101 échantillons de sérum/plasma, testés en routine avec la trousse LIAISON XL murex XL Anti-HDV (DiaSorin), ont été analysés. Il s'agissait de 90 échantillons positifs pour les anticorps VHD (ratio entre 5 et 20 UA/mL) et de 11 échantillons négatifs. Parmi les échantillons Ac-VHD+, 45 étaient ARN-positif et 44 étaient ARN-négatif (patients guéris ou sous traitement antiviral). Le génotype VHD était connu pour 84 des échantillons Ac-VHD+ : 35 HDV-1, 3 HDV-2, 2 HDV-3, 6 HDV-4, 15 HDV-5, 8 HDV-6, 9 HDV-7, 6 HDV-8. Après calibration et validation des contrôles, tous les échantillons ont été analysés avec les 2 trousse prototypes. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Résultats de détection des anticorps VHD à l'aide des trousse prototypes Elecsys (Roche) et LAISON XL murex Anti-VHD (DiaSorin)

		Prototype Elecsys 1				Prototype Elecsys 2	
		POS	NEG			POS	NEG
Liaison XL	POS	86	3	Liaison XL	POS	86	3
	NEG	0	11		NEG	0	11

Aucune différence de performance de détection des anticorps entre les échantillons des patients infectés par des souches de génotypes différents était observée (**Figure 2**), confirmant que ces 2 trousse prototypes étaient pangénotypiques.

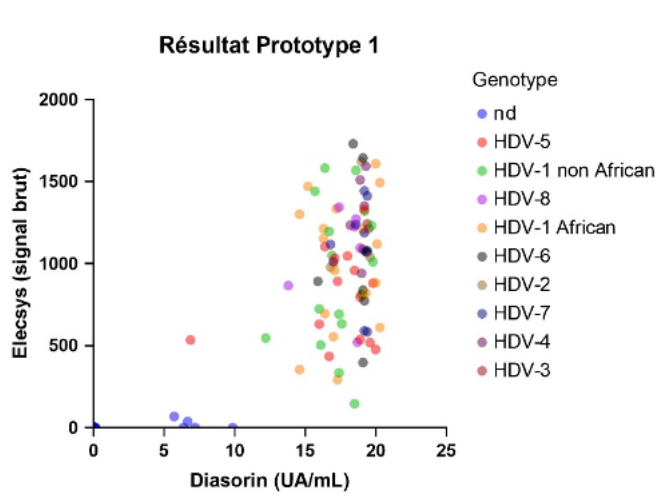


Figure 2 : Résultats obtenus avec la trousse prototype Elecsys 1 selon le génotype viral

Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Une formation à la réalisation de prélèvement de sang capillaire sur papier buvard (DBS sampling) a été organisée par les personnels du CNR coordonnateur à destination des personnels du CSAPA "Le Carrousel" de Melun et du CAARUD.

Le laboratoire associé delta est régulièrement sollicité par certains laboratoires lors de la mise en place d'une technique de quantification de l'ARN du VHD, que ce soit avec la trousse EurobioPlex ou avec leur propre trousse "maison".

2.3 Collections de matériel biologique

Cf. Annexe 6.

2.4 Activités d'expertises

Au total, le nombre d'échantillons biologiques envoyés au CNR coordonnateur au cours de l'année 2024 était de 697, correspondant à 1 173 analyses réalisées, en augmentation de 18,4% par rapport à 2023 (**Tableau 5**). Ces échantillons provenaient essentiellement de centres hospitaliers publics ou de laboratoires de biologie privés (Cerba, Pontoise), ainsi que de structures médico-sociales d'addictologie (CSAPA, CAARUD, UCSA). Dix structures prenant en charge des individus ayant une problématique addictive ont conventionné avec le CNR coordonnateur (Aurore Ego, Paris 18 ; Boris Vian, Lille ; CèdrAgir, Tourcoing ; Épice, Créteil ; EPSM de l'Agglomération Lilloise ; ESI 14, Lisieux ; Le Pari, Lille ; Centre Nova Dona, Paris 14 ; SATO, Compiègne ; UCSA, Amiens).

Au total, le nombre d'échantillons biologiques envoyés au laboratoire associé delta au cours de l'année 2024 était de 28, correspondant 28 analyses biologiques réalisées (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Échantillons biologiques adressés aux CNR, coordonnateur et associé, en 2024

Type d'échantillons	Analyses virologiques	N	Structures demandeuses
Spot de sang séché (DBS)	Détection AgHBs	140	CSAPA/CAARUD/UCSA
	Détection ADN VHB	58	
	Détection anticorps HBs	73	
	Détection anticorps HBc	4	
	Sérologie VHD	4	
	Sérologie VHC	111	
	Recherche ARN VHC	112	
	Génotypage VHC	8	
	Sérologie VIH	111	
Sérum/plasma	Génotypage VHB	26	CHU/CHG (n=11) Laboratoires privés (n=15)
	Détermination profil de résistance VHB aux analogues nucléos(t)idiques	34	CHU/CHG (n=29) Laboratoires privés (n=5)
	Quantification de l'AgHBs	73	CHU/CHG (n=73)
	Quantification de l'AgHBcr	321	CHU/CHG (n=321)
	Génotypage VHC	17	CHU/CHG (n=17)
	Détermination profil de résistance VHC aux AAD	81	CHU/CHG (n=81)
	TOTAL	1 173	
Sérum/plasma	Recherche d'ARN VHD	3	CHU/CHG (n=1) Laboratoires privés (n=2)
	Recherche anticorps delta	8	CHU/CHG (n=5)
	Génotypage VHD	17	CHU/CHG (n=8)
	TOTAL	28	

La CNR coordonnateur a établi des conventions avec des structures médico-sociales pour l'utilisation et la validation d'examens de biologie délocalisée [EBMD, test PCR VHC (Xpert HCV Viral Load Fingerstick) à l'aide du système GeneXpert, Cepheid] dans le cadre de projets de micro-élimination de l'hépatite C. Au total, 25 résultats ont été validés dans un délai <24 heures pour les structures suivantes : CSAPA Bus Méthadone et CAARUD 31/32 (n=24, Marseille) et Halte Soins Addictions – Gaïa (n=1, Paris). Parmi les 25 individus testés, 4 avaient une infection active (médiane ARN VHC : 3,6 [3,1-4,4] log₁₀ UI/L). Dans le cadre du projet ICONE 2 (dépistage communautaire et initiation de traitement contre l'hépatite C parmi les personnes utilisatrices de drogues à Marseille, ANRS 0336), 130 usagers de drogues ont été dépistés pour le VHC à l'aide du test Xpert HCV Viral Load Fingerstick). Parmi ces usagers, 36 avaient une infection virale C active (ARN >0) (médiane ARN VHC : 5,2 [4,5-6,0] log₁₀ UI/mL).

En plus de ces activités rapportées dans le **Tableau 5**, le laboratoire associé delta a réalisé de nombreuses analyses virologiques de première ligne, que ce soient des examens de sérologie VHD ou moléculaire. Cette activité est comptabilisée dans l'activité du laboratoire de routine et non dans celle du CNR. Pour information, au

total 1 141 sérologies VHD et 1 626 charges virales (ARN VHD) ont été réalisées au cours de l'année 2024.

Le laboratoire associé delta a organisé un Contrôle National de Qualité (CNQ) portant sur le diagnostic moléculaire de l'infection VHD. L'objectif principal était d'évaluer les performances des laboratoires français pour la quantification de l'ARN du VHD. Ce contrôle de qualité a consisté en la quantification de l'ARN VHD de 4 échantillons cliniques (matrice plasma). Les 4 échantillons ont été testés au préalable en triplicate avec la trousse de RT-PCR en temps réel utilisée en routine au sein du laboratoire associé delta. Ces souches ont également fait l'objet d'un séquençage complet. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 6**. Parmi les laboratoires participants, 12 ont rendu les résultats dans les délais (deux d'entre eux ont rendu 2 jeux de résultats).

Tableau 6 : Résultats du CNQ 2024

Échantillon	Génotype	ARN VHD (UI/mL)	ARN VHD (log ₁₀ UI/mL)	Coefficient de variation (%)
CNQ2024-ARNVHD1	NA	<50	<1,7	NA
CNQ2024-ARNVHD2	1	10 776	3,97	6,72
CNQ2024-ARNVHD3	5	2 839	3,45	2,21
CNQ2024-ARNVHD4	7	460	2,66	1,64

Ci -après sont renseignées les méthodes utilisées pour l'extraction des acides nucléiques (automate, volume de prise d'essai, volume d'élution), ainsi que les techniques d'amplification (thermocycleur) (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Méthodes utilisées pour l'extraction des acides nucléiques

	Altostar AM16 - Altona diagnostics	EasyMag / Emag - bioMerieux	EZ1 /QiAsymphony Qiagen	InGenius - ELITE	Janus Chemagic - PerkinElmer	m2000sp - Abbott	Magnapure Compact - Roche
Nombre de centres	1	4	2	2	1	1	3
Volume de prise d'essai (µL)	500	500	200 à 1000	600	500	500	200 ou 500
Volume d'élution (µL)	80	70	60	50	100	110	50 ou 100
Contrôle interne (CI)	AltoStar	ARN endogène	ARN endogène ou GAPDH	ARN endogène ou NA	ARN endogène	ARN endogène	ARN endogène

Ce contrôle de qualité a montré une concordance des résultats pour les centres utilisant la trousse commerciale Eurobioplex HDV kit et les centres utilisant la trousse Altona ou une technique « maison ». (**Figure 3**). Toutes les souches ont été détectées, et ce quel que soit le génotype (HDV-1, -5 et -7). Seul 1 centre a rendu 1 résultat en zone d'alerte (entre 2-3 écarts-types par rapport à la moyenne). L'amplitude des écarts de charge virale obtenue entre les différents laboratoires pour chacun des échantillons était comprise entre 1,0 et 1,7 log₁₀ UI/mL. Comme attendu, la dispersion des valeurs était plus importante pour l'échantillon avec une charge virale faible. On observait toujours une différence entre les centres, stable par rapport à celle observée l'année précédente. Ces résultats étaient très encourageants et traduisent l'effort constant des laboratoires dans la recherche d'un diagnostic de qualité et une harmonisation progressive des résultats de charge virales VHD entre les différents laboratoires français.

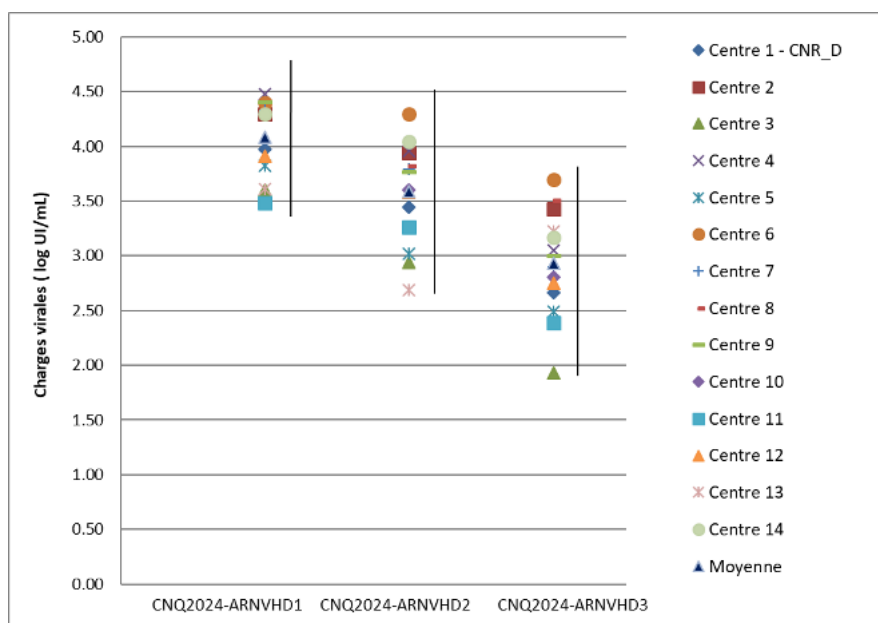


Figure 3 : Quantification de l'ARN VHD des échantillons ARN >0 par les différents centres (13 centres participants). La barre verticale illustre l'intervalle de deux écarts types

Dans le cadre des enquêtes d'hémovigilance relative au VHB (investigation sur échantillons des dons archivés en cas de séroconversion ou comportement à risque chez les donneurs de sang), le CNR a reçu en 2024, 26 échantillons plasmatiques et a réalisé une recherche du génome viral et/ou des analyses sérologiques (dépistage, confirmation, génotypage). Le détail e des échantillons est mentionné ci-après :

- . 1 don positif : une séroconversion chez une donneuse vaccinée, dépistée en DGV uniquement (AgHBs négatif), avec une charge virale à 12 UI/mL (souche de génotype A2)
 - . 20 dons N-1
 - . 2 dons, suite à une information post-don (IPD), dans les 2 cas, partenaires positifs pour le VHB
 - . 1 contrôles de donneur
 - . 2 dons reçus dans le cadre d'une enquête ascendante (séroconversion receveur).
- Aucun don N-1 n'a été retrouvé positif pour l'ADN de l'agent concerné.

Dans le cadre des enquêtes d'hémovigilance relative au VHC, le CNR a reçu 21 échantillons de plasma répartis comme suit : 12 dons IPD, 5 dons liés à une enquête ascendante (suite de séroconversion receveur), contrôlés DGV négatif, 3 dons N-1 et 1 contrôle de donneur.

Aucun don N-1 n'a été retrouvé positif pour l'ARN de l'agent concerné

Au cours de l'exercice 2024, outre les échantillons reçus dans le cadre de l'hémovigilance, 230 échantillons plasmatiques ont été reçus dans le cadre de l'activité de surveillance des donneurs de sang, avec 239 dons VHB positif (en augmentation de 20% par rapport à 2022) et 61 dons VHC positif ou suspecté (comparable à 2022).

2.5 Activités de séquençage

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

☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Associée au CNR en accès privilégié : plateforme GENOBIOMICS
	Technologies Illumina (séquenceur NovaSeq, NextSeq 500/550, MiSeq), Oxford Nanopore Technologies (GridION), Ion Torrent PGM (Sentosa SQ 301)

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

☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Associée au CNR Outils utilisés pour l'analyse des séquences type Sanger : Phylip 3.695, Clustal Outils utilisés pour l'analyse des séquences type NGS : metaMIC et autres outils variés de reconstruction génomique et outils de phylogénie adaptés

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

☒ NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
☒ OUI	Investigation d'épidémie et dans le cadre de la 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)

Les analyses utilisées sont :

- . Documentation microbiologique : utilisation de MetaMIC, outil de métégnomique Shotgun développé dans notre laboratoire
- . Reconstruction génomique de *novo* ou contre référence : utilisation de metaSpades principalement outils de phylogénie : Muscle et Mega

A noter que les techniques sont détaillées notamment dans un article récent (Rodriguez *et al* ; EID 2023)

Les outils de cgMLST, wgMLST... précisés en intitulé sont des outils pour les bactéries et ne sont pas utilisés pour les virus.

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

Nombre de souches séquencées en 2024 : 2

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Nombre de souches séquencées en 2024 : 453

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

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

Dans les bases de données fermées : Toutes les données produites sur la plateforme font l'objet d'un archivage redondé utilisables à des fins d'autres investigations et sont conservés sans limitation de durée à ce stade

Dans des bases de données publiques : Toutes les données publiées font l'objet d'une mise à disposition des données sur NCBI

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

☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Interne au CNR : plateforme de biologie moléculaire du laboratoire Sanger : ABI3500 Dx, SeqStudio - NGS : Illumina (MiqSeq et NextSeq550), Thermofisher (S5 et Genexus), Oxford Nanopore

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

☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
☒ OUI	Internet et externe au CNR Utilisation de l'ensemble des outils informatiques de lecture et d'interprétation de séquençage (ex : SeqScape) des outils informatiques d'analyses phylogénétiques (ex : Clustal, NJ, Seaview, Beast, IQTree ...), des outils bio-informatiques internes d'analyses de données de séquençage NGS (PyroEdit, scripts internes) ainsi que les outils d'analyses statistiques (ex : « R ») Accès, par machine virtuelle, à des espaces permettant une grande puissance de calcul (GHUPSSD, Université USPN) Collaborations avec les experts des services intra-GH ; collaboration avec les experts du CNR coordonnateur (Christophe Rodriguez) ; accès aux plateformes bio-informatiques de l'AP-HP (Moabi) ; collaborations internationales (Stéphane Hué, Epidemiology and Bioinformatics at The London School of Hygiene and Tropical Medicine, UK)

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

☐ NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
☒ OUI	Surveillance de l'épidémiologie des souches de VHD

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)

Analyses phylogéniques réalisées en routine pour la surveillance épidémiologique des souches
 Analyses de datation moléculaire et de phylogéographie pour étudier l'origine du VHD
 Quantification de l'Editing du VHD comme marqueur d'infection

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

Nombre de souches séquencées en 2024 : 0

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Nombre de souches séquencées : 128

Séquençage systématique des échantillons collectés chez tout nouveau patient

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

Dans les bases de données fermées : Base de données interne du laboratoire, plateforme MOABI

Dans des bases de données publiques : Toutes les données publiées font l'objet d'une mise à disposition des données sur NCBI et EMBL

2.6 Partage de séquences produites par les CNR

Pour la Métagénomique, le laboratoire reçoit des demandes d'investigation de toute la France métropolitaine et des territoires ultramarins, et également de l'Europe frontalière avec la France (activité en augmentation).

Dans le cadre de la surveillance épidémiologique des souches de VHD circulantes, le laboratoire associé a mis en place en 2024 une charte précisant les modalités de partage des données de génotypage et de séquences ; en effet, le résultat de génotypage est adressé au laboratoire demandeur. Cette donnée est utilisable par le laboratoire pour ses propres communications et travaux de recherche. Le partage de la séquence nucléotidique est possible, mais doit faire l'objet d'une convention entre le laboratoire associé delta et le laboratoire demandeur (Cf. Annexe 6 "Collections CNR").

3. Activités de surveillance

L'activité de surveillance s'est focalisée sur la surveillance des virus d'hépatites (et du VIH) dans les structures médico-sociales d'addictologie (CSAPA/CAARUD), sur la surveillance des patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite chronique B ($\pm$ delta) à partir des Centres Experts (FPRH) et des Centres Hospitaliers Généraux (ANGH), sur l'évaluation de l'incidence de la surinfection delta chez des porteurs chroniques de l'AgHBs (cohorte Inci-D), sur la cartographie des génotypes et sous-types du VHC à partir des services hospitaliers de Virologie et d'Hépatogastroentérologie, sur la surveillance de la résistance du VHC aux AAD et du VHB aux analogues nucléos(t)idiques, et sur l'étude de la diversité génétique des souches delta circulantes. L'activité de surveillance s'est également intéressée à la surveillance virologique des donneurs de sang.

3.1 Description du réseau de partenaires

Dans le cadre de la surveillance de la circulation des virus d'hépatites au sein des structures médico-sociales d'addictologie, le réseau de partenaires est essentiellement basé sur les CSAPA (Centres de Soins, d'Accompagnement et de Prévention en Addictologie) et CAARUD (Centres d'Accueil et d'Accompagnement à la Réduction des risques pour Usagers de Drogues). Ces structures, au nombre de 10 en 2024 (Aurore Ego, Paris 18 ; Boris Vian, Lille ; CèdAgir, Tourcoing ; Épice, Créteil ; EPSM de l'Agglomération Lilloise ; ESI 14, Lisieux ; Le Pari, Lille ; Centre Nova Dona, Paris 14 ; SATO, Compiègne ; UCSA, Amiens), sont réparties plutôt au nord de la Loire.

Dans le cadre de la surveillance de la résistance du VHC aux antiviraux à action directe (AAD), un réseau de 22 laboratoires répartis sur le territoire national nous a adressé des demandes de recherche de résistance, auquel il faut ajouter 1 laboratoire dans les territoires ultramarins (Martinique).

Hôpitaux AP-HP : Beaujon, Saint-Antoine, Bichat, Cochin, Avicenne, Paul Brousse

Hôpitaux hors AP-HP : Archet (Nice), Foch (Suresnes), Dijon, Lille, Sud Francilien, Poissy, Strasbourg, Brest, Angoulême, Poitiers, Clemenceau (Caen), Côte de Nacre (Caen), Niort, La Source (Orléans), Clermont-Ferrand, Bretonneau (Tours), Martinique.

Dans le cadre de la surveillance de la résistance du VHB aux analogues nucléos(t)idiques, un réseau de 12 laboratoires publics et privés répartis sur le territoire national nous a adressé des demandes de recherche de résistance, auquel il faut ajouter 2 laboratoires dans les territoires ultramarins (Martinique et Polynésie Française).

Hôpitaux AP-HP : Beaujon, Saint Louis, Bichat

Hôpitaux hors AP-HP : Sud Francilien, Côte de Nacre (Caen), Clermont-Ferrand, Charles Nicole (Rouen), Institut Fédératif de Biologie (Toulouse), Poissy, Saint Denis, Le Havre, Martinique, Polynésie Française

Laboratoire privé : Cerba

Dans le cadre de la surveillance de la circulation des souches delta, un réseau de 50 laboratoires publics et privés répartis sur le territoire national nous adressé des échantillons.

Hôpitaux AP-HP : Ambroise Paré, Beaujon, Bichat, Cochin, HEGP, Henri Mondor, Hôtel Dieu, Lariboisière, Louis Mourier, Necker, Raymond Poincaré, Saint-Louis, ainsi que Paul Brousse, Antoine Bécclère, Bicêtre, Pitié, Robert Debré, Saint-Antoine, Tenon et Trousseau (pour un envoi systématique de toutes leurs nouvelles souches VHD+),

Hôpitaux hors AP-HP : Amiens, Angers, Auxerre, Besançon, Blois, Brest, Créteil, Clermont-Ferrand, Dax, Dijon, Lille, Limoges, Mâcon, Montpellier, Nancy, Narbonne, Nîmes, Nice, Orléans, Poissy-St-Germain, Poitiers, Reims, Rennes, Rouen, Strasbourg, Suresnes, Tours, Versailles,

Laboratoires privés : Cerba, pour un envoi de toutes leurs nouvelles souches VHD+ ; des demandes d'expertise de la part du laboratoire Eurofins-Biomnis. Quelques patients sont également prélevés dans des laboratoires privés, avec mention sur l'ordonnance d'envoyer le prélèvement à notre laboratoire.

Dans le cadre de la surveillance des donneurs de sang, le laboratoire collabore étroitement avec l'EFS, CSA, SpF et l'ANSM. Quelques discordances entre le nombre de dons reçus par la plasmathèque nationale de l'EFS et la surveillance épidémiologique des donneurs de sang (données SpF), en particulier vis-à-vis de dons en attente en provenance des territoires ultra-marins. Par conséquent, la représentativité pour le VHB est de 94% et 97% pour

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Dépistage des hépatites virales (et du VIH) dans les structures médico-sociales d'addictologie. A partir de buvards (spots de sang séché) mis à la disposition des structures médico-sociales d'addictologie, le dépistage et le diagnostic des virus d'hépatites B, C et delta ainsi que du VIH sont ainsi réalisés. La détection de marqueurs sérologiques (anticorps totaux VHC, VHD, VIH1&2, anticorps totaux HBc et HBs, AgHBs et p24) et moléculaires (ARN VHC, ADN VHB, ARN VHD et détermination des génotypes par analyse phylogénique) sont disponibles.

En 2024, 145 sujets, majoritairement des hommes (76,6%), avec un âge médian de 44 ans [IQR : 36-51] ont été dépistés. Quatre-vingt-trois sujets ont rapporté un ou plusieurs facteurs de risque (consommation de substances psychoactives, injections, rapports sexuels non protégés...). La sévérité de la maladie hépatique était renseignée dans uniquement 33 cas, essentiellement par mesure de l'élasticité du foie (FibroScan® ou équivalent ; médiane d'élasticité : 5,0 kPa [IQR : 4,3-5,0]). Tous sauf 4 cas avaient une fibrose peu ou pas sévère. Parmi les 135 sujets dépistés pour le VHB, 3 (2,2%) étaient positifs pour l'AgHBs et 2 sujets avait un ADN détectable (ADN VHB à respectivement 2,4 et 6,3 log₁₀ UI/mL). Un patient était coinfecté par le VHD, ce dernier était non répliquant (ARN VHD <0). L'ADN du VHB était indétectable chez les 56 sujets pour lesquels une recherche d'ADN du VHB avait été demandée. Parmi les 118 sujets dépistés pour le VIH, Un seul individu (0,9%) était séropositif pour le VIH (séropositivité connue par le CSAPA). Parmi les 107 sujets dépistés pour le VHC, 34 (31,8%) étaient positifs pour les anticorps VHC. Parmi les sujets séropositifs pour le VHC, 6 (17,6%) avaient un ARN détectable (intervalle ARN VHC : 4,0-5,4 log₁₀ UI/mL). Deux individus supplémentaires avaient un ARN détectable. La charge virale médiane était de 4,3 log₁₀ UI/mL [IQR : 4,1-4,5]. Les génotypes les plus fréquemment isolés étaient les génotypes 3a (n=5), 1b (n=2) et 4a (n=1).

Caractéristiques cliniques et virologiques des patients pris en charge pour leur hépatite chronique B dans un centre expert (HBV biomark). 778 patients ont été prospectivement inclus entre mai 2022 et décembre 2024 dans le service d'Hépatologie de l'hôpital Henri Mondor (Pr Vincent Leroy). Les patients étaient majoritairement des hommes (65,3%) âgés de 48,3±15 ans au moment de l'inclusion. 82% étaient originaires d'un pays de moyenne ou forte endémicité pour le VHB. 88,9% étaient AgHBe-négatifs. Le niveau de charge virale (ADN VHB) et le titre de l'AgHBs étaient respectivement de 2,1 et 3,3 log₁₀ UI/mL. Parmi les patients positifs pour l'antigène lié au core du VHB (AgHBcr) (40,6%), le titre de l'AgHBcr était de 4,3 log₁₀ U/mL. Près de 20% des patients avaient des ALAT >40 UI/L et la valeur moyenne d'élastométrie évaluée par FibroScan® était de 5,0 kPa. 6,2% des patients avaient une cirrhose. Les génotypes les plus prévalents étaient les génotypes E (56%), D (18%) et A (18%). Environ la moitié des patients (51%) étaient éligibles à un traitement par analogues nucléos(t)idiques (entécavir ou ténofovir) (Vo-Quang *et al.*, J Hepatol 2024).

Surveillance des patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite chronique B (±delta) à partir des Centres Experts (FPRH), des Centres Hospitaliers Généraux (ANGH) et du Réseau de virologie et pharmacologie médicale (ANRS-MIE). La France est un pays de faible endémicité vis-à-vis de l'infection par le VHB, avec une prévalence estimée en population générale en 2016 à 0,3% (Brouard *et al.*, BMC Infect Dis 2019), soit plus de 135 000 porteurs chroniques de l'AgHBs. Parmi ces porteurs chroniques, une grande majorité (>82%) ignorait son infection. Ce chiffre était en augmentation par rapport à celui de 2004 qui indiquait que plus de la moitié (55%) des sujets AgHBs-positif méconnaissaient leur statut sérologique. En ce qui concerne les données de prévalence de l'hépatite delta, celles-ci ne sont pas connues avec précision. Des données sont disponibles pour quelques centres hospitaliers métropolitains incluant Bordeaux, Toulouse, Villejuif, Rennes, Bobigny et Créteil [prévalence globale de 6,3% parmi les sujets AgHBs-positif et près de 60% avec une infection active (ARN VHD >0) (Brichler *et al.*, Liver Int 2024)], ainsi que dans la population générale Mahoraise, avec des valeurs de prévalence comprises entre 6% et 10% des porteurs chroniques de l'AgHBs (Brouard *et al.*, BEH 2022). Dans notre expérience sur la période 2018-2022, 35% des sujets nouvellement diagnostiqués AgHBs-positif n'ont pas été dépistés pour l'infection delta alors même que les recommandations préconisent un dépistage systématique de tous les sujets nouvellement dépistés pour l'AgHBs (EASL CPG on hepatitis B virus., J Hepatol 2017 ; EASL CPG on hepatitis delta virus., J Hepatol 2023). L'analyse rétrospective des données issues du système national des données de santé (SNDS) a montré que le nombre de tests de dépistage de l'hépatite delta (recherche des anticorps) a augmenté de 81% entre 2016 et 2019. Parallèlement le nombre de tests PCR (détection de l'ARN du VHD) a augmenté de 80% sur la même période, avec un pic entre 2019 et 2020 correspondant à l'autorisation conditionnelle du bulévirtide (BLV). Parmi les patients AgHBs-positifs, moins d'un quart avaient bénéficié d'un

dépistage de l'hépatite delta (Loustaud-Ratti *et al.*, Hepatology 2023). Les objectifs de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) à l'horizon 2030 sont une réduction de 90% de l'incidence des hépatites chroniques, une diminution de 65% du nombre de décès annuels, et que 80% des sujets dépistés soient traités. Atteindre ces objectifs passe notamment par le renforcement du dépistage des hépatites B et delta. Les États généraux de l'hépatite B qui réunissent associations de patients, professionnels de santé et acteurs du monde médico-social préconisent à travers l'un de leurs axes prioritaires d'améliorer le parcours et la prise en charge des personnes atteintes d'hépatite B (BEH 2022;3-4:63-65). L'objectif principal de cette étude est de décrire les caractéristiques démographiques, épidémiologiques, virologiques et cliniques des patients nouvellement pris en charge pour une hépatite chronique B (±D) en France.

Cette étude permettra également (objectifs secondaires) :

- . D'évaluer la proportion de patients éligibles à un traitement anti-VHB selon les recommandations de l'EASL 2025 (disponibles au congrès de l'EASL à Amsterdam, 7-10 mai 2025) et d'évaluer la réponse au traitement, 6 et 12 mois, après l'instauration,

- . D'évaluer l'impact des nouveaux marqueurs virologiques (qAgHBs, qAgHBcr et ARN VHB) sur la classification des patients dans les différents stades évolutifs du portage chronique de l'AgHBs, en particulier les patients dits en « zones grises » (ADN VHB >2000 et ALAT ≤LSN ou ADN VHB <2000 et ALAT ≥LSN),

- . Décrire les caractéristiques de l'infection VHD chez les patients coinfectés VHB/VHD (génotype, niveau de charge virale, sévérité de la maladie hépatique, proportion de patients traités BLV±pegIFN, réponse au traitement),

- . D'identifier des motifs nucléotidiques impliqués dans la sévérité de la maladie hépatique chez les patients monoinfectés *versus* coinfectés VHB/VHD avant traitement.

- . De comparer les données collectées à celles de la précédente étude réalisée en 2008-2012 (Chevaliez *et al.*, JHEP Rep 2022).

La promotion sera assurée par l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP), Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation de l'AP-HP. Un comité de pilotage (COPIL) composé d'hépatologues, d'épidémiologistes et de virologues a été constitué et veille au bon déroulement de l'étude (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Membres du COPIL

Nom, Prénom	Spécialité	Lieu d'exercice
Marc Bourlière	Hépatologue	Saint Joseph, Marseille
Ségolène Brichler	Virologue	Avicenne, Bobigny
Cécile Brouard	Épidémiologiste	SpF, Saint Maurice
Stéphane Chevaliez	Virologue	Henri Mondor, Créteil
Juliette Foucher	Hépatologue	Pellegrin, Bordeaux
Marie Noëlle Hilleret	Hépatologue	Grenoble
Vincent Leroy	Hépatologue	Henri Mondor, Créteil
Véronique Loustaud-Ratti	Hépatologue	Dupuytren, Limoges
Florence Lot	Épidémiologiste	SpF, Saint-Maurice
Charlotte Pronier	Virologue	Rennes
Françoise Roudot-Thoraval	Hépatologue, épidémiologiste	Henri Mondor, Créteil
Dominique Roulot	Hépatologue	Avicenne, Bobigny
Yusuke Shimakawa	Épidémiologiste	Pasteur, Paris
Cynthia Tamadjou	Épidémiologiste	SpF, Saint-Maurice

Afin d'évaluer le nombre de centres participants et leur file active, un questionnaire a été élaboré (**Annexe 3**). Ce dernier a été envoyé aux centres experts *via* la FPRH (Fédération Nationale des Pôles de Référence et Réseaux Hépatites) au mois de novembre 2024 et aux centres hospitaliers généraux *via* l'ANGH (Association Nationale des Hépato-Gastroentérologues des Hôpitaux généraux) au mois de février 2025. Ces données sont indispensables pour évaluer la faisabilité de l'étude (effectif et durée de l'étude), solliciter la promotion par l'AP-HP (DRCL) et l'avis d'un CPP (Comité de protection des personnes, recherche RIPH3). À ce jour, **35** centres ont répondu au questionnaire avec 24 Centres Experts (FPRH) et 11 Services des Hôpitaux Généraux (ANGH) (**Tableau 6**). La file active de patients infectés par le VHB est très variable d'un centre à l'autre (allant de moins de 100 patients à plus de 1500). Parmi plus de 13 200 patients infectés par le VHB, 2 144 patients ont été nouvellement pris en charge en 2023 et près de 700 patients ont initié un traitement antiviral par analogues nucléos(t)idiques.

Tableau 6 : Liste des centres et services participants

Hôpital/Structure	Ville	Investigateur
FPRH		

Rangueil	Toulouse	Sophie Metivier
Croix-Rousse	Lyon	François Villeret
Dupuytren	Limoges	Véronique Loustaud-Ratti
Haut-Lévêque	Bordeaux	Juliette Foucher
HGE	Rouen	Ghassan Riachi
SELHP	Perpignan	André-Jean Remy
HGE	Strasbourg	Frédéric Chaffraix
HGE	Guadeloupe	Moana Gelu-Simeon
Estaing	Clermont-Ferrand	Armand Abergel
HGE	Dijon	Anne Minello
HGE	Rennes	Caroline Jezequel
Trousseau	Tours	Louis D'Alteroche
HGE	Reims	Elia Gigante
HGE	Besançon	Thierry Thevenot
HGE	Montpellier	Magdalena Meszaros
Conception	Marseille	Marc Bourlière
HGE	Amiens	Eric Nguyen-Khac
HGE	Poitiers	Christine Sylvain
Cochin (AP-HP)	Paris	Anais Vallet-Pichard
Pitié-Salpêtrière (AP-HP)	Paris	Dominique Thabut
Paul Brousse (AP-HP)	Villejuif	Audrey Coilly
Avicenne (AP-HP)	Bobigny	Véronique Grando-Lemaire
Saint Antoine (AP-HP)	Paris	Nicolas Carbonell
Henri Mondor (AP-HP)	Créteil	Vincent Leroy
ANGH		
CHIC	Créteil	Isabelle Rosa & Camille Barrault
CHIV	Villeneuve Saint-Georges	Armand Garioud
HGE	Orléans	Rim Benjira
HGE	Lorient	Florent Ehrhard
HGE	Montélimar	Sinda Tili & A Sais
HGE	Bry sur Marne	David Zanditenas
HGE	Vannes	Agathe Cheny
HGE	Annecy	Frédéric Heluwaert
HGE	Dunkerque	Juliette Verlynde
HGE	Le Havre	Caroline Lemaitre
HGE	Montfermeil	Vincent Jouannaud

Incidence de la surinfection de l'hépatite delta parmi les porteurs chroniques de l'AgHBs en France et Gambie : analyse post-hoc de 2 cohortes prospectives (Inci-D). La surinfection par le virus de l'hépatite delta (VHD) est un facteur majeur de la morbi-mortalité chez les porteurs chroniques de l'AgHBs, notamment en aggravant la progression de la maladie hépatique. Le taux d'incidence de la surinfection delta a été estimé dans 2 cohortes de porteurs chroniques de l'AgHBs recrutés en Afrique de l'Ouest (Gambie, dérivée du projet PROLIFICA) et en Europe (France). La cohorte gambienne inclut des donneurs de sang et des sujets issus de campagnes de dépistage de l'hépatite B par TDR entre 2011 et 2014, et a bénéficié d'une réévaluation hépatique entre 2017 et 2021. La cohorte française inclut des sujets venant consulter dans un service hospitalier expert pour la prise en charge des maladies du foie. Au total, 1 016 échantillons biologiques (respectivement, 625 "cohorte Gambie" et 391 "cohorte France") étaient disponibles. La prévalence de l'infection delta était respectivement de 1,1% en Gambie et 2,5% en France. Les sujets étaient âgés de 38 ans et majoritairement de sexe masculin (63%). La valeur médiane des transaminases (ALAT) était de 27 U/L. Seuls 8,4% était AgHBe-positif. La médiane de l'ADN VHB était de 1,7 log₁₀ UI/mL. Un diagnostic clinique de cirrhose avait été rapporté chez 5,5% et un patient avait eu une décompensation œdémato-ascitique. Parmi les porteurs chroniques de l'AgHBs et séronégatif pour le VHD, 982 patients ont bénéficié d'un suivi longitudinal de 5,3 années. Au total, 17 (1,7%) individus ont séroconverti pour les anticorps delta, soit un taux d'incidence de la surinfection delta estimé à 3,8/1000 sujets-années. Seuls 2 (17%) patients avaient un ARN VHD détectable (respectivement, 5,1 et 3,8 log₁₀ IU/mL). La surinfection delta n'est donc pas un événement rare. Néanmoins le taux de guérison spontanée semblait élevé (Ingiliz et al., article soumis).

Cartographie des génotypes et sous-types du VHC à partir des services hospitaliers d'hépatogastroentérologie et de virologie en France. Les traitements antiviraux à action directe (AAD) ont révolutionné la prise en charge des patients infectés par le VHC permettant ainsi d'obtenir une réponse virologique soutenue (RVS = guérison virologique) dans >95% des cas. L'organisation mondiale de la Santé (OMS) a par conséquent fixé comme objectifs l'élimination du VHC d'ici à 2030 (i.e. diminution de 90% de l'incidence, réduction de 65% la morbi-mortalité, diagnostic de 90% des personnes vivant avec l'hépatite C et 80% des sujets pouvant bénéficier d'un traitement soient traités). Cependant, les complications liées au portage chronique du VHC (cirrhose, décompensation et carcinome hépatocellulaire) étaient responsables de près de 250 000 décès en 2022. La disponibilité de nouvelles techniques adaptées au séquençage du génome complet du VHC permet d'évaluer la distribution des génotypes/sous-types, y compris les sous-types dits "non usuels", ainsi que la présence de substitutions amino acidiques associées à une diminution de sensibilité aux AAD dans les régions ciblées par les antiviraux ou dans le reste du génome (épistasie). En effet, plusieurs études ont montré que les patients infectés par des sous-types non usuels avaient des taux de réponse au traitement plus faibles que ceux infectés par des génotypes classiques (1a, 1b, 2a, 3a, 4a, 4d,...) du fait de la présence de polymorphismes naturels conférant une diminution de sensibilité aux AAD (Fourati *et al.*, Hepatology 2019 ; Vo-Quang *et al.*, Hepatology 2023). L'étude rétrospective du GEMHEP (Groupe français d'études moléculaires des hépatites) réalisée en 2015-2016 auprès de 9 laboratoires avait permis d'évaluer la distribution des génotypes du VHC (Semenova *et al.*, Epidemiol Infect 2019).

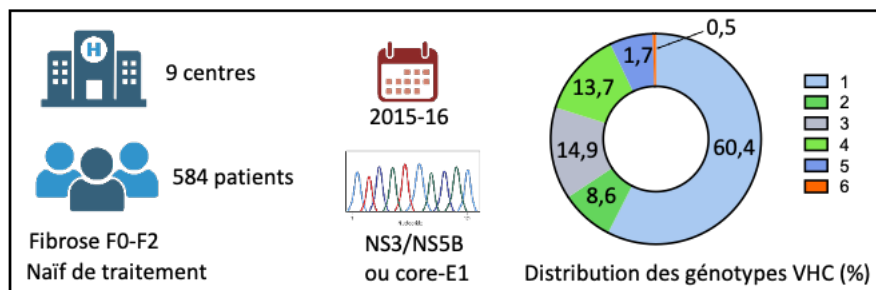


Figure 4 : Résumé graphique de l'étude du Gemhep 2015-2016

Près de 600 patients naïfs de traitement avec une hépatopathie peu ou pas sévère (score de fibrose <F2) avaient été rétrospectivement inclus. Les génotypes, déterminés par analyse d'une portion du génome viral (NS3, NS5B ou core-E1), les plus prévalents étaient : génotype 1 (60,4%), génotype 3 (14,9%), génotype 4 (13,7%) et génotype 2 (8,6%) (**Figure 4**).

La présente étude a pour objectif principal de décrire la distribution des génotypes et des sous-types du VHC et d'établir des corrélations avec les paramètres cliniques et thérapeutiques. Cette étude permettra également (objectifs secondaires) d'évaluer la prévalence de la résistance du VHC chez les patients en échec de traitement et la proportion de sous-types non usuels. Afin d'évaluer le nombre de laboratoires et services d'hépatogastroentérologie participants, un questionnaire portant sur les pratiques de génotypage et la file active a été envoyé aux laboratoires de virologie (réseau de virologie et pharmacologie médical de l'ANRS-MIE). Au total, 31 laboratoires ont répondu favorablement (**Figure 5**). Parmi plus de 4 100 patients nouvellement dépistés positifs pour le VHC en 2023, plus d'un tiers (32,5%) avaient une infection active (ARN > 0). Au total, le génotype VHC a été déterminé chez plus de 600 patients.

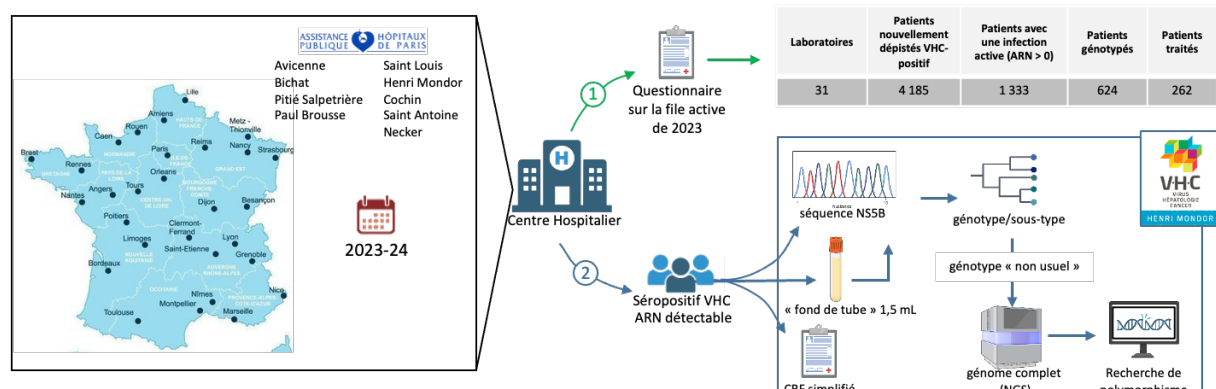


Figure 5 : Résumé graphique de la cartographie des génotypes/sous-types du VHC sur la période 2023-2024

Un aliquote de sang (sérum ou plasma sous un volume de 1,5 mL) et/ou la séquence du gène *NS5B* (si disponible) de chaque patient nouvellement dépisté pour le VHC et ayant une infection active (ARN VHC >0) sera transmis au CNR coordonnateur avec pour chaque échantillon un recueil d'informations démographiques, cliniques et thérapeutiques (**Annexe 4**).

Surveillance de la diversité génétique des souches circulantes de VHD. L'activité de surveillance de la diversité des souches circulantes de VHD s'est poursuivie en réalisant le génotypage systématique de toutes les nouvelles souches ARN-positif. La quantification de l'ARN VHD a été réalisée par le laboratoire associé delta (n=79) ou un laboratoire de virologie partenaire (Pitié, Paul Brousse, Lille) qui a adressé un aliquote pour génotypage (n=16). Comme le montre la **Figure 6**, les nouveaux patients diagnostiqués ARN >0 en 2024 étaient en majorité nés en Afrique [n=42 (44%)] ou en Europe de l'Est [n=21 (22%)].

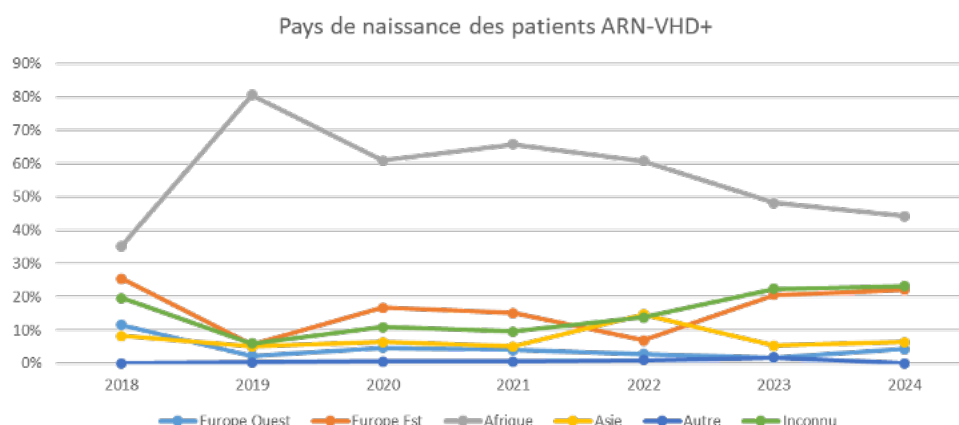


Figure 6 : Pays de naissance des patients nouvellement positifs pour l'ARN du VHD

La répartition des génotypes est stable au cours du temps. Le génotype VHD-1, ubiquitaire, reste largement majoritaire (69%), suivi du génotype VHD-5 (31%). En 2024, une souche de génotype VHD-2 a été mise en évidence chez une patiente originaire de la région de Yakoutie en Russie (**Figure 7**).

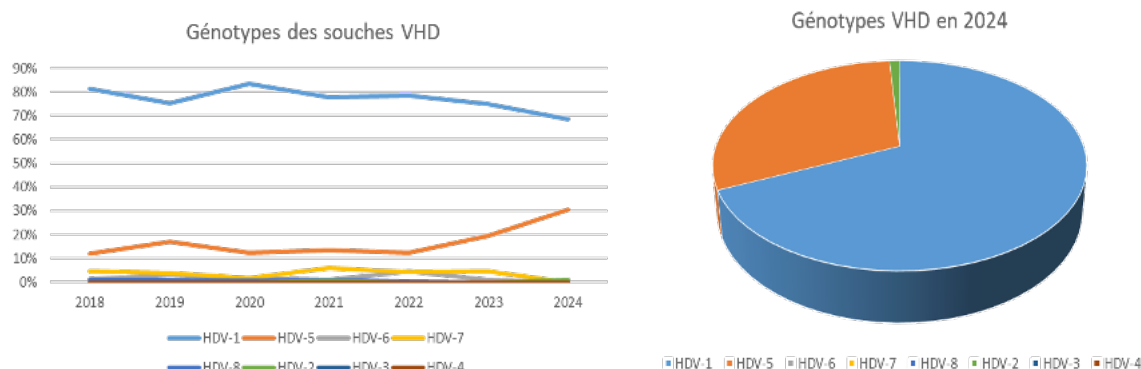


Figure 7 : Répartition des génotypes du VHD au cours du temps, et en particulier pour 2024

Surveillance des infections à VHB chez les donneurs de sang. La surveillance du taux de dons positifs pour 10 000 dons parmi les dons de sang depuis 1993 est présentée sur le **Figure 8**. Les caractéristiques des dons positifs sont présentées sur les figures suivantes (**Figures 9, 10 et 11**).

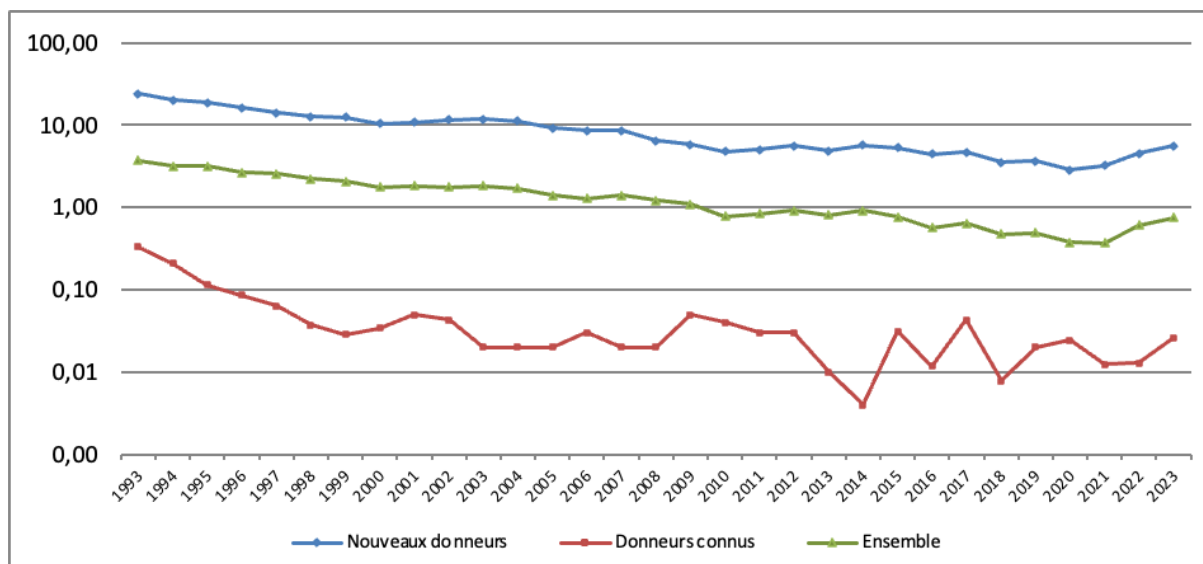


Figure 8 : Évolution du taux de dons VHB positifs observés pour 10 000 dons parmi les dons de sang collectés de 1993 à 2023 (échelle logarithmique)

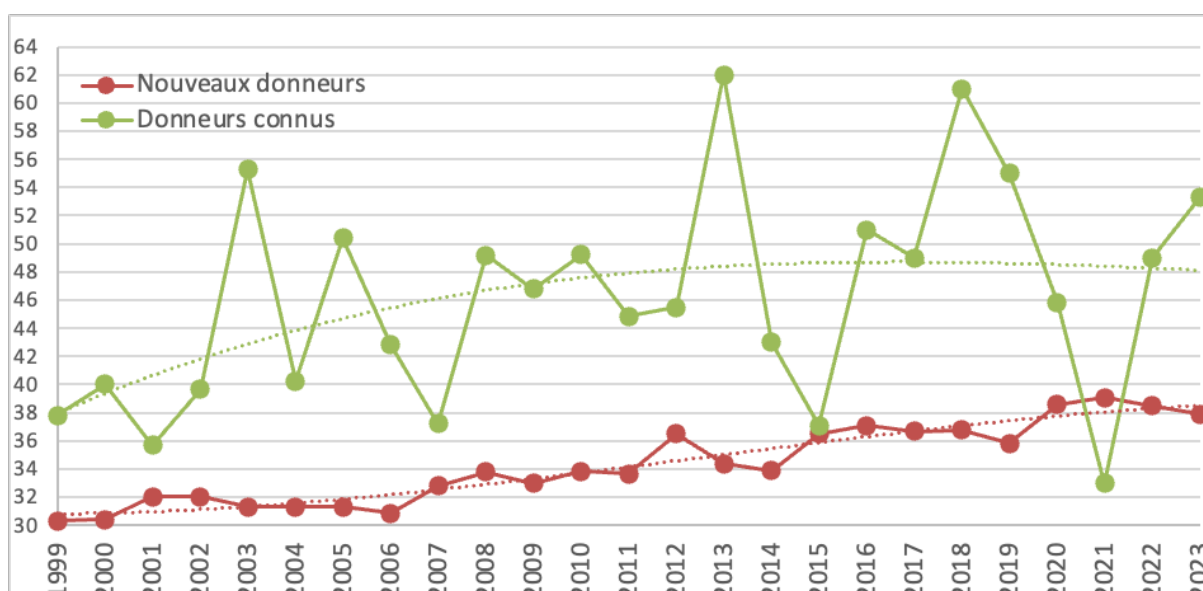


Figure 9 : Évolution de l'âge moyen des donneurs VHB positifs entre 1999 à 2023 selon leur statut

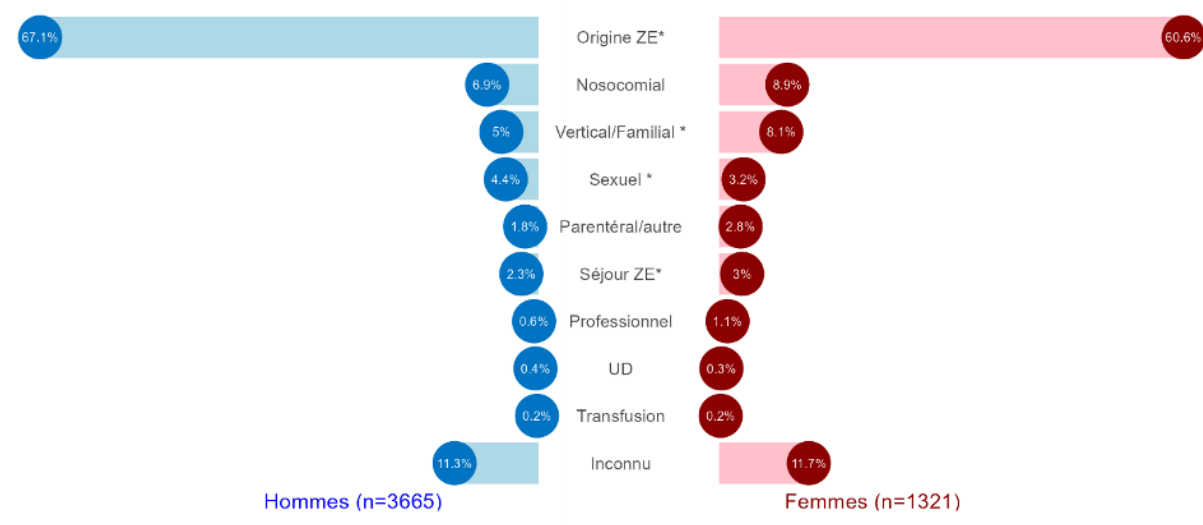


Figure 10 : Facteurs de risque hiérarchisés chez les nouveaux donneurs VHB positifs en France métropolitaine en 2023

fonction du sexe entre 1998 et 2023 (n = 4986) ("autre" = tatouage, piercing, acupuncture ; * différence significative entre les hommes et les femmes, après correction de Bonferoni)

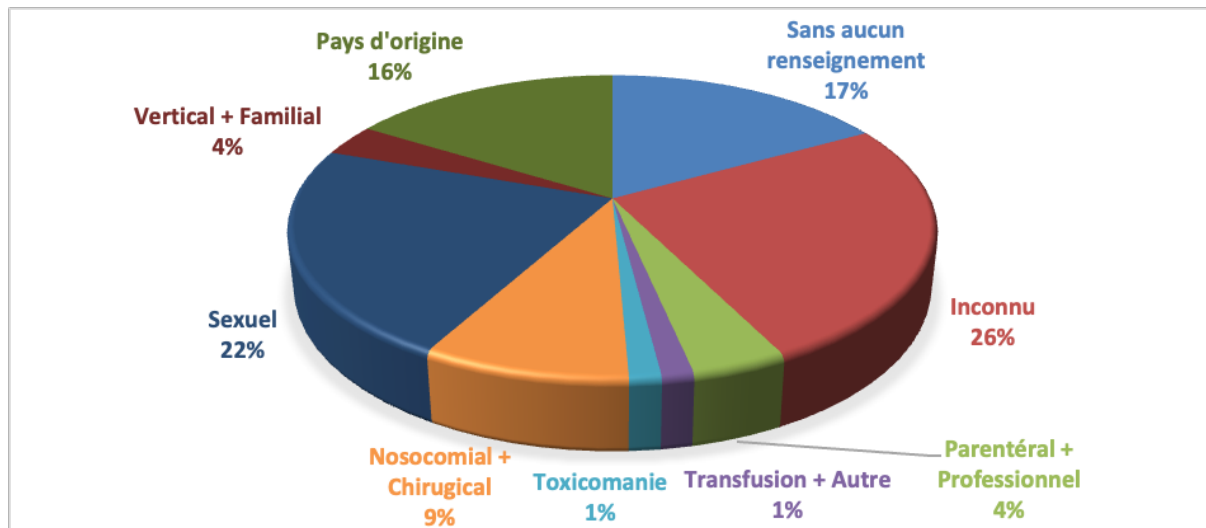


Figure 11 : Évolution de la répartition des facteurs de risque hiérarchisés chez les donneurs de sang réguliers (connus) VHB positifs (n=148) en France métropolitaine entre 1998 et 2023

Au total, 88.8 % des dons VHB positifs sont anticorps HBe positifs/AgHBe négatifs, cette proportion est stable dans le temps (5670/6386 dons). 3.9 % des donneurs AgHBs+ testés pour ce marqueur ont des anticorps HBs à taux faible sans lien avec le génotype ni avec l'existence de mutations du gène S (data not shown).

L'analyse moléculaire comprend la détermination du génotypage et la mise en évidence de mutations dans l'enveloppe virale par séquençage de la région hydrophile majeure (MHR) de la protéine d'enveloppe « S » (Servant-Delmas *et al.*, Transfusion 2010), et d'une région chevauchant la polymérase du virus (cible des molécules antivirales) et la boucle antigénique de l'AgHBs (région amplifiée : nucléotides 271 à 1140 sur la séquence de référence NC_003977). Sur 4 083 dons ADN positifs collectés entre 2005 et 2023, 3 968 (97,2%) ont pu être analysés (**Figure 12**). Parmi ces 3 968 dons, 339 (9,3%) n'étaient pas génotypables.

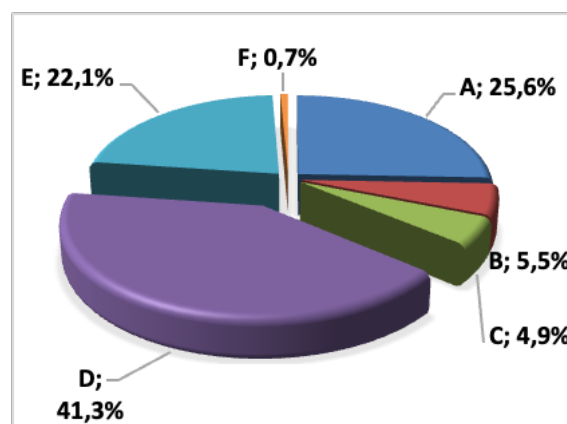


Figure 12 : Distribution des génotypes VHB chez les donneurs de sang (2005-2023)

Le génotype D était le génotype le plus fréquent (41,3% avec des extrêmes de 27% en 2023 et 53% en 2015). Les génotypes B, C et F étaient stables au cours du temps et occupent à eux 3, 11% des souches. On observe depuis 2016 une tendance à l'augmentation du génotype E au détriment du génotype A. Ceci peut s'expliquer par une augmentation de la proportion des donneurs d'origine Africaine parmi les donneurs infectés par le VHB avec en parallèle un possible effet de la vaccination dans la population des donneurs d'origine métropolitaine ou du bassin méditerranéen. Cette répartition était en accord avec l'origine géographique des donneurs (A : Europe et Afrique, B et C : Asie, D : bassin méditerranéen et Europe, E : Afrique).

Pour les génotypes B et C, les charges virales moyennes étaient significativement plus élevées ($p < 0,001$) (**Figure 13**).

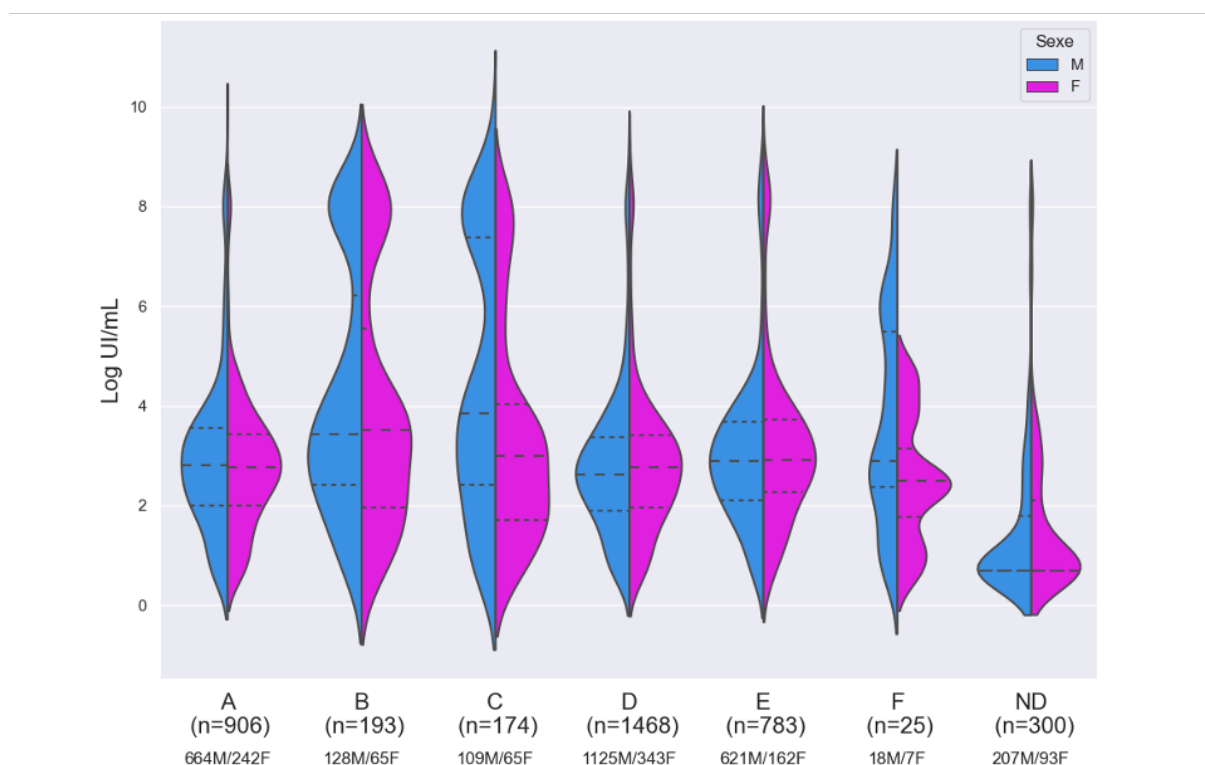


Figure 13 : Répartition des charges virales ($\log_{10}$ UI/mL) en fonction du génotype du VHB chez 3 849 donneurs de sang entre 2005 et 2023 (ND : génotype non déterminé ; traits en pointillés serrés : quartiles, trait en pointillés : médiane)

Entre 1997 et 2023, 2% des donc VHB+ étaient positifs pour les anticorps delta (témoignant d'une coinfection VHB-VHD), avec un taux de prévalence moyen s'élevant à 1,4%. La quantification l'ADN du VHD, réalisée sur 86 échantillons a identifié 23 souches (26,7%) avec une charge virale détectable (10^2 - 10^9 copies/mL). Vingt souches étaient de génotype VHD-1, une de génotype VHD-6, une de génotype VHD-7 et une de génotype VHD-8. Cinq souches VHD-1 ont été isolées chez des donneurs européens, 2 chez des donneurs originaires du bassin méditerranéen, 10 chez des donneurs originaires d'Afrique sub-Saharienne, 1 chez un donneur originaire des DOM et 2 sans renseignement sur l'origine géographique. La charge virale VHB des 23 donneurs ARN VHD positifs était plus basse (médiane à 37 UI/mL) que celle des dons ARN VHD négatifs (médiane à 1 112 UI/mL). La surveillance prospective de la séroprévalence des anticorps delta chez les donneurs AgHBs positifs montrait des fluctuations autour de 2% (**Figure 14**).

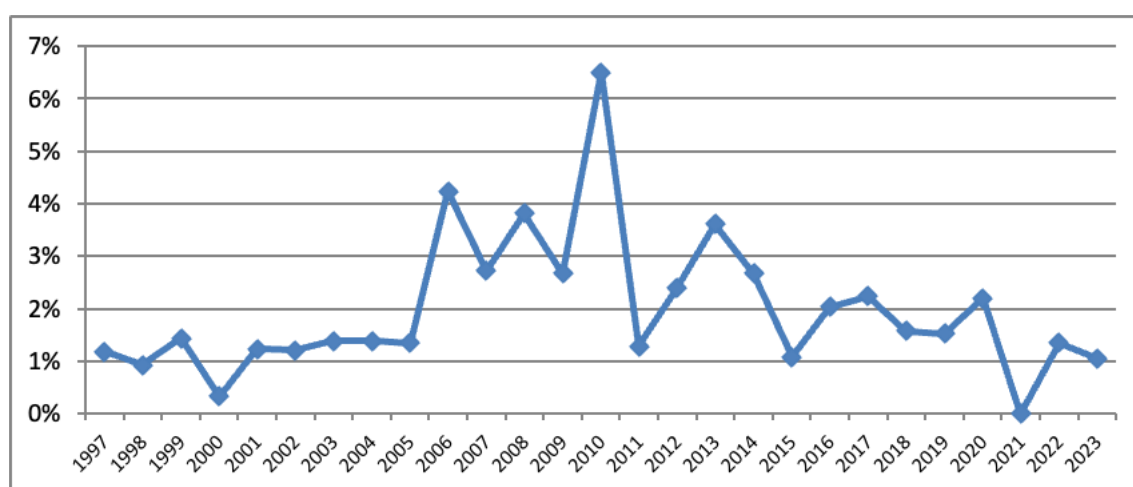


Figure 14 : Évolution de la séroprévalence du virus Delta chez les donneurs de sang de 1997 à 2023

Surveillance des infections à VHC chez les donneurs de sang. La surveillance du taux de dons positifs pour 10 n000 dons parmi les dons de sang depuis 1993 est présentée sur le **Figure 15**. Les caractéristiques des dons positifs sont présentées sur les figures suivantes (**Figures 16, 17 et 18**).

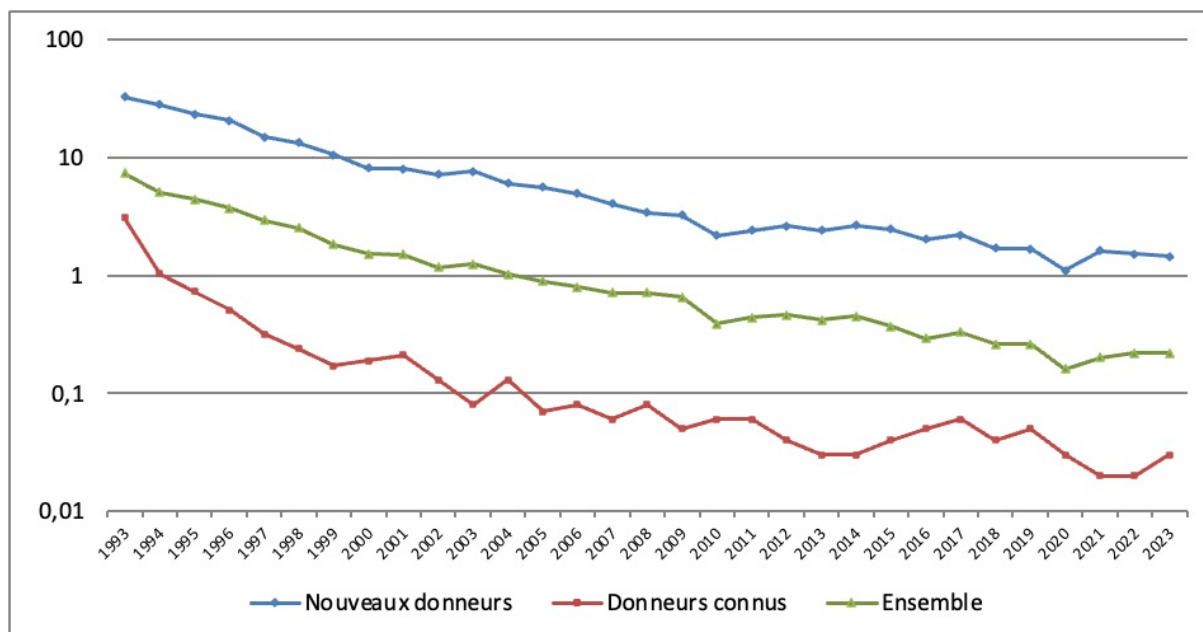


Figure 15 : Évolution du taux de dons VHC positifs observés pour 10 000 dons parmi les dons de sang collectés de 1993 à 2023 (échelle logarithmique).

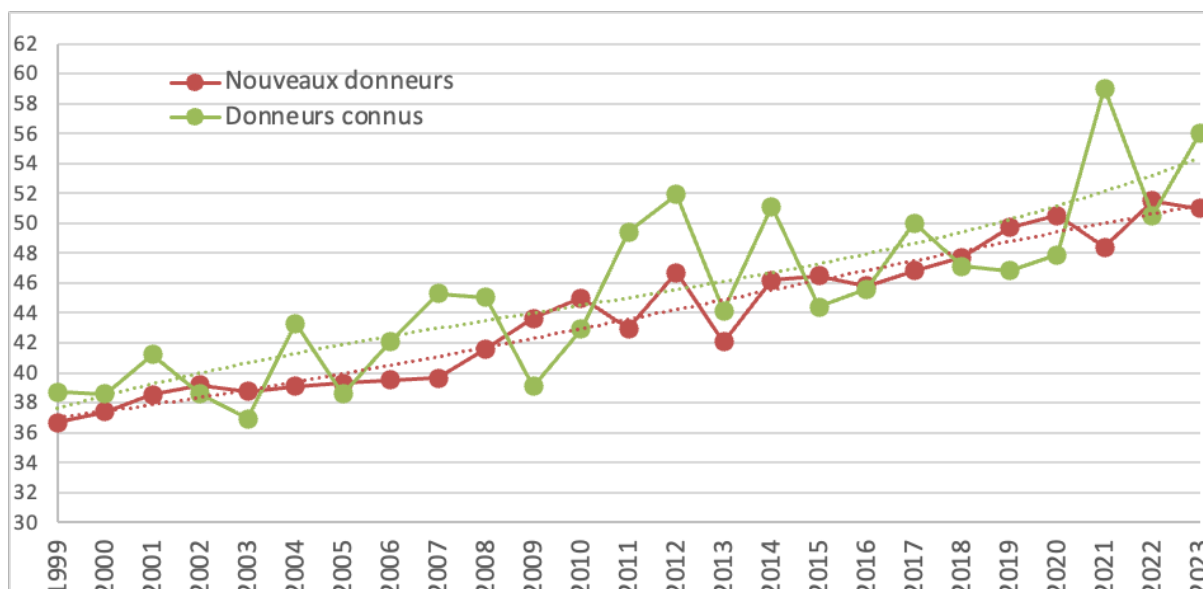


Figure 16 : Évolution de l'âge moyen des donateurs VHC positifs entre 1999 à 2023 selon leur statut

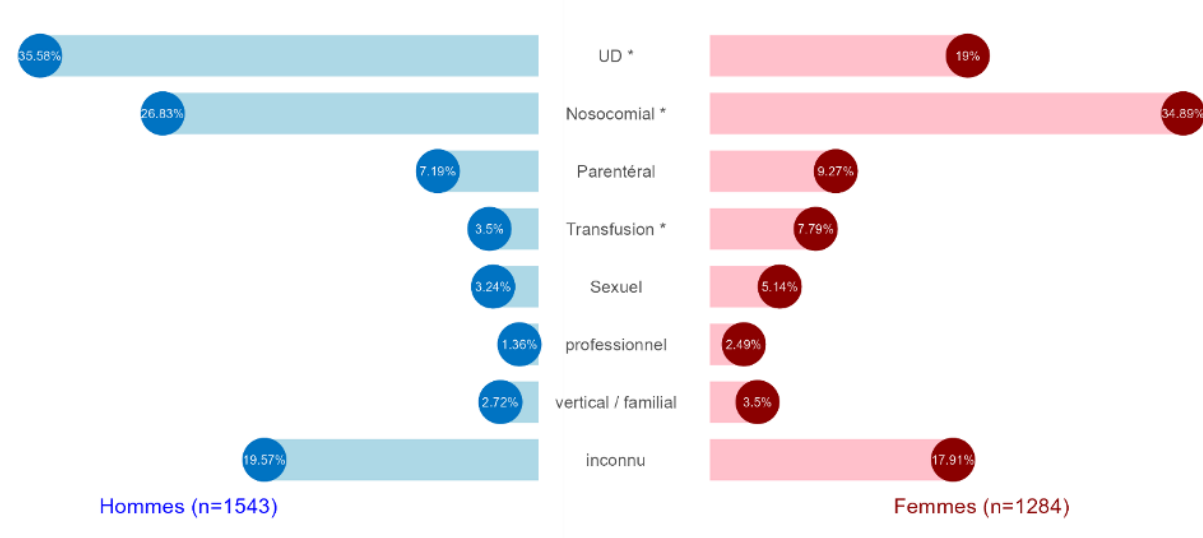


Figure 17 : Répartition des facteurs de risque hiérarchisés retrouvés chez les nouveaux donneurs VHC+ interrogés lors de l'entretien post-don (1998-2023 ; n=2 827) (UD : Usage de drogue ; * Différence significative entre donneurs masculins et féminins, après correction de Bonferoni)

Globalement, pour les donneurs ayant été interrogés sur leur(s) facteur(s) de risque, le facteur de risque principal chez les nouveaux donneurs de sang de sexe masculin était l'usage de drogue alors que chez les donneurs sang de sexe féminin il s'agissait d'un risque nosocomial (**Figure 17**). Toutefois, on note une diminution du risque toxicomanie chez les hommes durant la dernière décennie au profit du risque nosocomial (39% entre 1998 et 2010 et 27% entre 2011 et 2023). A noter que pour 18,8% des donneurs le facteur de risque n'était pas identifié. Chez les donneurs connus, l'usage de drogue était également le risque majeur chez les donneurs masculins, alors que les donneurs féminins, le risque nosocomial et le risque sexuel étaient tous deux majoritaires et en proportion équivalente (**Figure 18**).

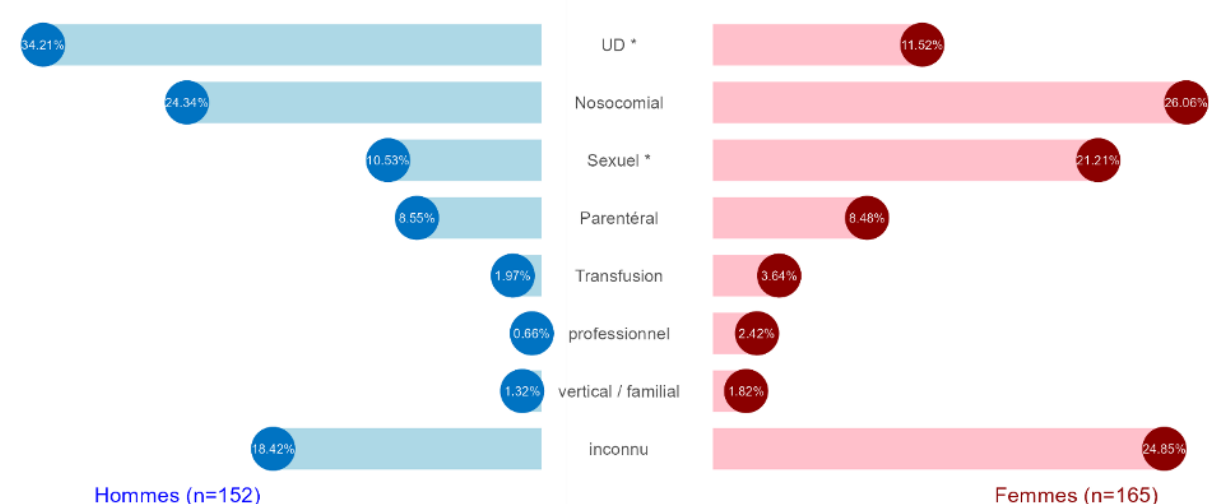


Figure 18 : Répartition des facteurs de risque hiérarchisés retrouvés chez les donneurs réguliers (connus) VHC+ interrogés lors de l'entretien post don (1998-2023 ; n=317) (UD : Usage de drogue ; * Différence significative entre donneurs masculins et féminins, après correction de Bonferoni)

Sur la période 2000-2023, le laboratoire a reçu 3 283 échantillons de donneurs VHC positifs. On note une chute progressive de la proportion des donneurs virémiques avec une réduction de plus moitié entre 2001-2003 et 2022-2023 (**Figure 19**).

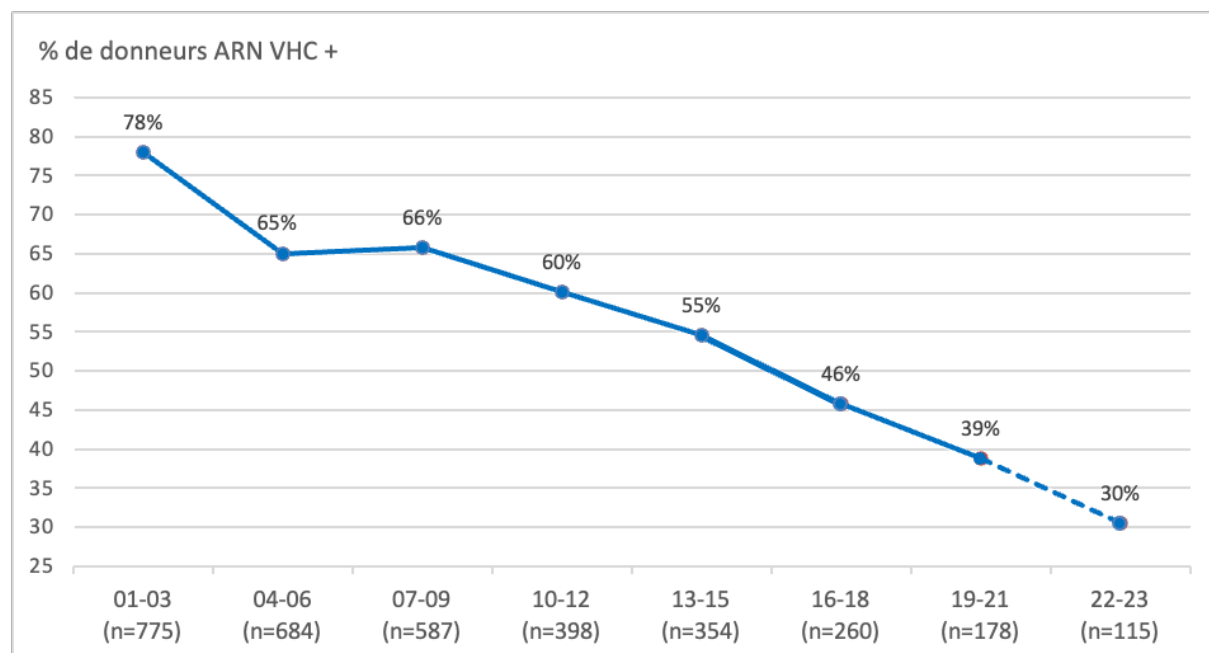


Figure 19 : Évolution de la proportion de donneurs virémiques (sur la base du DGV) parmi des donneurs VHC positifs (mi 2001-2023)

Sur la période 2001-2023, seuls 8 échantillons ont fourni des résultats discordants entre DGV et PCR alternative.

Jusqu'en 2020, la détermination du génotype était réalisée sur chaque échantillon virémique par hybridation inverse en première intention (VERSANT HCV GENOTYPING ASSAY LiPA 2.0, Siemens) et en cas de résultat non concluant, par séquençage d'un fragment d'environ 340 paires de bases de la région NS5B. Depuis 2021, le séquençage des échantillons VHC+ est réalisé par métagénomique, ce qui permet un séquençage sans a priori, avec obtention des génomes complets pour la plupart des échantillons. En cas d'échec, le séquençage de la région NS3 est réalisé. La répartition des génotypes était stable dans le temps (**Figure 20**), et il existait une différence significative dans la répartition des facteurs de risques en fonction des génotypes : les génotypes 1b et 2 étaient plus souvent retrouvés dans un contexte nosocomial alors que les génotypes 1a, 3a et 4 dans un contexte d'usage de drogues par voie intraveineuse ($p<0,001$) (**Figure 21**).

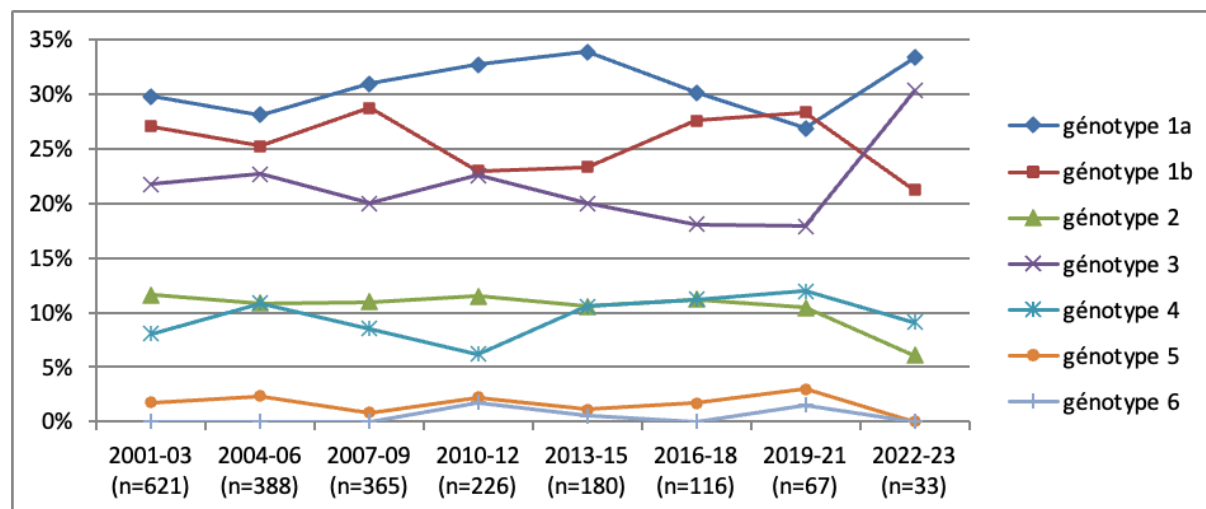


Figure 20 : Évolution des proportions relatives des génotypes du VHC chez les donneurs de sang virémiques pour la période 2000-2023 (n=2 222 soit 92,1% des 2 383 ARN positifs)

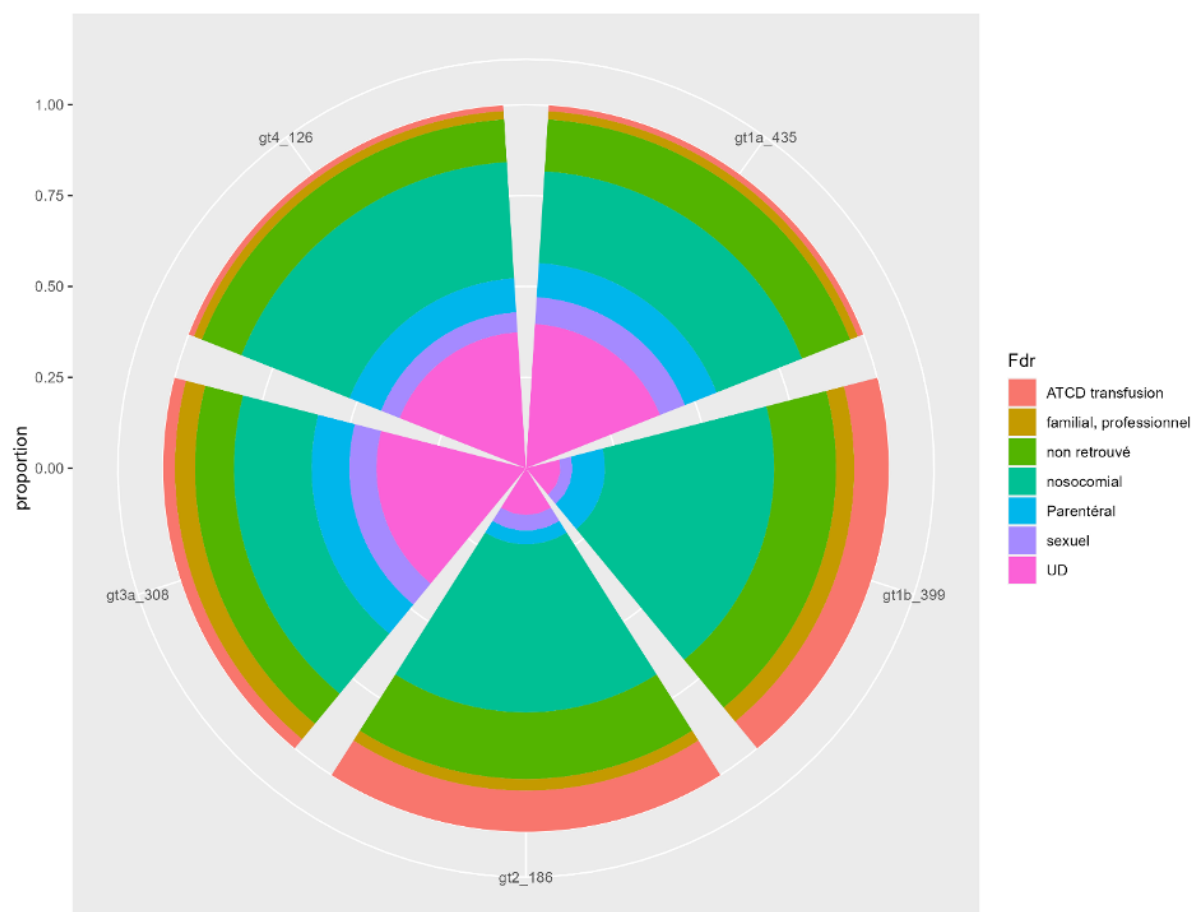


Figure 21 : Répartition des facteurs de risque du VHC (hiérarchisés) chez les donneurs de sang en fonction du génotype sur la période 2000-2023 (nombre de dons comptabilisés pour l'analyse indiqués après chaque génotype). Seuls les génotypes 1a, 1b, 2, 3a et 4 ont été pris en compte, les autres génotypes étant trop peu représentés

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

Surveillance de la résistance du VHC aux antiviraux à action directe (AAD). Depuis 2016, trois combinaisons pangénotypiques sont disponibles pour le traitement de l'infection par le VHC [SOF/VEL (SOF, sofosbuvir ; VEL, velpatasvir), SOF/VEL/VOX (VOX, voxilaprévir) et G/P (G, glécaprévir ; P, pibrentasvir]. Les antiviraux à action directe (AAD) permettent une guérison virologique dans plus de 95% des cas. Les échecs virologiques (principalement des rechutes) sont rares (2%-12%) (Inzaule *et al.*, Clin Infect Dis 2024), à l'exception des patients infectés par un génotype “non usuel”, en raison de la présence fréquente de substitutions amino acidiques (RAS, *resistance associated substitution*) en particulier au niveau du gène *NS5A*. Par conséquent, une détermination du profil de résistance est indiquée chez les patients infectés par un sous-type “non usuel” avant la mise sous traitement par AAD.

Vingt-deux laboratoires répartis sur le territoire national nous ont fait parvenir des échantillons collectés chez des patients naïfs de traitement originaires d'Afrique ou d'Asie ou en échec de traitement pour la détermination des profils de résistance à l'aide de la trousse Sentosa SQ HCV Genotyping Assay version 2.0 (Vela Diagnostics GmbH). Au total, 79 patients (âge moyen 56,1±13,8 ans, 72% d'hommes) ont été analysés en 2024 incluant 37 patients naïfs de traitement et 42 en échec d'un ou plusieurs traitements. La charge virale moyenne était de 5,9±0,9 log₁₀ UI/mL. La distribution des génotypes était la suivante : 51% de génotype 1 (n=40), 24% de génotype 3 (n=19), 14% de génotype 4 (n=11), 6% de génotype 2 (n=5), 1% de génotype 6 et 4% de souches recombinantes 2k/1b (n=3). Les traitements antiviraux chez les patients en échec, disponibles pour 26 patients, étaient G/P±SOF (n=5), SOF/VEL (n=17) ou pegIFN plus ribavirine (n=2). Deux patients avaient bénéficié de 2 traitements antérieurs, respectivement SOF/VEL puis G/P et SOF/LDV (LDV, lédipasvir) puis SOF/VEL.

Par séquençage haut débit, 70,9% (56/79) des patients avaient une ou plusieurs substitutions amino acidiques dans 1 (n=43 patients), 2 (n=10 patients) ou 3 (n=3 patients) régions ciblées par les AAD. Plus de la moitié des patients (50,6%) avaient une ou plusieurs RAS dans le gène *NS5A*. Les positions les plus fréquemment mutées étaient les positions 30, 31 et 93 du gène *NS5A* (Tableau 7).

Tableau 7 : Profil de résistance des patients naïfs et en échec de traitement aux AAD

	Sentosa SQ HCV Genotyping Assay 2.0		
	NS3	NS5A	NS5B
Proportion of Pts with RAS, [% (n)]	36,4% (28)	50,6% (39)	6,5% (5)
RAS (n)			
Single mutant	23	20	5
Double mutants	4	11	0
Triple mutants	1	7	0
Quadruple	0	1	0
Most frequent RAS (position, n)	36 (V36L ; n=10) 56 (Y56F ; n=5) 80 (Q80L/Q/R ; n=7) 122 (S122G/T/N ; n=7)	30 (Q/L/A30K/R/C/S ; n=16) 31 (L/M31M/V/I/F ; n=17) 62 (E/Q/S62D/L ; n=10) 93 (Y93H/N ; n=15)	237 (E237G ; n=1) 282 (S282T ; n=1) 316 (C316Y/N ; n=2) 321 (V321I ; n=1)

Surveillance de la résistance du VHB aux analogues nucléos(t)idiques. En ce qui concerne la surveillance de la résistance du VHB aux analogues nucléos(t)idiques [entécavir (ETV), ténofovir disoproxil (TDF) ou ténofovir alafénamide (TAF)], 12 laboratoires répartis sur le territoire national et les DROM (Martinique et Polynésie Française) nous ont fait parvenir des échantillons collectés chez des patients en échec de traitement. La détermination des profils de résistance a été réalisée après amplification d'une portion des gènes partiellement chevauchants *P/S*, cibles des analogues nucléos(t)idiques. Au total, 34 patients (âge moyen 49±14,9 ans, 73,5% d'hommes) ont été analysés. La charge virale (ADN VHB) moyenne était de 5,2±1,8 log₁₀ UI/mL. La répartition des génotypes était la suivante : 50% de génotype E (n=17), 29,4% de génotype D (n=10), 17,6% de génotype A (n=6) et 3,0% de génotype C (n=1). Les traitements antiviraux, disponibles pour 27 patients en échec de traitement,

étaient l'ETV (n=9), le TDF (n=5), le TDF en association avec l'ETV (n=5), le ténofovir disoproxil en association avec l'emtricitabine (TDF/FTC ; n=1), le TAF/FTC avec ou sans ETV (n=6) et la combinaison ETV plus lamivudine (LAM ; n=1).

Par séquençage direct, 26,5% (9/34) des patients avaient une ou plusieurs substitutions amino acidiques (RAS, *resistance associated substitution*) associées ou non à des mutations compensatoires sous forme de simple (n=3 patients), double (n=1 patient), triple (n=4 patients) ou quintuple (n=1 patient) mutants. Les positions les plus fréquemment mutées étaient les positions 204 (rtM204V/I/L/M, n=5 patients), 163 (rtI163V, n=4 patients) et 180 (rtL180M, n=2 patients) (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Profil de résistance des patients en échec de traitement par analogues nucléos(t)idiques

	“Population sequencing” (in-house method)
Proportion pf Pts with RAS, [% (n)]	26,5% (9)
RAS (n)	
Single mutant	3
Double mutants	1
Triple mutants	4
Quintuple mutants	1
Most frequent RAS (position, n)	204 (M204V/I/L/M; 5 patients) 163 (I163V; 4 patients) 180 (L180M; 2 patients)

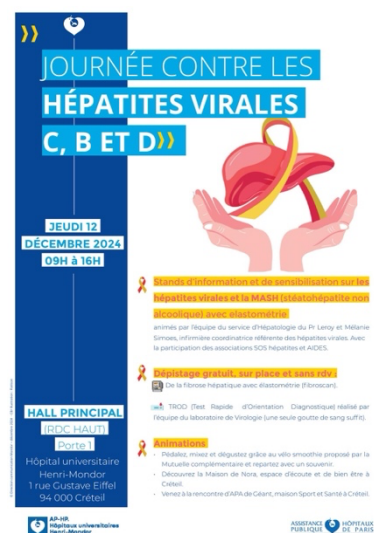
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

L'intégralité de la surveillance épidémiologique des donneurs de sang et l'analyse des donneurs positifs pour les infections à VHB et VHC, sont générées à partir des données fournies par les opérateurs (EFS, CTSA). Le CNR coordonnateur contribue également aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens et internationaux : *European Blood Alliance* (EBA) ou *International Society of Blood Transfusion* (ISBT).

Le laboratoire associé delta participe aux activités du réseau international *Hepatitis delta International Network* (HDIN) coordonné par le Professeur Heiner Wedemeyer (Hannover Medical School, Germany). Ce réseau international se réunit régulièrement en marge des congrès annuels d'Hépatologie que sont l'EASL Congress organisé par l'EASL (*European Association for the Study of the Liver*) et The Liver Meeting organisé par l'AASLD (*American Association for the Study of Liver Diseases*), ou plus spécifiquement sur la "thématique delta" le Delta Cure Meeting organisé depuis 2022. Des réunions en visioconférence ont également lieu à une fréquence de 2 par an.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Dépistage des hépatites virales. Une journée de dépistage des hépatites virales a été réalisée le jeudi 12 décembre 2024 dans le hall de l'hôpital Henri Mondor à l'initiative du Service d'Hépatologie en partenariat avec le CNR Virus des Hépatites B, C et delta. Un test de diagnostic rapide pour l'AgHBs (TOYO HBsAg Rapid Test, TürkLab) et les anticorps VHC (OraQuick HCV Rapid Antibody Test, OraSure) étaient proposés à tout individu (personnel, consultant, accompagnant, patients hospitalisés) souhaitant se faire dépister. En parallèle, des brochures relatives aux hépatites virales étaient mises à disposition, ainsi qu'une évaluation de l'élasticité du foie à l'aide d'un FibroScan® pour les sujets qui le souhaitaient. Au total, 239 individus (8 patients hospitalisés, 80 consultants, 54 accompagnants/visiteurs, 4 étudiants et 89 personnels) ont été dépistés (âge médian 53 ans, 36,4% d'hommes). Aucun individu n'a été dépisté positif pour l'un ou l'autre des virus. Parmi les 46 sujets ayant bénéficié d'une élastométrie, 14 avaient une stéatose (accumulation de graisses).



Dépistage des hépatites B et C (et du VIH) dans la population cristolienne (Créteil SANS virus). Si le dépistage de l'infection par le VIH est recommandé chez tous les adultes au moins une fois dans l'existence (hors risque d'exposition à un risque de contamination), ce n'est hélas pas le cas pour les virus des hépatites B et C. Néanmoins, l'élargissement de la stratégie de dépistage en combinant les 3 virus (VHB, VHC et VIH) aux adultes, âgés de plus de 40 ans n'ayant pas été testés auparavant est recommandé par la société française d'hépatologie (AFEF) si l'on veut envisager l'élimination des virus d'hépatites B et C. Agir au niveau du territoire semble être actuellement l'échelon le plus pertinent. Il permet d'agir directement sur le terrain de façon efficace comme cela a été démontré dans de nombreuses villes ou agglomérations qui ont avec succès expérimenté cette approche. La proportion d'individus méconnaissant leur statut est importante (82.5% dans le cas de l'hépatite B et de 19% dans

le cas de l'hépatite C au niveau national d'après les données de l'enquête Baromètre Santé 2016 – Volet virologique BaroTest) et le nombre de sujets restant à dépister s'élève à plusieurs dizaines de milliers en Ile-de-France. L'objectif de cette étude est d'améliorer le recours au dépistage des infections par le VHB, le VHC et le VIH dans la population cristolienne >40 ans sans antécédent dépistage au cours de l'année précédente et de proposer aux sujets nouvellement dépistés positifs une prise en charge rapide et efficace grâce à un parcours de soins simplifié. Elle implique le réseau de médecins généralistes (MG) de la CPTS Unifiée des Boucles de Marne et les pharmaciens d'officine et est proposée à tous les habitants de Créteil >40 ans non connu comme infectés par l'un des 3 virus et sans dépistage documenté dans l'année précédente. Un article est paru dans le magazine de la ville "Vivre Ensemble" au mois de Mars 2024 afin de sensibiliser la population cristolienne au dépistage des hépatites virales et du VIH (réalisée en partenariat avec la mairie de Créteil). Des trousses d'auto-prélèvement buvard ont été remises aux MG et pharmaciens d'officine, qui colligent pour chaque participant un certain nombre d'informations socio-démographiques et cliniques. Le prélèvement est réalisé au domicile par le patient et envoyé par voie postale au laboratoire de virologie du GH Henri Mondor. En 2024, 17 individus ont été dépistés, majoritairement des femmes (58,8%), âgés de 57 ans (IQR : 54-66). Aucun individu n'a été dépisté positif pour l'un ou l'autre des virus.

4. Alertes

Transmission nosocomiale du VHC au sein du service de Rhumatologie du GH Henri Mondor. Au mois d'août 2024, une suspicion nosocomiale du VHC impliquant 2 patients dans le service de Rhumatologie a été signalée. Dans le cadre d'un bilan systématique, un cas de séroconversion VHC a été constaté chez une patiente âgée de 85 ans et prise en charge dans le service de Rhumatologie pour une arthrite septique de hanche avec découverte d'une endocardite sur son implantation de valve aortique par voie percutanée (TAVI). Lors de son hospitalisation, la patiente a bénéficié d'un changement de prothèse totale de hanche (PTH) et a été transfusée de 2 culots globulaires. En avril, une cytolysé hépatique est constatée. Le bilan hépatique montrera une séroconversion VHC de génotype 3a. Les investigations ont permis d'identifier un patient source probable, seul patient ayant une charge virale VHC positive hospitalisé pendant la même période dans le service de Rhumatologie. Les études génétique et phylogénique réalisées au niveau de 3 régions (NS5B, E1 et HVR1) ont montré que le génotype viral était identique chez les 2 patients (génotype 3a, **Figure 4**). Les séquences nucléotidiques avaient de forts pourcentages d'homologie, et ce quelle que soit la région du génome viral considérée (respectivement, 98,2%, 96,5% et 82,7%).

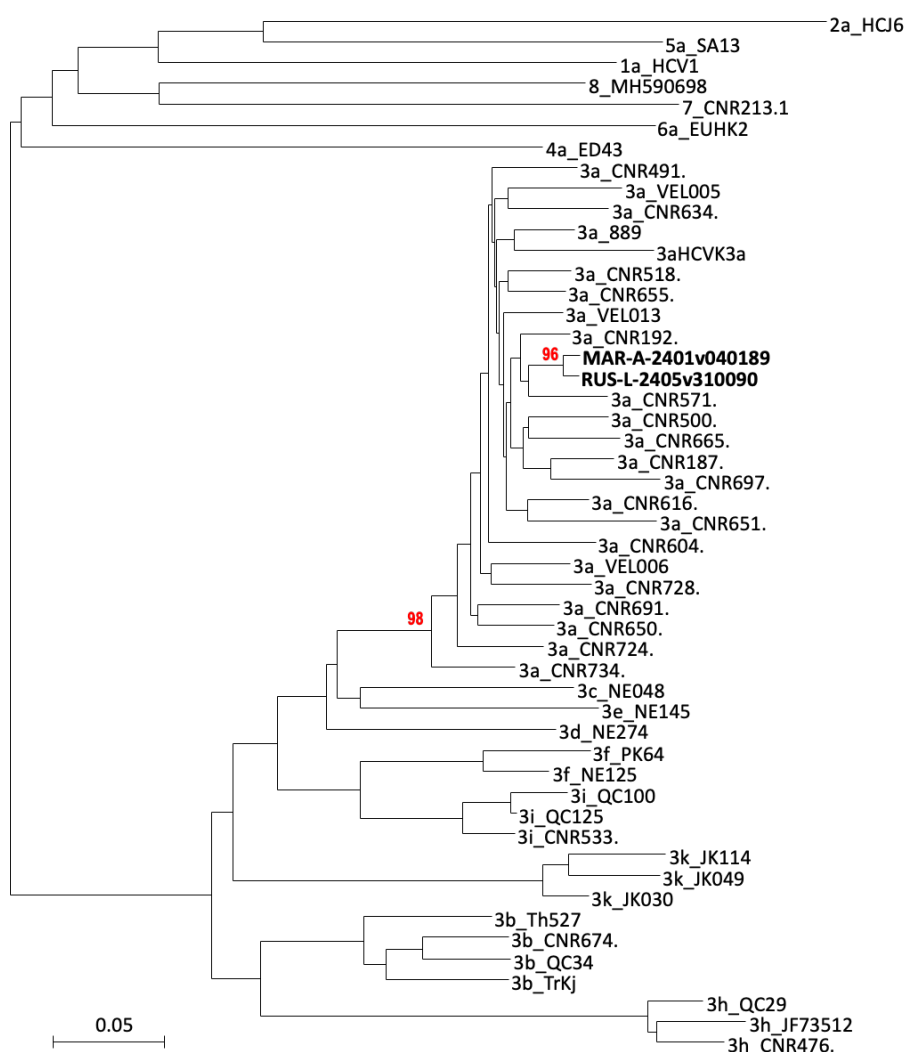


Figure 4 : Génotype et sous-type du VHC déterminés par phylogénie d'une portion de la région NS5B (286 nucléotides). Analyse réalisée par DNADist (PHYLP 3.65), Kimura-2 parameter, Ts/Tv 2.0

Défaut de quantification de la trousse AltoStar HDV RT-PCR v1.0. Le laboratoire associé a poursuivi ses échanges avec les équipes du département R&D de la société Altona pour tenter de comprendre la cause du défaut de

quantification observé vis-à-vis de certaines souches VHD (alerte signalée en 2023). Pour rappel, seules quelques souches appartenant au même sous-groupe du génotype HDV-1 et circulant en Afrique centrale (Cameroun et Centrafrique) étaient concernées (**Tableau 9**). La concordance des séquences des amorces et sondes était de 100%. Une modification des conditions de PCR, et l’ajout d’une nouvelle amorce dans les troussees RealStar et AltoStar avaient permis de restaurer une bonne efficacité d’amplification.

Tableau 9 : Résultats de quantification de l’ARN VHD avec les différentes troussees sur les 3 souches du panel pangénotypique du CNR

Échantillon	Génotype	EurobioPlex EBX-071 (log ₁₀ UI/mL)	RealStar® v1.0 (log ₁₀ UI/mL)	AltoStar® v1.0 (log ₁₀ UI/mL)	AltoStar® v2.0 (log ₁₀ UI/mL)
Pt-1	HDV-1 Afr	2,51	1,42	0,21	2,13
Pt-2	HDV-1 Afr	3,31	0,90	0,03	2,28
Pt-3	HDV-1 Afr	4,27	1,26	0,23	3,19

Les séquences exactes des amorces et sondes utilisées dans leurs troussees ont été obtenues. Afin de rechercher si la structure secondaire de l’ARN du VHD de ces souches pouvait être la cause du problème, nous avons utilisé le logiciel *RNAFOLD*. Ce dernier permet d’identifier la structure secondaire la plus stable (à l’état de repos, l’ARN du VHD se présentant sous une forme pseudo-double brin ; des structures secondaires plus instables, transitoires, sont nécessaires lors des étapes de réplication). Les amorces et sondes ont été positionnées sur les structures obtenues (**Figure 5**). Au final, nos analyses n’ont pas permis d’expliquer pourquoi certaines souches virales étaient sous-quantifiées par les premières versions des troussees Altona. Les versions 2.0 des troussees RealStar® et AltoStar® sont désormais distribuées.

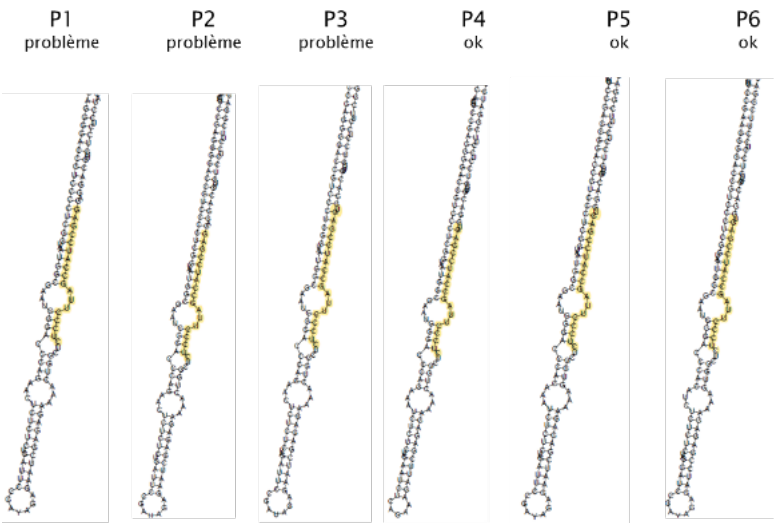


Figure 5 : Exemple de structure secondaire obtenue pour les souches problématiques (P1 à P3) ou correctement amplifiées (P4 à P6), avec la position d’une des amorces (données confidentielles)

Détection de l’ARN VHD chez des patients séronégatifs pour le delta. Vingt-huit patients originaires de Gambie séronégatifs pour le VHD (LIAISON® XL murex Anti-HDV ; DiaSorin) avaient un ARN détectable (communication orale, 2^{ème} Delta Cure Meeting, 5-6 October 2023, Hannover). La question d’un éventuel défaut de sensibilité de la trousse sérologique DiaSorin a été posée, et notamment le risque de non-détection éventuelle d’un sous-génotype circulant en Afrique de l’Ouest. Le laboratoire associé delta a été missionné pour investiguer ces résultats “atypiques”. Des analyses complémentaires ont été demandées à l’équipe de Gambie, mais ne sont toujours pas concluantes. Le laboratoire associé delta a entrepris en 2024 de réaliser rétrospectivement une recherche systématique de l’ARN VHD sur une collection de 914 échantillons AgHBs-positif, collectés au Sénégal, pays voisin de la Gambie, lors d’une précédente collaboration (étude SEN-B ; **Figure 6**). Les prélèvements avaient été collectés entre 2019 et 2023.



Figure 6 : Carte de la Gambie et du Sénégal, en Afrique de l'Ouest

Parmi ces 914 échantillons, 13 avaient préalablement été identifiés avec une sérologie VHD positive, dont 8 étaient également ARN VHD positif (6 VHD-5, 1 VHD-1 et 1 VHD-7). Les 901 échantillons séronégatifs pour le VHD avec le test LIAISON XL murex Anti-VHD ont fait l'objet d'une recherche systématique de l'ARN VHD, par PCR qualitative ciblant la région « *R0* » conservée du génome VHD. Aucun échantillon n'a été trouvé positif pour l'ARN VHD dans cette cohorte, ce qui rend peu probable l'hypothèse d'une circulation, en Afrique de l'Ouest, de variants du VHD faussement négatifs à l'aide de la trousse LIAISON XL murex Anti-VHD.

Réactivité faussement négative d'un test immunologique basé sur le principe de la chimiluminescence. Un variant VHB de génotype A2 présentant un schéma complexe inhabituel de mutations à l'intérieur/extérieur de la région immunodominante de la protéine virale de surface S, a été associé à un échec de la détection de l'AgHBs par le test rapide HBsAg Determine et le test Alinity i HBsAg qualitative II (Abbott), tout en étant détectable par d'autres tests immunoenzymatiques. La caractérisation de la mutation ou de la combinaison de mutations responsables de la réaction faussement négative de cet échantillon est en cours. Pour cela, une approche de mutagenèse dirigée et la production d'AgHBs mutés en culture de cellules de lignée hépatocytaire transfectées est utilisée. Les résultats préliminaires indiquent que la séquence seule n'a qu'une faible valeur prédictive pour extrapoler les résultats des tests sérologiques sans investigations fonctionnelles. Les résultats suggèrent également que l'efficacité de la détection des variants de l'AgHBs est très probablement liée à la polyvalence des anticorps, monoclonaux ou polyclonaux, utilisés dans les tests sérologiques commerciaux, et soutiennent l'utilisation de différents tests dans les algorithmes de confirmation des dons de sang présentant des divergences dans le dépistage de l'AgHBs et l'ADN du VHB.

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

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Les formations dispensées aux professionnels de santé se répartissaient comme suit :

- **Accueil de stagiaires**
 - . Rolar Matar, étudiante en Thèse Université à l'IMRB
 - . Arnaud Ly, étudiant en thèse Université à l'IMRB
 - . Taylor Thompson, étudiante en thèse Université à l'IMRB
 - . François Navaratnam, étudiant en Licence Professionnelle Microbiologie Industrielle & Biotechnologies (proMIB), Université Paris
 - . Sezen Zheng, étudiante en Bachelor Universitaire de Technologie Génie Biologique (IUT de Créteil)
- **Webinaires**
- **Référentiels/guides**
 - . Chapitres "How to Test for Hepatitis D Virus infection? Evidence and rationale informing" et "Who to test for Hepatitis D virus infection? Evidence and rationale informing" – Recommandations OMS (rédaction en 2024, parution à venir en 2025) (Frédéric Le Gal)
 - . Chapitre "VHC" dans la nouvelle édition du Traité de Virologie Médicale (rédaction et correction des textes en 2024, édition à paraître en 2025) (Stéphane Chevaliez & Jean-Michel Pawlotsky)
 - . Chapitre "VHD" dans la nouvelle édition du Traité de Virologie Médicale (rédaction et correction des textes en 2024, édition à paraître en 2025) (Ségolène Brichler)
- **Site internet dédié au CNR Virus des Hépatites B, C et delta**
<https://www.vhc-henrimondor.com/centre-national-de-referencedes-hepatites-b-c-et-delta/mission-de-service-public/>

Le CNR (laboratoires coordonnateur et associé) est très régulièrement sollicité (messagerie électronique : cnr.hepatites-bcd@aphp.fr, téléphone) pour des conseils aux professionnels de santé (cliniciens, biologistes des laboratoires publics et privés). Le volume de cette activité est très difficilement quantifiable. Une adresse de messagerie sécurisée (cnr-hepatite-delta.avc@aphp.mssante.fr) a été mise en place par le laboratoire d'Avicenne pour faciliter les échanges avec les professionnels de santé, dans le respect de la confidentialité des identités et des données des patients.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Stéphane Chevaliez assure les fonctions suivantes :

- . Coordination du groupe Hépatites Virales du Réseau de Virologie et Pharmacologie Médicale de l'ANRS-MIE (Agence Nationale de Recherche sur le SIDA, les Hépatites Virales et Maladies infectieuses Émergentes) (AC43).
- . Membre expert du Viral Hepatitis Prevention Board (VHPB)
- . Membre du groupe HBV Cure de l'ANRS-MIE

Jean-Michel Pawlotsky assure les fonctions suivantes :

- . Membre du comité de coordination de la Task Force HBV Cure de l'ANRS-MIE
- . Membre du groupe Hépatites Virales du Réseau de Virologie et Pharmacologie Médicale de l'ANRS-MIE (AC43)

Slim Fourati assure les fonctions suivantes :

- . Membre élu de la Commission Scientifique Spécialisée (CSS) 5 “Immunologie, Microbiologie, Infection”
- . Membre du groupe HBV Cure de l’ANRS-MIE

Dominique Challine assure les fonctions suivantes :

- . Membre du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP), groupe de travail permanent sur la Sécurité des Éléments et Produits du Corps Humain (Cesproh)
- . Membre de l’agence de Biomédecine (ABM) : groupe greffes dérogatoires

Pierre Cappy assure les fonctions suivantes :

- . Participation au groupe de travail Secproch (HCSP) relatif à la sécurité des produits originaires du corps humain (greffe – transfusion)
- . Membre du Comité de Sécurité Transfusionnelle et d’Hémovigilance central de l’APHP

Daniel Candotti assure les fonctions suivantes :

- . Coordination du Virology subgroup of the Transfusion-transmitted Infectious Diseases Working Party of the International Society of Blood Transfusion (ISBT)

Sékolène Brichler assure les fonctions suivantes :

- . Membre du groupe Hépatites Virales du Réseau de Virologie et Pharmacologie Médicale de l’ANRS-MIE (AC43)
- . Membre du groupe Traitement des hépatites B et D de l’ANRS-MIE (AC45)
- . Membre expert pour le VHD “WHO Guidelines on prevention, diagnosis, care and treatment of chronic hepatitis B infection”
- . Membre du Comité de Pilotage de l’observatoire BuleDelta/HepDelta
- . Membre de la Commission Médicale d’Établissement (CMEL, GH Avicenne)

Frédéric Le Gal assure les fonctions suivantes :

- . Membre de l’AC45 de l’ANRS
- . Membre expert pour le VHD “WHO Guidelines on prevention, diagnosis, care and treatment of chronic hepatitis B infection”

Emmanuel Gordien assure les fonctions suivantes :

- . Membre du Conseil Scientifique de l’observatoire BuleDelta/HepDelta
- . Membre du groupe Hépatites Virales du Réseau de Virologie et Pharmacologie Médicale de l’ANRS-MIE (AC43)

Dominique Roulot assure les fonctions suivantes :

- . Membre de l’AC45 de l’ANRS
- . Présidente du Comité Scientifique de l’observatoire BuleDelta/HepDelta

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

Sans objet.

6. Travaux de recherche et publications

6.1 Activités de recherche en cours 2024, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Les thématiques de recherche dans les domaines d'expertise du laboratoire coordonnateur se répartissent en 3 axes complémentaires qui couvrent largement les champs de la virologie des hépatites virales, de l'investigation technologique à la recherche clinique et translationnelle. Ces axes sont l'expertise technologique (développement, standardisation et évaluation des performances des tests et nouvelles technologies), l'épidémiologie moléculaire (surveillance des types circulant, études interventionnelles de santé publique), et la recherche clinique et translationnelle (variabilité génétique, mécanisme de résistance aux antiviraux).

Axe 1 : Expertise technologique. Le développement, la standardisation, l'évaluation des performances intrinsèques et des indications des tests virologiques ont donné lieu à de nombreuses publications en 2023, et ce dans des journaux à fort facteur d'impact (*Journal of Clinical Virology*, *Journal of Antimicrobial Therapy*, ...) (Cf. Liste de publications).

Axe 2 : Épidémiologie moléculaire. Le laboratoire hospitalier est le "partenaire privilégié" de l'agence nationale de santé publique (SpF) à travers les enquêtes permettant l'évaluation des données de prévalence et d'incidence des hépatites virales dans la population générale ou dans certaines populations particulières à l'aide d'outils virologiques tels que les buvards (spots de sang séché) ou des tests rapides immunologiques ou moléculaires (biologie délocalisée). Un accent tout particulier est mis sur le développement de projets de micro-élimination des hépatites virales avec des actions au niveau de la population cristolienne ("Créteil sans hépatites") et de services de soins (service d'Accueil des Urgences), et ce en lien avec les services d'Hépatologie du GH Henri Mondor et du Centre Intercommunal de Créteil (CHIC), d'Immunologie Clinique, des Urgences et la ville de Créteil, ainsi que des médecins généralistes et pharmaciens d'officine via la Communauté Professionnelle Territoriale de Santé (CPTS) Unifiées des Boucles de Marne. La surveillance des patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite chronique B en partenariat avec les centres experts (FPRH) et les services d'Hépatologie des Hôpitaux Généraux (ANGH). La cartographie des génotypes et sous-types du VHC à travers un réseau de laboratoires de virologie et de services d'hépatogastroentérologie a été initiée.

Axe 3 : Recherche clinique et translationnelle. L'échec thérapeutique et la résistance du VHB, du VHC et du VHD aux antiviraux constituent l'une des principales thématiques du laboratoire et de l'équipe INSERM, qui accueille les membres du CNR coordonnateur et du CNR associé, à la fois dans ses aspects cliniques et plus fondamentaux, avec un intérêt tout particulier pour les mécanismes sous-tendant l'efficacité et l'échec thérapeutique et le rôle de la résistance antivirale dans l'échec thérapeutique. Sur le plan plus fondamental, le laboratoire s'intéresse également au développement de nouvelles approches thérapeutiques à large spectre et aux mécanismes des lésions hépatiques, à l'aide de différents modèles murins et transgénique et de modèles cellulaires. On peut également souligner un axe de recherche à propos des infections VHB occultes à partir de souches de génotypes B et C chez des adultes immunocompétents vaccinés et anticorps HBc négatifs. Les thématiques de recherche dans les domaines d'expertise du laboratoire associé delta se focalisent essentiellement sur des enquêtes visant à évaluer la prévalence de l'hépatite delta et de l'hépatite B, de caractériser les souches virales sur le plan moléculaire d'une part, et de préciser l'origine du VHD (horloge moléculaire) d'autre part. Un axe également important est le rôle du VHD dans la progression de la maladie hépatique.

Caractérisations génomique et phénotypique des mutations de résistance conférant une diminution de sensibilité du VHD au bulévirtide. Le transporteur d'acides biliaires NTCP (*sodium taurocholate co-transporting polypeptide*) quasi-exclusivement exprimé à la membrane basolatérale des hépatocytes est le récepteur d'entrée du VHB et VHD. Le bulévirtide (BLV) bloque la liaison de preS1 au NTCP au niveau des régions amino acides 84-87 et 157-165. L'efficacité et la bonne tolérance du BLV ont été rapportées dans des essais cliniques de phase 2 et 3. Par conséquent, le BLV a obtenu une approbation conditionnelle de l'Agence européenne des médicaments (EMA) en 2020 pour le traitement de l'infection chronique delta chez des patients ayant une maladie hépatique compensée. En "vie réelle", le bulévirtide induit une réduction des niveaux d'ARN VHD au cours du temps et une normalisation des transaminases chez une proportion substantielle de patients après 12 mois de traitement. La proportion de patients présentant une réponse virologique (définie comme un ARN VHD indétectable ou une diminution >2 Log par rapport à

la valeur pré-thérapeutique) était de respectivement de 68% et 94% dans le groupe de patients recevant le BLV en monothérapie ou recevant la combinaison BLV plus pegIFN. Les objectifs de cette étude sont premièrement la caractérisation génomique des génomes complets du VHD et du VHB à l'aide d'une méthode basée sur le séquençage nouvelle génération récemment développée dans le laboratoire en partenariat avec le laboratoire d'Avicenne (Oxford Nanopore technology) à partir d'échantillons de patients inclus dans le programme d'accès compassionnel. L'analyse se concentrera sur différentes régions y compris les gènes codant preS1, l'antigène delta et le cotransporteur d'acides biliaires NTCP, et ce chez des non-répondeurs et des patients ayant une réponse virologique. Deuxièmement, les motifs d'intérêt identifiés à l'étape précédente seront insérés dans des plasmides par mutagenèse dirigée et transfectés dans des cellules humaines d'hépatomes afin de produire des particules delta. La sensibilité des mutants au bulévirtide sera évaluée par la détermination des EC50 et la mesure de la capacité réplique en comparaison des souches sauvages.

Activité antivirale des inhibiteurs de cyclophilines sur le virus de l'hépatite delta. Les cyclophilines sont une famille de protéines ayant une activité de peptidyl-propyl *cis-trans* isomérase (PPlase). Certaines d'entre elles sont utilisées par les virus dans leur cycle de multiplication, représentant ainsi une cible intéressante pour une approche antivirale à large spectre. Le laboratoire a découvert il y a plusieurs années une nouvelle famille de petites molécules ayant une activité inhibitrice puissantes vis-à-vis des cyclophilines sans activité immunosuppressive contrairement à la ciclosporine A (Ahmed-Belkacem *et al.*, Nat Commun 2016). Au total, 4 inhibiteurs ont été sélectionnés (F832, F833, F83233 et F836) afin d'évaluer leur activité antivirale vis-à-vis du VHD, seul et en association avec le bulévirtide ou l'alisporivir.

Étude de la protection sous-optimale contre l'infection par le virus de l'hépatite B chez les personnes vaccinées : analyse moléculaire et fonctionnelle des variants viraux et des anticorps neutralisants. La vaccination universelle à la naissance, lorsqu'elle est mise en œuvre, a montré une grande efficacité pour réduire la prévalence de l'hépatite B chronique. Cependant, des infections par le VHB en absence de symptômes cliniques ont été observées chez des personnes vaccinées et présentant des niveaux détectables d'anticorps dirigés contre l'antigène de surface (anti-HBs) du virus de l'hépatite B (VHB), et pouvant éventuellement conduire à une infection occulte par le VHB caractérisée par la persistance d'un ADNccc viral fonctionnel dans le foie. La prévalence, la physiopathologie, l'évolution à long terme et les facteurs viraux et hôtes associés à ce type d'infections restent largement inconnus. Néanmoins, cet échec immunoprophylactique semble fréquemment associé à des souches de VHB de génotypes/sérotypes différents de celui utilisé dans le vaccin. Cela suggère que la capacité des anticorps induits par le vaccin à neutraliser l'infection peut être réduite par des variations antigéniques spécifiques associées à différents génotypes/sérotypes du VHB. Une étude collaborative internationale est menée pour estimer la prévalence et les facteurs viraux et immunologiques associés aux infections B chez les donneurs de sang vaccinés. Les donneurs de sang sont utilisés en tant que population sentinelle systématiquement testée pour le VHB en dehors du domaine clinique. Cette étude collaborative implique des laboratoires en Europe et en Chine afin d'étudier un large éventail de génotypes/sérotypes du VHB dans différents contextes épidémiologiques. Des échantillons de plasma de donneurs vaccinés, anti-HBs positifs, et présentant une infection VHB aiguë ou occulte ont été sélectionnés. La diversité génétique du gène S des souches de VHB associées à un échec vaccinal est étudiée en utilisant un séquençage profond de troisième génération. Les séquences obtenues sont comparées à des séquences contrôles de génotypes équivalents afin d'identifier des mutations susceptibles d'entraîner des modifications structurales et fonctionnelles des protéines S et un éventuel échappement immunitaire. Les anti-HBs présents dans les plasmas de sujets vaccinés et infectés et de sujets contrôles non-infectés sont purifiés. L'activité neutralisante des anti-HBs contre des variants viraux autologues et hétérologues est testée dans un essai de neutralisation *in vitro* en utilisant le virus de l'hépatite D (VHD) portant à sa surface des mutants d'intérêt de la protéine S du VHB. Ces pseudotypes HDV sont produits en culture de lignées cellulaires hépatocytaires. Un test de liaison anticorps-virus est en développement comme substitut pour évaluer la capacité des anticorps présents chez les sujets infectés à se lier à différents variants S autologues et hétérologues. Le suivi des donneurs vaccinés infectés par le VHB permettra de documenter la progression à court et moyen terme de l'infection (autolimitée, chronique ou abortive) en suivant les marqueurs viraux sérologiques et moléculaires dans le plasma et l'évolution génétique du virus. La détermination de la prévalence de l'infection par le VHB chez les donneurs de sang vaccinés en tant que population sentinelle fournira des informations importantes sur l'efficacité à long terme des programmes de vaccination universelle en fonction des génotypes et des variants viraux en circulation. La caractérisation génétique et fonctionnelle de ces variants d'échappement sera utile pour améliorer la conception des vaccins contre le VHB, les protocoles d'immunisation et les futures stratégies immuno-thérapeutiques.

Suivi de l'évolution de l'infection B chronique et occulte chez les donneurs de sang infectés par des souches VHB de génotypes B et C. L'infection occulte par le VHB (OBI) constitue un risque de transmission transfusionnelle

du VHB associé à de faibles niveaux d'ADN viral, indétectables par les tests moléculaires et potentiellement infectieux. Les mécanismes viraux associés à l'OBI semblent être multifactoriels et mal compris, et le risque clinique à long terme chez les donneurs OBI est inconnu. Des donneurs présentant une infection B occulte confirmée par un test répété négatif de l'AgHBs et un séquençage partiel du génome du VHB ont été suivis afin d'évaluer l'évolution des marqueurs sérologiques et l'évolution génétique des souches infectantes du VHB. Pour cela, un programme de suivi des donneurs OBI a été mis en place dans le centre de transfusion sanguine de Dalian, en Chine. Des donneurs AgHBs+ ont été inclus dans le suivi en tant que témoins. Les donneurs ont été rappelés tous les 6 mois et un échantillon de sang total a été prélevé. L'AgHBs, les anti-HBc et les anti-HBs ont été testés avec des tests CLIA. La charge virale a été mesurée à l'aide d'une qPCR maison (LoQ : 20 IU/mL). Les particules virales ont été concentrées à partir de 6 mL de plasma par précipitation avec 12% de PEG. Le génome entier du VHB, les régions PreCore/Core, Pre-S/S et BCP ont été amplifiés et séquencés. Entre 2011 et 2023, des échantillons sanguins séquentiels (2-8/donneur) ont été prélevés chez 98 donneurs OBI et 15 témoins AgHBs+ sur une période moyenne respectivement de 56 mois (intervalle : 5-149) et 30 mois (intervalle : 13-67). Les donneurs OBI étaient à 79 % des hommes, avec un âge moyen de 38,5 ans (intervalle : 18-55), et 15% ont déclaré avoir été vaccinés contre le VHB. 56% étaient des donneurs de sang réguliers, 35% des nouveaux donneurs et 9% des donneurs de plaquettes. Les contrôles AgHBs+ n'ont pas montré de changements significatifs des marqueurs cliniques et virologiques. Pendant le suivi, les donneurs OBI avaient des niveaux d'ALAT constamment <50 IU/L et un AgHBs indétectable. Au premier prélèvement, 37% étaient uniquement anti-HBc+, 45% anti-HBc+/anti-HBs+, et 13% anti-HBc-/anti-HBs+, dont 4 ont séroconverti en anti-HBc, 4-64 mois plus tard. Une OBI primaire a été confirmée chez 4 donneurs. Aucun changement dans le temps des niveaux d'anti-HBs n'a été observé chez 37 (52%) donneurs (niveau médian : 40 IU/L [gamme : 10-1,000]), alors que l'anti-HBs était transitoirement détectable chez 19 (27%) donneurs, 9 (13%) donneurs ont montré une augmentation transitoire (≥ 5 fois), et 6 (8%) ont montré une séroconversion anti-HBs. Au fil du temps, l'ADN du VHB a été détecté de façon continue dans seulement 16% des OBI, de façon transitoire au moins deux fois dans 31% des cas, et seulement à l'inclusion dans 53% des cas. 22 OBI DGV non-réactifs durant le suivi ont été confirmées ADN positifs après concentration des particules virales. A l'index et au cours du suivi, la charge virale était indétectable ou <200 UI/mL chez les OBI. La charge virale médiane chez les témoins était de 117,5 UI/mL (intervalle : 43-3 x 10⁸). Au moins une séquence du VHB était disponible au moment de l'index et/ou au cours du suivi pour 76 (77,5%) OBI et 13 (87%) témoins. Les génotypes du VHB étaient B (12%), C (84%) et D (2%) chez les OBI, et B (85%) et C (15%) chez les témoins. La divergence des séquences amino acidiques pre-S/S chez un individu à deux intervalles de temps (intervalle : 8-91 mois) a été analysée chez 19 OBI dont 11 anti-HBs+. Les résultats ont montré une variabilité nucléotidique de 0 à 2% au fil du temps chez les OBI, indépendamment du statut anti-HBs. Une diversité intra-donneur similaire a été observée chez les témoins AgHBs+. Les variations des niveaux d'anticorps anti-HBs et d'ADN du VHB observées chez les OBI au fil du temps suggèrent un équilibre permanent entre la réplication virale et le contrôle immunitaire de l'hôte. Des taux comparables très limités de changements génétiques viraux au fil du temps ont été observés chez les donneurs OBI et non OBI. Aucun signe clinique indésirable n'a été associé à l'OBI au cours du suivi. Les particules contenant de l'ADN du VHB persistent à un niveau à peine détectable dans le sang et restent potentiellement infectieuses, ce qui plaide en faveur d'une exclusion permanente des donneurs porteurs d'OBI.

Étude de la complexité de la quasi-espèce génétique du gène S des variants viraux et le rapport entre les génomes fonctionnels et défectueux du VHB chez les donneurs présentant une infection occulte ou déclarée (AgHBs+) à l'aide de méthodes de séquençage de seconde et troisième génération. Le risque de transmission du virus de l'hépatite B (VHB) par transfusion dépend de facteurs techniques, de l'hôte et de facteurs viraux, y compris l'efficacité des tests de dépistage pour détecter les variantes virales et l'équilibre entre les génomes viraux fonctionnels et défectueux dans le sang des donneurs infectés. Le séquençage de nouvelle génération (NGS) offre la possibilité d'explorer directement la génétique de populations virales complexes chez les personnes infectées, malgré une sensibilité limitée et la nécessité de recourir à des pipelines d'analyse bioinformatique complexes. Deux procédures NGS ont été évaluées pour caractériser la complexité des quasi-espèces de variants viraux du gène S et le ratio des génomes VHB fonctionnels et défectueux chez les donneurs avec une infection occulte (OBI) ou manifeste (AgHBs+). La région PreS/S et le génome entier du VHB ont été amplifiés par PCR à partir de 8 donneurs OBI et de 18 donneurs AgHBs+ après concentration des particules virales présentes dans le plasma. Les donneurs AgHBs+ ont été sélectionnés pour être porteurs de mutations S précédemment associées à un échappement immunitaire. Les amplicons PreS/S et génome entier ont été séquencés respectivement sur les séquenceurs MiSeq (Illumina) et MinION (Oxford Nanopore Technologies). Les séquences d'acides aminés S obtenues avec les deux tests ont été analysées et la distribution des quasi-espèces a été comparée. Les résidus présents dans moins de 5% des séquences lues n'ont pas été pris en compte dans l'analyse. Les séquences MinION ont été évaluées pour la présence de délétions majeures. La charge médiane d'ADN du VHB était de 10 (intervalle : <6-431) UI/mL chez les OBI et de 1,1 x 10⁵ (intervalle : 10-1,1x10⁸) UI/mL chez les donneurs AgHBs+. Les souches de VHB étaient de génotypes A3, B, D et E

chez les OBI, et de génotypes A1-E et C/D chez les donneurs AgHBs+. Les séquences consensus amino acidiques S obtenues avec MiSeq et MinION ont montré une identité de 98% à 100%, quel que soit le statut du VHB. Une fréquence significativement plus élevée de sites polymorphes a été observée avec MinION qu'avec MiSeq ($p=0,003$), mais aucune différence n'a été observée entre les donneurs OBI et les donneurs AgHBs+. Les résultats divergents entre les tests étaient principalement associés à des variants mineurs, constituant <10% de la population quasi-espèce au sein d'un échantillon. Le polymorphisme des acides aminés a été observé dans 20 des 22 positions précédemment associées à l'échappement immunitaire. Le NGS a détecté des résidus de type sauvage dans ces sites critiques en tant qu'espèces mineures dans 3 (37,5 %) échantillons OBI et 8 (44,4 %) échantillons AgHBs+. Les résidus de type sauvage représentaient respectivement 5-40% et 14-43% des séquences totales dans les échantillons OBI et AgHBs+. Des codons stop dans le gène S ont été détectés dans 5% à 79% des quasi-espèces de 12 échantillons AgHBs+. Deux échantillons AgHBs+ avaient un codon stop dans 100% de leurs séquences. Des séquences unitaires MinION de génomes entiers (~3 200 nt) ont été obtenues pour 8 échantillons OBI et 11 échantillons HBsAg+. Les génomes complets représentaient 97-99% des reads obtenus chez 7 OBI, mais seulement 22% dans un autre OBI, les 78% restants présentant une délétion de 2572 nt. Quatre (36,4%) échantillons AgHBs+ avaient des génomes HBV épissés représentant 7,5% à 95% des séquences détectées. Le système MinION a détecté beaucoup plus d'espèces mineures du VHB que MiSeq. Des niveaux similaires de quasi-espèces S associées aux virions ont été détectés par NGS dans les plasmas de donneurs présentant une infection occulte et AgHBs+. Les donneurs infectés de manière prédominante avec des variants S d'échappement immunitaire peuvent également contenir des souches virales de type sauvage en tant qu'espèces mineures conservant la capacité de produire une quantité limitée d'AgHBs détectable dans le sang. La présence d'une proportion substantielle (7,5-100%) de génomes de VHB associés à des virions et porteurs de grandes délétions ou d'un gène S défectueux dans le sang du donneur peut être un facteur d'atténuation du risque infectieux associé à la transfusion à prendre en considération.

Cohorte BuleDelta/HepDelta. L'observatoire ANRS HD EP01 BuleDelta « Observatoire de l'efficacité et de la tolérance du traitement par buléviride des patients ayant une infection chronique par les virus des hépatites B et D » a inclus depuis 4 ans plus de 350 patients suivis dans 38 centres. En 2024, il a été décidé d'élargir cette cohorte, afin d'inclure tous les patients infectés par le VHB et le VHD, quel que soit leur stade clinique et leur projet thérapeutique. La nouvelle cohorte est appelée HepDelta « Cohorte nationale du suivi des patients ayant une coinfection par les virus des hépatites B et delta ». L'objectif principal est d'étudier l'histoire naturelle de l'infection delta en fonction des différentes modalités de prise en charge thérapeutique. Tous les patients de BuleDelta sont automatiquement inclus dans HepDelta. Les données des patients de la cohorte ARNS Hepather seront également versés dans HepDelta. Les patients seront inclus dans la nouvelle cohorte à partir de début 2025.

Performances d'un test de diagnostic rapide VHB/VHD. Le développement de tests de diagnostic rapide (TDR) est essentiel pour permettre l'accès universel au dépistage du VHD. L'équipe du Docteur Ana Paula Fernandes travaille dans le Centre de Technologie des Vaccins, au sein de l'Université Fédérale de Minas Gerais (Brésil). Grâce à des analyses bio-informatiques, cette équipe brésilienne a synthétisé un nouvel antigène recombinant (DTH10.1) contenant une séquence HDAg consensus des 8 génotypes du VHD. Cet antigène a été positionné à la fois dans un test ELISA classique et un TDR, destinés à la détection des anticorps VHD en routine clinique. Ce test ELISA et ce TDR ont été évalués sur une cohorte de patients vivant en zone endémique pour le VHD dans la région amazonienne du Brésil, où circulait majoritairement le génotype VHD-3. Le test ELISA a montré une sensibilité de 90,6% (IC95% : 84,2-94,5%) et une spécificité de 100% (IC95% : 94,2-100%) ; quant au test TDR, il a montré une sensibilité de 91,3% (IC95% : 85,0-95,1%) et une spécificité de 99,0% (IC95% : 94,5-99,95%). Par la suite, des anticorps monoclonaux commerciaux anti-HBs ont été ajoutés à ce TDR, créant ainsi un TDR combiné permettant la détection de l'AgHBs et des anticorps VHD (**Figure 7**). Les performances de ce nouveau TDR, sur la population brésilienne, étaient très satisfaisantes : sensibilité respectivement de 87,1% (IC95% : 81,3-91,4%) et de 95,2% (IC95% : 90,0-97,8%) pour l'AgHBs et les anticorps VHD, et spécificité respectivement de 100% (IC95% : 91,0-100%) et 98,0% (IC95% : 92,9-99,6%).

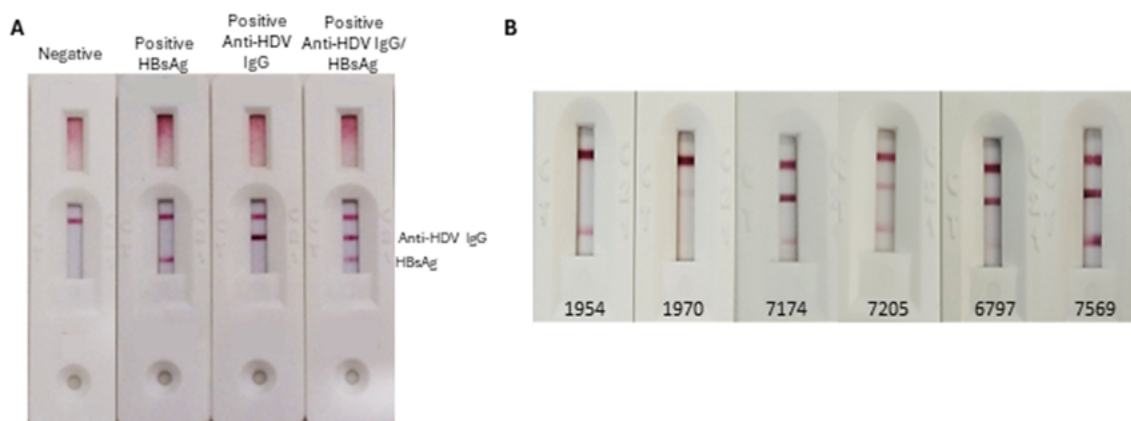


Figure 7 : Exemples de résultats des TDR VHD et VHB/VHD

Le laboratoire associé delta a été sollicité pour vérifier la sensibilité du TDR VHD, du TDR combiné VHB/VHD, ainsi que du test ELISA pour la détection des anticorps VHD correspondant aux génotypes non VHD-3. Des tests de spécificité ont également été réalisés (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Résultats de la validation des tests rapides et immuno-enzymatique

HDV Genotype	Anti-HDV ICT	Multiplex ICT	ELISA
HDV-1 non-African (n=10)	10	10	9
HDV-1 African (n=17)	17	17	17
HDV-2 (n=3)	3	3	3
HDV-3 (n=2)	2	2	2
HDV-4 (n=6)	6	5*	6
HDV-5 (n=15)	13	13	15
HDV-6 (n=9)	9	9	9
HDV-7 (n=8)	8	8	8
HDV-8 (n=7)	5	7	7

Les résultats ont été récemment publiés récemment dans *Journal of Clinical Microbiology* (Lopes *et al.*, 2025). L'équipe du Docteur Ana Paula Fernandes est maintenant à la recherche d'un partenaire industriel pour la fabrication à grande échelle de ce TDR VHB/VHD. Deux études évaluant la performance "en vie réelle" vont également être menée : (1) auprès de populations éloignées du soin résidant dans la forêt amazonienne ; (2) dans le cadre d'un projet d'étude de prévalence du VHD à Phnom Penh au Cambodge (Étude financée par l'ANRS-MIE, Cf. ci-dessous).

Performances des tests diagnostiques à partir de spots de sérum, plasma et sang total déposé sur papier buvard (DBS). Le développement des méthodes alternatives au prélèvement veineux pour le dépistage, le diagnostic et le suivi des hépatites virales est en plein essor. Les spots de sang séché sur papier buvard permettent la détection de marqueurs sérologiques et moléculaires. Une étude préliminaire avait été menée en 2022 par le laboratoire coordonnateur (Matar *et al.*, GHS, 25-28 avril 2023). Une seconde étude a été menée en 2023-2024 au sein du laboratoire associé delta. Elle comportait un volet rétrospectif et un volet prospectif. L'objectif était de valider les résultats préliminaires sur un nombre plus important de prélèvements, et à partir de prélèvements de sang total veineux (issu de prélèvements sanguins au pli du coude) : dépôt de sérum (n=133), plasma (n=138) ou de sang total veineux frais (n=62). De très bonnes performances ont été observées pour la détection des anticorps VHD, en utilisant le seuil spécifique de 0,150 UA/mL (LIAISON XL murex Anti-HDV, DiaSorin). Pour la quantification de l'ARN du VHD, le seuil de détection était de 2 log₁₀ UI/mL pour les échantillons de plasma et de 3 log₁₀ UI/mL pour les échantillons de sang total (**Figure 8**).

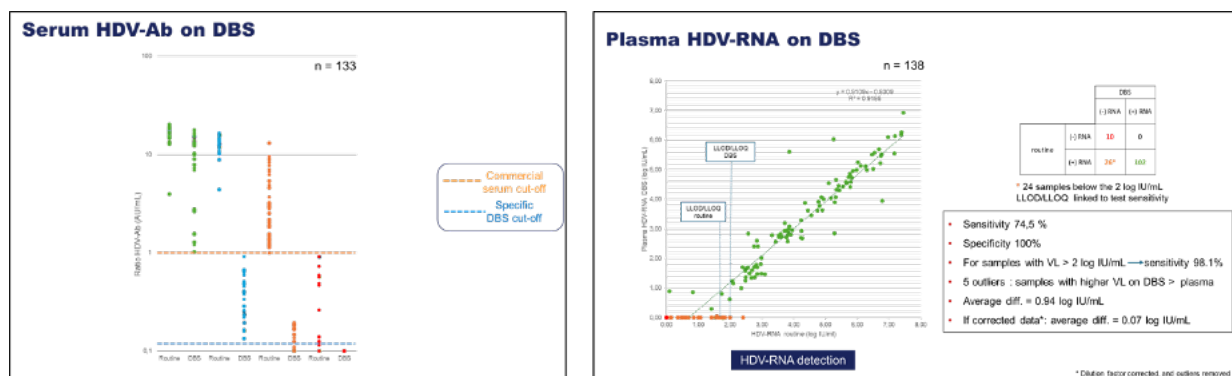
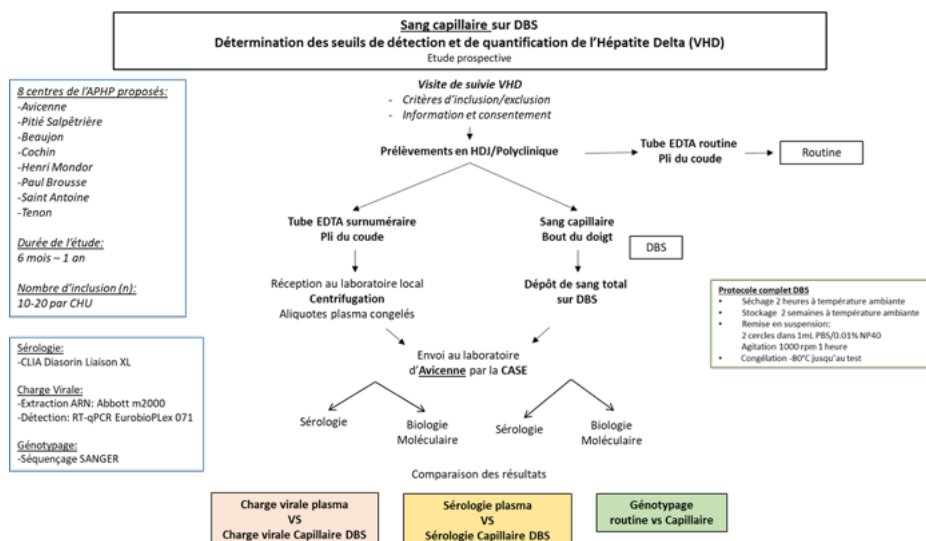


Figure 8 : Résultats de la détection des anticorps VHD et de la quantification de l'ARN du VHD pour les échantillons de sérum et plasma déposé sur papier buvard

Le dernier volet de l'étude vise à évaluer de façon prospective les marqueurs du VHD à partir de sang capillaire déposé sur papier buvard (**projet SACADE**) (**Figure 9**). L'objectif de ce projet est de déposer des gouttes calibrées de sang capillaire sur une carte de papier buvard, geste réalisé par une infirmière spécifiquement formée, lors de la consultation du patient dans un service spécialisé. Les résultats des analyses sérologiques et moléculaires obtenus à partir de cette matrice seront comparés aux résultats obtenus à partir d'un prélèvement sanguin sur tube EDTA. Des seuils spécifiques seront établis pour la sérologie et la charge virale VHD. L'étude va être réalisée au sein de 9 services d'hépatologie et de maladies infectieuses de l'AP-HP, l'objectif est d'inclure 120 patients VHD+, avec une majorité de patients répliquant le virus (ARN-VHD+). Le promoteur de cette étude est l'IMEA. Durant l'année 2024, l'ensemble des étapes préliminaires a été réalisé : finalisation de l'écriture du projet de recherche, étude de faisabilité auprès des 9 centres pressentis et obtention de leur accord de participation, identification des interlocuteurs (cliniciens/TEC/biologistes), obtention de l'accord du CPP Sud-Est VI le 2 octobre 2024, mise en place dans tous les centres avec formation des infirmières au geste de prélèvement du sang capillaire et dépôt sur DBS (dernier trimestre 2024-premier trimestre 2025). La convention collective APHP a été signée en mars 2025, autorisant l'inclusion des premiers patients au 1^{er} avril 2025. La durée des inclusions sera de 1 an, suivi de 6 mois d'analyse avec des résultats prévus pour octobre 2026.



NOM du PI	HOPITAL	SERVICE	N° inclusions prévues
Dr. GRANDO-LEMAIRE	Hôpital Avicenne	Service d'hépatologie	10-16
Pr. DAMAIS-THABUT	Hôpital de la Pitié Salpêtrière	Service d'hépatologie	10
Pr. ASSELAH	Hôpital Beaujon	Service d'hépatologie	20
Dr. VALLET-PICHARD	Hôpital Cochin	Service d'hépatologie	15-20
Pr. LEROY	Hôpital Henri-Mondor	Service d'hépatologie	15
Dr. ROCHE	Hôpital Paul-Brousse	Service d'hépatologie	10
Dr. OZENNE	Hôpital Saint-Antoine	Service d'hépatologie	10
Dr. COELHO	Hôpital Tenon	Service d'hépatologie	10
Pr. PIALOUX	Hôpital Tenon	Service des Maladies Infectieuses	10

Figure 9 : Schéma de l'étude SACADE et centres participants

Mise en place du diagnostic et description de la prévalence et des facteurs associés aux infections par l'hépatite Delta à l'hôpital Calmette de Phnom Penh au Cambodge : projet HDVtest4Cambodia. Les données sur la prévalence de la coinfection VHB-VHD et son poids dans les maladies chroniques du foie en Asie du Sud Est sont parcellaires et montrent une grande hétérogénéité géographique. Aucune donnée sur le VHD n'est disponible à ce jour au Cambodge ni au Laos. Au Vietnam voisin, les coinfections sont décrites comme fréquentes et représentaient 16% des cas dans une étude récente et avec une circulation de souches de génotype 1 majoritairement. Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente la première cause de cancer au Cambodge. Dans ce pays on estime la prévalence du VHB entre 3 et 5%. La plupart des infections sont le résultat d'une transmission materno-infantile du virus. Le gouvernement royal du Cambodge s'est fixé pour objectif d'éliminer l'hépatite C et l'hépatite B d'ici 2030, conformément aux objectifs de l'OMS. Dans cet objectif, le ministère de la Santé a édité un plan national stratégique, lequel ne comprend cependant aucun volet sur le diagnostic ou le traitement du VHD. Aucun laboratoire au Cambodge ne réalise le diagnostic du VHD. Les cliniciens doivent envoyer à l'étranger (Thaïlande ou Corée) à grand frais les échantillons, ce qui est, en pratique, est rarement réalisé. L'objectif principal de l'étude est d'évaluer la prévalence de l'hépatite delta de façon prospective au Cambodge. Les objectifs secondaires seront d'analyser les facteurs sociodémographiques et cliniques associés aux infections par le VHD, de réaliser un transfert de compétences pour le diagnostic sérologique et moléculaire du VHD, d'identifier par séquençage les génotypes circulants, ainsi que d'évaluer sur 500 participants un TDR VHD. Par la suite, des ateliers de travail avec l'ensemble des partenaires seront organisés afin d'améliorer la prise en charge du diagnostic biologique des hépatites B et D dans le pays. Une bourse ANRS-MIE a été attribuée pour 2023-2024 à un hépatologue (Docteur Kim) pour travailler sur l'étude rétrospective des cas de CHC à l'Hôpital Calmette. Il est encadré par le Docteur Ky (Chef de service d'hépatologie à l'Hôpital Calmette) et la Docteure Mosnier (ETI ANRS à l'Université des Science et de la Santé-UHS). Le Docteur Kim a validé en 2023-2024 un master 2 « M2 BS International Track : Infectiology » à l'Université Paris Saclay. Durant son stage, il est venu à Avicenne pour se former aux techniques de sérologie et de biologie moléculaire du VHD. Il a ainsi pu établir un algorithme de diagnostic du VHD applicable localement à l'hôpital Calmette de Phnom Penh. Il projette de débiter en septembre 2025 une thèse en cotutelle France-Cambodge. L'ensemble des documents de l'étude de prévalence de l'hépatite delta au Cambodge a été rédigé en 2024, et signé par les personnes compétentes. Les premières inclusions ont eu lieu en février 2025, en même temps qu'une mission de 2 personnes du CNR associé delta sur place pour aider à la mise en place des protocoles techniques.

Évaluation des techniques de NGS pour le séquençage complet du VHD. Le génome du virus de l'hépatite delta présente des particularités (structure pseudo-double brin, fort taux d'appariement, diversité génétique) qui compliquent l'obtention d'une séquence complète fiable. Les problèmes sont à la fois techniques et bio-informatiques. Jusqu'à aujourd'hui les études de caractérisation du génome complet des souches analysées se faisait par des techniques utilisant le séquençage de type Sanger. L'avènement des nouvelles technologies de séquençage (NGS) permet d'envisager des procédés plus simples et surtout l'exploration des quasi-espèces virales et des mutations minoritaires au sein d'un même échantillon. Ce projet a pour objectif de comparer 4 techniques de séquençage du VHD à partir d'échantillons de la collection du laboratoire associé delta afin de déterminer la plus adaptée pour l'analyse de la variabilité et des mutations, à partir d'un panel pan-génotypique d'échantillons ARN-VHD positif selon les critères suivants :

- . Sensibilité de réalisation en fonction de la charge virale VHD
- . Qualité de la séquence obtenue
- . Taux de couverture du génome

- . Sensibilité de détection des mutations (profondeur de l'analyse)
- . Facilité du process
- . Coût

Les techniques suivantes seront comparées :

- . Technique Sanger : Extraction des acides nucléiques + amplification par RT-PCR de 4 régions chevauchantes du génome viral + séquençage des 2 brins en Sanger + analyse bio-Informatique (Hôpital Avicenne)
- . Technique métagénomique shotgun NGS : Extraction des acides nucléiques + fragmentation + séquençage direct Short Reads de l'ensemble des acides nucléiques par NGS (Illumina) + analyse bio-Informatique (Hôpital Henri-Mondor)
- . Technique Short Reads-Amplicon : Extraction des acides nucléiques + amplification par RT-PCR de l'ensemble du génome viral + fragmentation + séquençage Short Reads par NGS (Illumina) + analyse bio-Informatique (Hôpital Henri-Mondor / Hôpital Avicenne)
- . Technique Long Reads-Amplicon : Extraction des acides nucléiques + amplification par RT-PCR de l'ensemble du génome viral + séquençage Short Long génome complet par NGS (Nanopore) + analyse bio-Informatique (Hôpital Avicenne)

Grâce aux résultats que nous espérons obtenir, nous pourrions communiquer à l'ensemble de la communauté scientifique la technologie la plus adaptée pour séquencer le plus facilement et avec le plus d'information possible le génome complet du VHD. Cette technologie pourra ainsi être utilisée pour toutes les applications et études qui nécessitent des données génétiques sur ce virus : polymorphisme, génotypes, sous génotypes, mutants, mutations de résistance, évolution génétique.

A ce jour :

- . Technique Sanger : Protocole d'amplification des 4 fragments et de leur séquençage optimisé et validé. Échantillons d'un 1^{er} panel amplifié et séquencé. Échantillons du panel pangénotypique de 26 en attente (2^{ème} trimestre 2025).
- . Technique Long Reads-Amplicon : Protocole d'amplification du génome complet validé. 1^{er} « run » Nanopore effectué sur 23 échantillons et séquences analysées. 2^{ème} run en cours. Discussions en parallèle avec l'UPSN et le service information de l'hôpital Avicenne pour la création d'un serveur de bio-informatique participant à l'augmentation de la capacité analytique des données NGS générés.

Origine du VHD. Grâce à nos travaux depuis plus de 20 ans sur la variabilité génétique du VHD, la classification du genre *Deltavirus* en 8 clades ou génotypes a été unanimement acceptée par la communauté internationale sur la base d'une divergence >20% et >10% pour les sous-clades. Ces travaux ont d'ailleurs contribué en 2019 à la classification de ce virus dans le règne Ribozviria, famille *Kolmioviridae* et genre *Deltavirus* par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV). En 2022-2023, nous avons réalisé une étude sur l'origine du virus VHD humain. L'objectif de ce travail, financé par l'ANRS (projet ECTZ161740), était de préciser la date de l'origine du VHD et de reconstruire la dynamique de sa propagation mondiale par inférence phylodynamique. Pour cela, nous avons séquencé le génome complet de plus de 280 nouvelles souches de différents génotypes à partir d'échantillons de la collection du laboratoire et pour certains à partir de nouvelles collaborations internationales (Taiwan et Australie). Tous ces échantillons avaient une provenance recouvrant de nombreuses régions du globe avec des dates d'échantillonnage réparties sur 38 années (1983 à 2021). Pour les analyses finales, nous avons sélectionné les 484 séquences les plus pertinentes, incluant les séquences obtenues précédemment par le laboratoire et certaines extraites des bases de données publiques. Des analyses spécifiques pour chaque génotype ont été menées pour reconstruire l'histoire évolutive du virus et évaluer la corrélation entre les nœuds phylogéniques et l'échelle temporelle par maximum de vraisemblance estimée avec TimeTree. Les résultats ont fait l'objet d'une soumission auprès de plusieurs journaux scientifiques de haut rang sans être acceptés. Néanmoins devant les remarques de certains reviewers, il nous a semblé utile de compléter à la fois le jeu de données de séquences (passant de 484 à 612 séquences) ainsi que le type d'analyses bio-informatiques complémentaires. Les résultats, qui restent encore à consolider, nous montrent que le VHD aurait été introduit chez Homo-Sapiens au cours du 13^{ème} siècle en Afrique centrale. L'ensemble des résultats sera soumis très prochainement.

Recherche de génomes HDV-like. Pour faire suite aux travaux précédents sur l'origine (date et lieu) du VHD humain, nous allons mener en 2025 un projet à large échelle, financé par l'ANRS-MIE (ECTZ324389), pour chercher d'éventuels génomes HDV-like dans différentes espèces animales, en Afrique Centrale (voir chapitre « Projets de recherche des années à venir »). Pour préparer ce projet, en 2024 nous avons optimisé un protocole de PCR spécifique : design d'amorces R0-like et R4-like, PCR combinée R0-like+R4-like. Une fois le protocole mis au point sur des échantillons de VHD humain, il a été testé sur des plasmides présentant des séquences d'HDV-like animaux publiées (plasmides et ARNs extraits donnés par le Docteur K. Majzoub de l'Institut de génétique moléculaire de Montpellier (IGMM) (**Figure 10**).

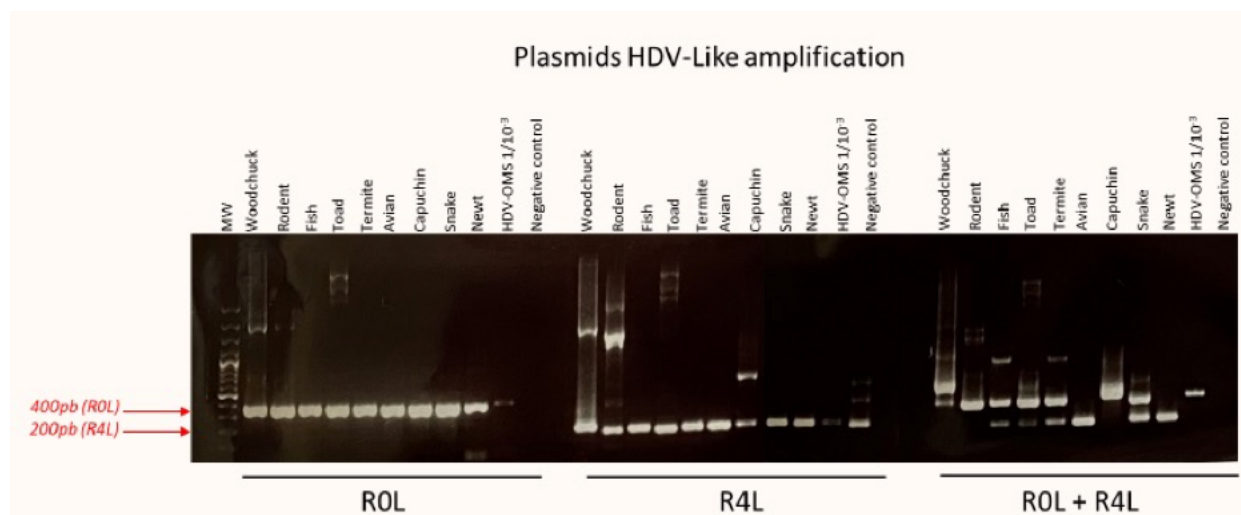


Figure 10 : Résultats des PCR R0-like et R4-like sur les échantillons de plasmide d'HDV-like animaux

6.2 Liste des publications et communications 2024, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

(i) Publication Nationales

1. [Chevaliez S](#). Carcinome hépatocellulaire et virus de l'hépatite C : stratégies diagnostiques et thérapeutiques. Revue Francophone des Laboratoires Janvier 2024 ; N°558 :59-66.
2. [Chevaliez S](#), [Garrigou O](#), [Ortonne V](#), Carmona D, Bourdel A, Canva V, Vantighem S, Volant J, Trabut JB, Vosgien V, Djomboué P, Guena C, Lenormand N, Jehanne C, Belalbre P, Roudot-Thoraval F et les CSAPA/CAARUD. Dépistage des hépatites virales et du VIH dans les structures médico-sociales d'addictologie (CSAPA/CAARUD), France, 2018-2023. Bull Epidemiol Hebd 2024;(16-17):337-43.

(ii) Publications Internationales

1. [Brichler S](#), Trimoulet P, Roque Afonso AM, Izopet J, Thibault V, Roudot-Thoraval F, [Chevaliez S](#). The diagnostic cascade for patients with hepatitis delta infection in France, 2018-2022: a cross-sectional study. Liver Int 2024; 44(10):2858-2865.
2. Lopez-Labrador FX, Huber M, Sidorov IA, Brown JR, Cuypers L, Laenen L, Vanmechelen B, Maes P, Fischer N, Pichler I, Storey N, Atkinson L, Schmutz S, Kufner V, van Boheemen S, Mulders CE, Grundhoff A, Blümke P, Robitaille A, Cinek O, Hubáčková K, Mourik K, Boers SA, Stauber L, Salmons M, [Cappo P](#), Ramette A, Franze' A, LeGoff J, Claas ECJ, [Rodriguez C](#), de Vries JJC; European Society of Clinical Virology (ESCV) Network on Next-Generation Sequencing (ENNGS) , Multicenter benchmarking of short and long read wet lab protocols for clinical viral metagenomics., J Clin Virol, 2024; 173, 105695.
3. Fu MX, Faddy HM, Candotti D, et al. International review of blood donation screening for anti-HBc and occult hepatitis B virus infection. Transfusion 2024;64:2144-2156.
4. Polaris Observatory Collaborators. Adjusted estimate of the prevalence of hepatitis delta virus in 25 countries and territories. J Hepatol 2024;80(2):232-242.
5. El Messaoudi S, [Brichler S](#), Fougere-Leurent C, [Gordien E](#), Gerber A, Kortebe A, Lagadic G, Subic-Levrero M, Metivier S, Pol S, Minello A, Ratzu V, Leroy V, Mathurin P, Alric L, Coulibaly F, Pawlotsky JM, Zoulim F, de Lédighen V, Guedj J; ANRS HD EP01 BULEDELTA Study Group. Effect of Peg-IFN on the viral kinetics of patients with HDV infection treated with bulevirtide. JHEP Rep 2024;6(8):101070.
6. de Lédighen V, Fougere-Leurent C, Le Pabic E, Pol S, Alfaïate D, Lacombe K, Hilleret MN, Lascoux-Combe C, Minello A, Billaud E, Rosa I, Gervais A, Ratzu V, Ganne N, Pageaux GP, Leroy V, Loustaud-Ratti V, Mathurin P, Chas J, Jezequel C, Métivier S, Dumortier J, Arpurt JP, Asselah T, Roche B, Le Gruyer A, Valantin MA, Scholtès C, [Gordien E](#), Tual C, Kortebe A, Coulibaly F, Rosenthal E, Subic-Levrero M, [Roulot D](#), Zoulim F; ANRS HD EP01 BuleDelta and compassionate cohort. JHEP Rep 2024;6(8):101057.
7. Nahon P, Layese R, Ganne-Carrié N, Moins C, N'Kontchou G, Chaffaut C, Ronot M, Audureau E, Durand-Zaleski I, Natella PA; ANRS CO12 CirVir and CIRRAL groups. The clinical and financial burden of nonhepatocellular carcinoma focal lesions detected during the surveillance of patients with cirrhosis. Hepatology 2024;79(4):813-828.

8. Cadranell JD, Zougmore HT, Efole JN, Hanslik B, Causse X, Rosa I, Lemaitre C, Mokhtari C, Baron A, Thevenot T, Medmoun M, Smadhi R, Fantognon G, Remy AJ, Macaigne G, Arondel Y, Arpurt JP, Bellaiche G, Bourlière M, De Kerguenec C, Heluwaert F, Verlynde J, Halfon P, Roulot D, Carrier P, Loustaud-Ratti V, Lemagoarou T; ANGH and CREGG B-Delta Group.
9. Hepatitis B Delta: assessment of the knowledge and practices of hepato-gastroenterologists practicing in non-academic settings in France. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2024;36(6):735-741.
10. Ifeora IM, Gerber A, Dziri S, Bakarey SA, Le Gal F, Aglavdawa G, Alloui C, Kalu SO, Ghapouen PB, Brichler S, Adewumi OM, Gordien E. The Prevalence and Molecular Epidemiology of Hepatitis Delta Virus in Nigeria: The Results of a Nationwide Study. *Viruses* 2024;16(8):1236.
11. Roulot D, Brichler S, Layese R, D'alteroche L, Ganne-Carrie N, Stern C, Saviano A, Leroy V, Roudot-Thoraval F, De Ledinghen V; DELTAVIR study group. High Diagnostic Value of Transient Elastography for Advanced Fibrosis and Cirrhosis in Patients With Chronic Hepatitis Delta. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2024;S1542-3565(24)00776-6.
12. Roulot D, Layese R, Brichler S, Ganne N, Asselah T, Zoulim F, Gordien E, Nahon P, Roudot-Thoraval F; DeltaVir and CirVir study groups. Hepatitis D Virus Infection Markedly Increases the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Viral B Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2024;S1542-3565(24)00947-9.
13. Lampertico P, Anolli MP, Roulot D, Wedemeyer H. Antiviral therapy for chronic hepatitis delta: new insights from clinical trials and real-life studies. *Gut*. 2024 Dec 25;gutjnl-2024-332597.
14. Pawlotsky JM. Virological markers for clinical trials in chronic viral hepatitis. *JHEP Rep* 2024;6(11):101214.
15. Vo-Quang E and Pawlotsky JM. 'Unusual' HCV genotype subtypes: origin, distribution, sensitivity to direct-acting antiviral drugs and behaviour on antiviral treatment and retreatment. *Gut* 2024;73(9):1570-1582.
16. Marshall AD, Willing AR, Kairouz A, Cunningham EB, Wheeler A, O'Brien N, Perera V, Ward JW, Hiebert L, Degenhardt L, Hajarizadeh B, Colledge S, Hickman M, Jawad D, Lazarus JV, Matthews GV, Scheibe A, Vickerman P, Dore GJ, Grebely J; Global HCV and HIV Treatment Restrictions Group. Direct-acting antiviral therapies for hepatitis C infection: global registration, reimbursement, and restrictions. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2024;9(4):366-382.

(iii) Communications Nationales

1. Delcourt MP, Gowland P, Niederhauser C, Candotti D. Molecular and functional analysis of a hepatitis B virus genotype C infection in a vaccinated individual. AC42 - Réseau national des hépatites de l'ANRS MIE, 11-12 mars 2024, Paris, France.
2. Delagarde V, Gerber A, Dziri S, Le Gal F, Gordien E, Roulot D, Brichler S. Improving access to Hepatitis Delta Virus testing using Dried Blood Spots. 24th ANRS AC42 meeting - Réseau National Hépatites virales, Paris, France, 11-12 mars 2024.

(iv) Communications Internationales

1. Delcourt MP, Gowland P, Niederhauser C, Candotti D. Molecular and functional analysis of a hepatitis B virus genotype C infection in a vaccinated individual. EASL Congress, June 2024, Milan, Italy.
2. Candotti D, Boizeau L, Aubé C, Delcourt MP, Laperche S. Can next generation sequencing help to assess the residual risk of HBV transfusion transmission? 38th International Congress of the ISBT, June 2024, Barcelona, Spain.
3. Deng X, Gu H, Guo X, Wang D, Wang Y, Zhou L, Candotti D. Ten-year follow-up program for donors with occult hepatitis B virus infection in Dalian, China. 38th International Congress of the ISBT, June 2024, Barcelona, Spain.
4. Brichler S, Trimoulet P, Roque Afonso AM, Izopet J, Thibault V, Chevaliez S. Dépistage du virus de l'hépatite delta dans les laboratoires de CHU en France : plaidoyer pour la mise en place de tests réflexes. AFRAVIH, Yaoundé, Cameroun, 16-19 avril 2024.
5. Stern C, Bourlière M, Loustaud-Ratti V, Bardou-Jacquet E, Alric L, Colombain L, Meszaros M, Metivier S, Mathurin P, Yurdaydin C, Jachs M, Reiberger T, Brancaccio G, Yardeni D, Etzion O, Neumann-Haefelin C, Douglas M, Poulin S, Benali S, Ursic Bedoya J, Metin O, Bazinet M, Schwarz M, Gaeta GB, Vitale A, Valentina Svicher, Cillo U, Brichler S, Gordien E, Chevaliez S, Vaillant A. Safety and efficacy of REP 2139-Mg in hepatitis D patients with advanced liver disease: an international compassionate use program. EASL meeting, Milan, Italie, 5-8 juin 2024.
6. Degasperis E, Anolli MP, Jachs M, Reiberger T, de Ledinghen V, Metivier S, d'Offizzi G, Di Maria F, Schramm C, Schmidt H, Zöllner C, Tacke F, Dietz-Fricke C, Wedemeyer H, Papatheodoridis M, Papatheodoridis G, Carey I, Agarwal K, van Bömmel F, Brunetto M, Cardoso M, Verucchi G, Ciancio A, Zoulim F, Aleman S, Semmo N, Mangia A, Hilleret, MN, Loglio A, Merle U, Santantonio TA, Coppola N, Pellicelli A, Roche B, Causse X, d'Alteroche L, Dumortier J, Ganne Carrie N, Heluwaert F, Hourmand Olivier I, Roulot D, Federico A, Pileri F, Maracci M, Tonnini M, Arpurt JP, Barange K, Billaud E, Pol S, Gervais A, Minello A, Rosa I, Puoti M, Lampertico P. Long-term Bulevitide monotherapy in patients with HDV-related compensated cirrhosis: effectiveness, safety and clinical outcomes from the retrospective multicenter european study (SAVE-D). AASLD meeting, San Diego, USA, 15-19 novembre 2024.
7. Stern C, Bourlière M, Loustaud-Ratti V, Yurdaydin C, Brancaccio G, Jachs M, Reiberger T, Bardou-Jacquet E, Metivier S, Alric L, Colombain L, Meszaros M, Mathurin P, Yardeni D, Etzion O, Neumann-Haefelin C, Douglas M, Poulin S, Brichler S, Gordien E, Chevaliez S, Bazinet M, Metin O, Gaeta G, Vitale A, Svicher V, Cillo U, Schwarz M, Ben Ali S, Ursic Bedoya J, Francois S, Kaysin F, De Freitas C, Lecomte L, Levacher A, Camou O, Lemoine K, Morvan C, Gerber A, Mackiewicz V, Schramko J, Bondezi K, Baril ME, Osiowy C, Vaillant A. Safety and efficacy of REP 2139-Mg in hepatitis D patients: reporting of extended follow-up data from the international compassionate use program. AASLD meeting, San Diego, USA, 15-19 novembre 2024.

(v) Conférences sur invitation

Stéphane Chevaliez

1. "Hépatites Virales B, C et delta : le point de vue du virologue". Ateliers Tapis Vert, Maison Médicale du Chemin Vert, Paris, 2 mai 2024.
2. "Dépistage des hépatites virales : les bons réflexes du biologiste". BIOMED J 2024, 23-24 mai 2024, Paris.

Daniel Candotti

1. Molecular Surveillance: new insights & current directions. ISBT TTID WP Annual Meeting, SRAP subgroup breakout session. 38th International Congress of the ISBT, June 2024, Barcelona, Spain.

Ségolène Brichler

1. "Hepatitis Delta and HDV RNA quantification. AltoStar Experts meeting, Barcelone, Espagne, 26 avril 2024.

Frédéric Le Gal

1. "La situation de l'Hépatite Delta en Afrique" - AFRAVIH, Yaoundé, Cameroun, 16-19 avril 2024.
2. "Origin of Hepatitis Delta Virus (HDV)" - HBV-Cure, Lyon, France, 5 juillet 2024.

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

Sans objet.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

Le CNR des Virus d'Hépatites B, C et delta (laboratoires coordonnateur et associé) poursuivra en étroite collaboration avec l'ensemble des industriels du diagnostic l'évaluation des nouvelles techniques sérologiques ou moléculaires standardisées d'étude des marqueurs d'infection par le VHB, VHC et le VHD. Pour cela seront utilisés les parcs d'automates et les collections d'échantillons biologiques (plasma, sérum et spot de sang séché).

Surveillance nationale des patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite chronique B ($\pm$ D) à travers les Centres Experts (FPRH), les Services d'Hépatologie des Hôpitaux Généraux (ANGH) et le réseau de Virologie et pharmacologie médicale (ANRS-MIE). Sur les bases de la surveillance mise en place par l'InVS en 2008-2012, les objectifs de l'étude en cours sont de décrire les caractéristiques démographiques, cliniques, histologiques et virologiques des patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite B ($\pm$ D) dans les services d'hépatogastroentérologie et de les comparer à celles des patients inclus dans la surveillance InVS 2008-2012. Au total, plus 30 structures ont répondu favorablement au questionnaire de faisabilité. Parmi plus de 13 200 patients infectés par le VHB, 2144 patients ont été nouvellement pris en charge en 2023 et près de 700 patients ont initié un traitement antiviral par analogues nucléos(t)idiques. Ces données transmises à l'Unité de Recherche (URC) Clinique Henri Mondor vont permettre de définir l'effectif et la durée de l'étude, prérequis indispensables pour une approbation de la promotion par l'AP-HP (DRCI) et l'avis d'un CPP (recherche RIPH3 avec consentement du fait de la conservation des échantillons après la fin de l'étude). Les échantillons cliniques seront caractérisés sur le plan virologique à l'aide de techniques de séquençage de nouvelle génération permettant la détermination de la séquence des génomes complets du VHB et VHD, en collaboration avec la plateforme GENOBIOMICS et le laboratoire associé delta.

Cartographie des génotypes et sous-types du VHC à partir des services hospitaliers d'hépatogastroentérologie et virologie en France. L'étude du Gemhep (Groupe français d'études moléculaires des hépatites) réalisée en 2015-2016 auprès de 9 laboratoires avait permis d'évaluer la distribution des génotypes du VHC parmi 584 patients naïfs de traitement avec peu ou pas de fibrose. La distribution était la suivante : 60,4% de génotype 1, 8,6% de génotype 2, 14,9% de génotype 3, 13,7% de génotype 4, 1,7% de génotype 5, 0,5% de génotype 6 et 0,2% de souches recombinantes 2k/1b (Semenova *et al.*, *Epidemiol Infect* 2019). Ces résultats confirmaient les résultats de la méta-analyse publiée en 2019 (Petruzziello *et al.*, *J Clin Lab Anal* 2019), avec néanmoins des différences en ce qui concerne les proportions de patients infectés par les génotypes 3 et 4. La mobilisation des laboratoires de virologie (réseau de virologie et pharmacologie médicale de l'ANRS-MIE) a été massive, avec plus de 30 laboratoires participants. Parmi plus de 4 100 patients nouvellement dépistés positifs pour le VHC en 2023, plus d'un tiers (32,5%) avaient une infection active (ARN >0). Au total, la détermination du génotype VHC a été réalisée chez plus de 600 patients. Sur cette base, un aliquote de sang (plasma ou sérum) ainsi que la séquence ayant servi à la détermination du génotype (si disponible) de chaque patient nouvellement dépisté et ayant une infection active (ARN VHC >0), et ce sur la période 2023-2024, seront adressés au CNR. Un nombre restreint d'items sera parallèlement recueilli afin d'établir des corrélations avec les paramètres cliniques et thérapeutiques.

Dépistage des hépatites B et C (et du VIH) dans le service d'accueil des urgences au CHU d'Henri Mondor (Étude DEPIVUR). Le dépistage des hépatites virales est basé sur des facteurs de risque (dépistage ciblé) bien que la société savante d'Hépatologie (AFEF) recommande un dépistage systématique combiné des 3 virus (VIH, VHB et VHC) chez les hommes de 18 à 60 ans au moins une fois dans l'existence et chez les femmes lors d'une grossesse et/ou de la première consultation prénatale. Le Val-de-Marne (300 000 personnes issues de l'immigration avec 40% en provenance d'Afrique et un taux de précarité élevé) est un territoire où la prévalence de ces infections pourrait être plus élevée que dans d'autres territoires. Une expérience similaire réalisée au service des urgences de Bichat entre juin 2018 et juin 2020 a été réalisée : 3 000 sujets dépistés parmi les 185 000 consultants aux urgences. La prévalence du VHB, VHC et du VIH était respectivement de 3,1%, 3,3% et 2,7%. Les nouveaux cas dépistés pour chacun des 3 virus représentaient respectivement 69,4%, 59% et 58%, soient 59 sujets nouvellement diagnostiqués pour le VHB, 58 pour le VHC et 47 pour le VIH. Les sujets VHB nouvellement diagnostiqués étaient tous originaires d'Afrique, de l'Europe de l'Est ou d'Amérique du Sud. 8 sujets (13,6%) étaient coinfectés par le VHD et 3 avaient un ARN VHD positif. Parmi les sujets nouvellement diagnostiqués pour le VHC, près de la moitié des patients avaient une maladie hépatique sévère (fibrose F3 ou F4), tous étaient répliquants et ont initié un traitement par AAD. Le taux de guérison virologique était de 100% (RVS12). L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'une stratégie de dépistage systématique des hépatites B et C et du VIH des consultants aux urgences de l'hôpital Henri Mondor sur la

prise en charge des sujets nouvellement diagnostiqués avec la mise en place d'un parcours de soins spécialisé. Les principaux objectifs secondaires seront : (i) estimer la prévalence du VHB, VHC et du VIH, (ii) décrire les caractéristiques démographiques et cliniques des patients nouvellement dépistés, (iii) évaluer le nombre de patients dépistés mais non pris en charge, (iv) évaluer la cascade de soins des patients pris en charge, (v) évaluer le taux de dépistage secondaire (entourage familial, partenaires, ...), et (vi) évaluer la satisfaction des patients pris en charge aux urgences. Tout consultant aux urgences (>18 ans, non opposition) bilanté (i.e., bénéficiant déjà d'un prélèvement sanguin) ou non (un prélèvement de sang total avec dépôt sur buvard sera alors proposé) sera éligible et se verra proposer un dépistage systématique des 3 virus. Pour les sujets bilantés, un tube supplémentaire de sang prélevé sur EDTA sera collecté ; des spots de sang (50-70 µL) seront réalisés en parallèle sur buvard. Ceci permettra également d'évaluer les seuils d'interprétation des tests immunologiques pour la détection des anticorps VHC, de l'AgHBs et des anticorps VIH, et ce à partir d'une population de faible-moyenne prévalence pour ces infections. Cette étude impliquera les équipes des services des Urgences, d'Hépatologie, d'Infectiologie et de Virologie du GH Henri Mondor.

Mise en place d'un réseau de services d'hépatogastroentérologie pour la surveillance des hépatites d'origine indéterminée. Les hépatites d'origine indéterminée peuvent être causées par une grande variété de pathogènes, parfois émergents. En 2022 a été identifié grâce à la métagénomique shotgun un virus appartenant à la famille des *Circoviridae*, genre *Circovirus* responsable d'une hépatite aiguë sévère chez une patiente immunodéprimée (doublement greffée cœur-poumons) pour un syndrome d'Eisenmenger (Rodriguez *et al.*, Emerg Infect Dis 2023). Depuis, plusieurs cas d'hépatite aiguë voire chronique ont été décrits dans la littérature majoritairement chez des patients immunodéprimés (Wu *et al.*, Emerg Infect Dis 2024 ; Hamelin *et al.*, Emerg Infect Dis 2024). Une RT-PCR ciblant le gène *Rep* a été développée au sein du laboratoire dont la sensibilité est d'environ 2,5 copies/mL. Il est envisagé dans un premier temps d'estimer la prévalence de l'infection à circovirus à partir de la biocollection de donneurs d'organes sur l'année 2023 et 2024, soient environ 1 500 échantillons. En parallèle, il est proposé en partenariat avec les services d'hépatogastroentérologie la mise en place d'un réseau de surveillance des hépatites d'origine indéterminée avec recueil d'échantillons biologiques (sang, urines, ±selles) et de données cliniques associées.

Développement et évaluation d'un test d'infection récente pour le VHC. L'avidité des anticorps est la capacité de liaison des anticorps matures à leurs antigènes, qui augmente au cours du temps. Un agent chimique (urée, diéthylamine 11 M) est capable de dissocier certaines de ces liaisons, en particulier des anticorps peu matures. L'index d'avidité peut alors être mesuré à partir d'une technique immunologique modifiée en microplaque en comparant les densités optiques (DO) d'échantillons traités par un agent dissociant et des échantillons non traités (test Monolisa Anti-HCV PLUS, BioRad). Les anticorps synthétisés précocement au cours de l'infection ont une capacité faible à lier leurs antigènes, contrairement aux anticorps matures présents plus tardivement au cours de l'infection. Nous souhaitons développer et évaluer l'index d'avidité afin de différencier à l'aide d'une méthode simple les infections récentes des infections anciennes selon le protocole publié dans *JHEP Reports* (Boon *et al.*, JHEP Rep 2022) Pour cela, 3 populations seront considérées : (1) Patients ayant une infection récente (<6 mois), et ce grâce à des panels commerciaux (PHV917 BBIU Diagnostics et HCV001 Biomex) et des patients avec un profil d'hépatite aiguë C ; (2) Patients ayant une infection chronique C (anticorps et ARN VHC >6 mois) avec 52 échantillons issus de la biothèque du laboratoire ; et (3) Patients ayant une infection résolue (anticorps VHC sans ARN VHC détectable) avec 100 échantillons issus de la biothèque du laboratoire. Ceci pourra avoir un intérêt afin de différencier les réinfections des rechutes tardives après échec des AAD d'une part et d'autre part de documenter les infections aiguës ou récentes qui restent à l'heure actuelle difficiles à diagnostiquer sur le plan virologique en dehors d'un contexte de séroconversion.

Intelligence artificielle (IA) et hépatites virales. Fondés sur l'intelligence artificielle (IA) et le traitement du langage naturel (NLP), nous développons un algorithme permettant la classification des souches de VHC et plus largement des virus responsables d'hépatites. A ce jour, 4 843 séquences des différents génotypes du VHC ont été collectées dans GenBank. En utilisant des techniques avancées de parsing, chaque séquence s'est vu attribuer une étiquette correspondant à son génotype et sous-type. Le même travail sera également réalisé avec le virus de l'hépatite delta, pour lequel nous disposons de 165 génomes complets en partenariat avec le laboratoire associé delta.

Résistance du VHC aux antiviraux à action directe (AAD) en Afrique et Asie du Sud-est (HCVResiS study). L'utilisation des antiviraux à action directe (AAD) aujourd'hui disponibles permet d'obtenir des taux de guérison >95%. Cependant, les données d'efficacité et de tolérance proviennent majoritairement d'études conduites dans les pays du "Nord", tandis que très peu d'études ont été réalisées dans les pays d'Asie ou d'Afrique Subsaharienne où circulent une proportion plus élevée de génotypes non usuels (1I, 4r et 3b). Ces génotypes sont caractérisés par la présence de polymorphismes naturels qui entraînent une diminution de sensibilité aux AAD, y compris de dernière génération. L'objectif principal de cette étude sera de caractériser les polymorphismes naturels de souches VHC circulant dans

différentes régions d'Afrique et d'Asie du Sud-Est et d'évaluer leur impact sur les niveaux de sensibilité aux AAD, à l'aide d'approches originales innovantes de séquençage des génomes viraux par métagénomique et d'analyse bio-informatique des données de séquences combinées à une caractérisation phénotypique permettant la mesure du niveau de résistance primaire des souches circulantes. Les objectifs secondaires seront d'étudier par analyse phylogénique les génomes viraux séquencés en intégralité qui circulent dans ces régions afin d'identifier de nouveaux génotypes et/ou sous-types non décrits à ce jour, et d'identifier et de mesurer le niveau de résistance conféré par les polymorphismes naturels sur les gènes cibles (NS3, NS5A et NS5B) présents au sein des quasi-espèces virales avant traitement. L'étude sera réalisée à partir d'une cohorte de 300 patients infectés par le VHC (incluant 100 patients provenant de chacun des sites suivants : Mali et Gabon en Afrique ; Thaïlande en Asie du Sud-Est) pour lesquels des prélèvements sanguins avant traitement sont disponibles. Cette étude se fera en partenariat avec l'ANRS-MIE.

Évaluation de la prise en charge de l'hépatite C chez les patients coinfectés par le VIH en zone décentralisée au Vietnam.

L'organisation mondiale de la Santé (OMS) a lancé un plan ambitieux d'élimination des hépatites virales à l'horizon 2030. Cependant dans les zones décentralisées des pays à ressources limitées, l'élimination du VHC se heurte à des difficultés incluant l'accès aux techniques de biologie moléculaire pour la mesure de la charge virale afin d'identifier les patients éligibles au traitement et de s'assurer de l'efficacité de ce dernier. L'OMS recommande l'usage du papier buvard (DBS) afin d'augmenter l'accès à la charge virale, en facilitant le transfert vers un laboratoire central. Le Vietnam est l'un des pays où la prévalence du VHC est la plus élevée, en particulier dans les populations clefs que sont les usagers de drogues injectables et les patients infectés par le VIH. Afin de lutter contre l'épidémie VHC, le Vietnam a pour objectif de rendre les AAD disponibles sur l'ensemble du territoire, avec une dispensation limitée à certains sites. Lors de discussions avec le ministère de la Santé du Vietnam, il a été porté à notre attention que tous les sites cliniques prenant en charge le VIH ne seront pas habilités à dispenser les AAD. Ainsi, certains patients coinfectés par le VIH et le VHC seront suivis dans le même site clinique pour ces deux infections, tandis que d'autres seront suivis dans des sites différents, l'un prenant en charge l'infection VIH et l'autre assurant la dispensation des AAD. A travers une cohorte prospective "en vie réelle" en zone décentralisée une comparaison de l'observance de 12 semaines de traitement sera réalisée entre (1) les patients suivis dans le site de prise en charge des 2 infections, VIH et VHC ; (2) et les patients suivis dans 2 sites de prise en charge différents. Les critères d'évaluations secondaires comprennent : le taux de succès du traitement par AAD qui sera estimé en comparant les sujets qui ont bien observé les 12 semaines de traitements et les autres patients, et le génotype des souches virales par technique Sanger. Du fait que l'accès à la mesure de la charge virale VHC n'est pas disponible en zone décentralisée, des DBS seront collectés au niveau des sites cliniques puis transférés vers un laboratoire central à Hanoi où la mesure de la charge virale VHC sera réalisée. Le traitement par AAD associera les versions génériques du sofosbuvir et du daclatasvir qui ont une pré-qualification de l'OMS. En cas d'échec du traitement, des analyses par métagénomique seront réalisées afin de mieux caractériser les souches. Tous les patients seront suivis 30 mois et la charge virale VHC sera mesurée régulièrement afin d'étudier les réinfections.

Évaluation du rôle prédictif du taux d'édition du VHD dans la réponse virologique au bulévirtide. Le génome du VHD possède un seul cadre de lecture ouvert codant, situé sur un intermédiaire de réplication, l'antigénome, qui code deux protéines, la petite protéine (s-HDAg) et la grande protéine (L-HDAg). Cette dernière est produite à la suite d'un processus d'édition (ou editing) de l'antigénome qui modifie le codon amber/stop de l'ARNm codant s-HDAg en codon tryptophane, permettant la synthèse de L-HDAg par l'ajout de 19 (ou 20) acides aminés C-terminaux. Les deux protéines delta jouent des rôles différents dans le cycle cellulaire viral : s-HDAg active la réplication du génome, tandis que L-HDAg bloque la réplication et favorise la morphogénèse et la propagation des virions. La protéine L-HDAg est également impliquée dans la pathogénicité du VHD. Nous avons montré que le taux d'editing était différent selon le génotype de la souche VHD infectante (Dziri *et al*, Viruses 2021). En 2023, une étude ancillaire avait été proposée au conseil scientifique de BuleDelta visant à étudier si le taux d'editing à J0 pouvait être un facteur prédictif de réponse au traitement antiviral par bulévirtide +/- pegIFN. Une étude longitudinale avait également été prévue pour mesurer la cinétique d'évolution du taux d'editing sous traitement. Dans une analyse préliminaire, 96 échantillons provenant des bibliothèques de BuleDelta avaient été testés par la technique NGS mise au point au laboratoire. 80 fastq de bonne qualité, correspondant à des souches de génotype HDV-1 avaient été analysées (n=46 à J0, n=21 à S12 et n=13 à S24). Les premiers résultats indiquaient un taux d'editing moyen de 31,2% à J0 qui ne différait pas en fonction du statut répondeur ou non répondeur du patient. A S24, le taux d'editing moyen était de 29,7% (différence non significative avec J0), mais on observait cependant une plus grande disparité des résultats. Compte tenu du faible nombre de patients inclus dans l'analyse longitudinale initiale (13 suivis longitudinaux, **Figure 11**), des analyses supplémentaires seront menées en 2025.

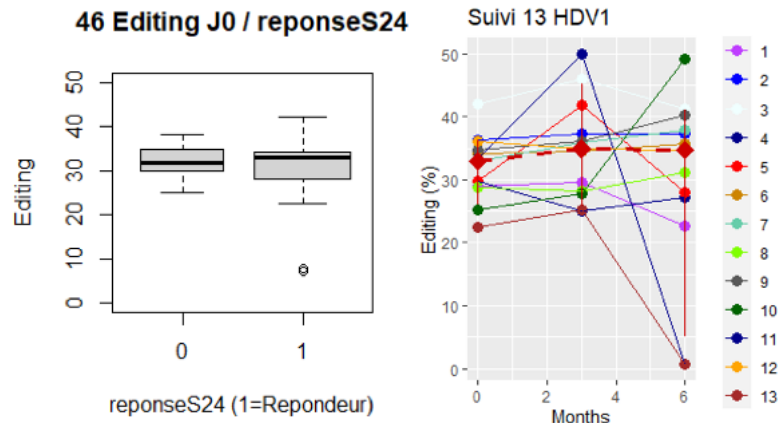


Figure 11 : Taux d'editing à J0, selon le statut répondeur (1) ou non-répondeur (0) à S24 (à gauche). Suivi longitudinal de 13 patients (à droite)

Évaluation des performances d'un test sérologique de détection des anticorps anti-VHD (Elecys® Roche) et d'un test de quantification de l'ARN-VHD (Cobas HDV RNA Viral Load, Roche). La société Roche a finalisé la mise au point de tests de diagnostic du VHD, à la fois en sérologie et en biologie moléculaire. Nous avons évalué en 2024 deux tests sérologiques prototypes de la gamme Elecys®, afin de vérifier la capacité de ces tests de détecter des anticorps dirigés contre des souches appartenant à tous les génotypes du VHD. Depuis, le test définitif a été finalisé, et sera évalué par le laboratoire associé, en collaboration avec le service de Biochimie, qui est équipé d'un automate cobas de 2^{ème} génération. Par ailleurs, Roche a également finalisé une trousse de quantification de l'ARN du VHD. Nous participerons en 2025 à une série de tests en collaboration avec leurs services de R&D, le but étant de collecter toutes les données nécessaires aux dossiers de demande de marquage CE-IVDR et FDA.

Évaluation de la mise en place d'un protocole de "reflex testing VHD" dans des laboratoires privés d'analyses biomédicales : Projet UniDelta. Les principales sociétés savantes recommandent d'effectuer une sérologie du VHD chez tous les patients AgHBs-positif et une quantification de l'ARN du VHD chez tous les patients séropositifs pour le VHD. Cependant, y compris en France, ce dépistage est loin d'être systématique. Une étude récente réalisée à l'échelle nationale a estimé le taux de dépistage à seulement 22,7% (étude DeltaDescribe, AASLD 2023). Un test réflexe simple (sérologie VHD) ou double (sérologie + ARN si sérologie positive) a été mis en place dans plusieurs laboratoires hospitaliers universitaires français spécialisés, permettant d'obtenir d'excellents taux de dépistage (63-97% pour la recherche des anticorps VHD et 82-87% pour la quantification de l'ARN-VHD), et donc une augmentation du nombre de patients VHD diagnostiqués. En France, les laboratoires privés, désormais organisés en réseaux de taille régionale ou nationale, sont des acteurs majeurs dans le domaine de la biologie. Une récente enquête nationale sur les données de 2021 a estimé que les réseaux de laboratoires privés réalisent 78% des tests sérologiques du VHB [4,2/5,4 millions de tests AgHBs annuels], permettant d'identifier plus de 20 000 nouveaux patients AgHBs-positif (enquête LaboHep, Bull epidemiol Hebd 2023). Cependant, aucune donnée spécifique n'est disponible sur le dépistage du VHD. Pour cette étude, nous avons sélectionné 5 réseaux privés de laboratoires, répartis de manière régionale à nationale sur l'ensemble du territoire français, représentant environ 25% de l'ensemble de l'activité de sérologie VHB. L'étude est coordonnée par le laboratoire associé delta. Un conseil scientifique composé de virologues et d'hépatologues ayant un intérêt particulier pour le VHD approuvera et supervisera l'ensemble du projet. Les aspects méthodologiques, réglementaires et éthiques seront supervisés par le Service de Recherche Clinique de l'Hôpital Avicenne (Bobigny, AP-HP). Nous faisons l'hypothèse d'une part, que la complexité de la cascade du diagnostic VHD dans les soins primaires et les laboratoires privés ont un impact sur le dépistage et la prise en charge inadéquates des patients VHD-positif en France, et d'autre part, que la mise en place d'un test réflexe VHD par les laboratoires privés, acteurs majeurs du diagnostic biologique en France, améliorera de façon significative le nombre de patients VHD-positif dépistés. Il en résultera un adressage plus précoce des patients infectés aux médecins spécialistes. L'objectif principal est d'évaluer le taux de dépistage du VHD dans 5 réseaux de laboratoires privés, avant et après mise en place d'une stratégie de simple ou de double test réflexe. Les objectifs secondaires sont de : (1) comparer le taux de dépistage du VHD entre les laboratoires publics/hospitaliers et privés ; (2) évaluer l'efficacité d'une stratégie de rattrapage envers les prescripteurs ; (3) évaluer la faisabilité pratique des stratégies de simple et de double test réflexe VHD dans les laboratoires privés ; (4) calculer le coût des stratégies de simple et de double test réflexe VHD ; (5) décrire les caractéristiques globales et la distribution géographique des patients VHD en France. Le projet a été accepté fin 2023 pour un financement à hauteur de 200 000 euros par Gilead Sciences. Les aspects réglementaires

ont été gérés en 2024 : rédaction du protocole de l'étude, obtention de l'accord du Comité d'Éthique Local d'Avicenne, obtention de l'accord de la DRCI de l'APHP pour la promotion de l'étude. Le projet démarrera effectivement dans le courant de 2025.

Caractérisation des profils transcriptomiques intra-hépatiques chez des patients coinfectés par le VHB et le VHD : comparaison avec des patients mono-infectés par le VHB. L'hépatite chronique D est la plus sévère des hépatites virales chroniques. Chez les patients VHB coinfectés par le VHD, la fibrose hépatique évolue plus rapidement que chez les patients uniquement infectés par le VHB avec un risque 3 fois plus élevé de développer une cirrhose. Les raisons de cette évolution plus sévère ne sont pas connues. Le but de ce projet est de caractériser les profils transcriptomiques intra-hépatiques des patients coinfectés VHB-VHD pour comprendre les mécanismes de la fibrogenèse hépatique et le rôle du micro-environnement hépatique et en particulier celui des cytokines. Ces profils seront comparés à ceux de patients infectés par le VHB. Les patients mono-infectés et coinfectés ayant eu une biopsie hépatique, suivis à Avicenne, Mondor et Strasbourg, ont été appariés 1 pour 1 en fonction du degré de fibrose, de l'âge, du sexe et du centre. Pour Avicenne, 69 biopsies de patients VHB-VHD et 80 de patients VHB ont été identifiées et transférées en anatomopathologie à Mondor. L'extraction et le séquençage d'ARN humains et viraux sont en cours. Le RNA sequencing et l'analyse transcriptomique spatiale permettront de comparer les 2 profils de patients et d'identifier des facteurs d'évolution fibrosante plus sévère chez les coinfectés.

Identification de hotspots pour le VHD en Éthiopie. L'Éthiopie est un pays endémique pour le VHB ; cependant, peu de données sur la prévalence du VHD sont disponibles. Dans une étude précédente (Tassachew *et al.*, *Annals of Hepatology* 2023), menée sur 323 patients AgHBs+ (patients atteints d'hépatite chronique ou donneurs de sang), une prévalence moyenne des anticorps VHD de 7,7% avait été retrouvée (25/323), dont 5 patients étaient ARN VHD >0. La prévalence semblait plus élevée dans une région du Nord du pays (Amhara (4/11=36%)), mais le nombre de patients en dehors de la capitale était très limité. L'objectif de cette étude est de déterminer le poids de l'infection par le VHD dans les différentes régions d'Éthiopie, à partir d'un échantillonnage beaucoup plus important de patients. 3 713 patients adultes (>18 ans) atteints d'une infection chronique par le VHB de mai 2022 à avril 2024 ont été inclus. Les participants ont été recrutés dans quatre nouveaux centres de traitement de l'hépatite B situés à Adama et Jimma (région d'Oromia), Dubti (région d'Afar) et Jijiga (région du Somali). La sérologie VHD sera réalisée chez tous les participants. L'ARN-VHD et le génotypage seront déterminés chez les patients anticorps VHD+. Les patients VHD+ identifiés seront par ailleurs inclus dans la cohorte HEPsA-D (voir paragraphe ci-dessous).

Épidémiologie et histoire naturelle de l'Hépatite Delta en Afrique : Étude de cohortes multi-pays : Projet HEPsA-D. Environ 25 % des 64,7 millions de personnes vivant avec le virus de l'hépatite B (pvVHB) en Afrique subsaharienne (ASS) sont coinfectées par le virus de l'hépatite delta (VHD). L'infection par le VHD représente la forme la plus sévère des hépatites virales, caractérisée par une progression rapide de la fibrose hépatique et un risque accru de carcinome hépatocellulaire (CHC). Malgré la prévalence élevée de la maladie en ASS, aucune étude de cohorte n'a, à ce jour, documenté l'histoire naturelle de l'hépatite D dans cette région. Les données sur la distribution des génotypes y restent également limitées. Bien que la présence des génotypes 1 et 5 à 8 ait été rapportée dans certaines études épidémiologiques, leur impact sur l'évolution de la maladie hépatique demeure mal défini. L'introduction du bulévirte dans les pays à revenu élevé souligne la nécessité d'améliorer la compréhension de l'épidémiologie du VHD en ASS, son histoire naturelle et la distribution de ses génotypes, afin d'évaluer les besoins en traitement. L'objectif du projet est de mettre en place une cohorte prospective de personnes vivant avec VHB et le VHD afin d'évaluer l'incidence des complications hépatiques, notamment la cirrhose, le CHC et la mortalité, dans quatre pays africains. Pour cela, environ 7 000 pvVHB ont été dépistées pour l'infection par le VHD dans les quatre pays participants à cette étude (Sénégal, Éthiopie, Cameroun, Madagascar), et les données issues de ce dépistage sont disponibles pour analyse. Afin d'améliorer la représentativité de l'échantillon, nous prévoyons de tester au moins 2 500 pvVHB supplémentaires, notamment au Sénégal ainsi qu'à Madagascar. Au total, nous visons la constitution d'une cohorte de 250 personnes coinfectées VHB-VHD dans ces quatre pays dont les 2/3 répliquantes (ARN VHD >0). En complément de la sérologie VHD, la charge virale et le génotypage, des données cliniques et thérapeutiques seront collectées, notamment sur la prise en charge du VHB et les complications hépatiques associées, incluant la fibrose hépatique, la cirrhose et CHC ainsi que le statut vital des participants. Les résultats attendus sont les suivants : i) nombre de patients anticorps VHD+ et ARN-VHD+ ; ii) mesure de la charge virale VHD et corrélation avec la charge virale VHB ; iii) distribution précise des génotypes du VHD dans les différentes régions étudiées ; iv) incidence de la cirrhose et du CHC chez les participants, corrélation avec la charge virale du VHD et le génotype viral. Une demande de financement a été déposée auprès de l'ANRS au 2^{ème} appel d'offres 2025.

Recherche de l'ancêtre non-humain le plus récent du virus de l'hépatite delta par investigation génomique. Le VHD est un agent pathogène humain découvert en 1977 chez des patients italiens atteints d'une forme grave du VHB.

En 2023, grâce à nos travaux d'analyses phylogéniques, d'horloge moléculaire et de phylogéographie réalisés initialement sur un panel de plus de 480 souches réparties à travers le monde, nous avons pu montrer que le VHD était devenu un virus humain dans la région d'Afrique centrale. Cependant son origine avant le passage à l'Homme reste à ce jour toujours inconnue. Notre projet s'inscrit dans la continuité de nos travaux précédents et vise à rechercher dans la zone forestière d'Afrique centrale (**Figure 12**), l'éventuelle présence de séquences "HDV-Like" dans des échantillons d'animaux endogènes de ces forêts équatoriales. Les animaux ciblés seront ceux potentiellement infectables par un *Hepadnavirus* en tant que virus "helper" comme l'est le VHB chez l'Homme.

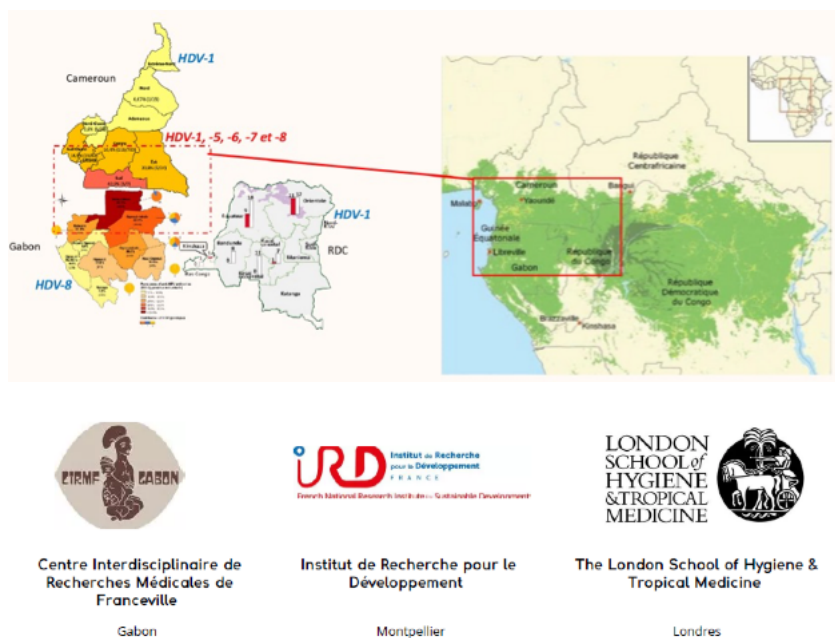


Figure 12 : Zone d'Afrique centrale où se dérouleront les recherches, ainsi que les partenaires du projet

Deux voies d'étude seront menées : (1) récupérer dans les banques de données génétiques internationales tous les transcriptomes issus d'animaux prélevés dans cette région d'Afrique centrale pour rechercher des séquences "HDV-Like" ; (2) collaborer avec l'Institut de Recherche et Développement (IRD) de Montpellier et le Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRM) au Gabon, afin de travailler sur leurs collections d'échantillons d'animaux d'Afrique centrale déjà disponibles et représentant près de 8 000 échantillons. Ces échantillons seront analysés par PCR conventionnelle pour la présence du VHB et du VHD suivi d'un séquençage des amplicons pour confirmation et analyses phylogéniques. Les génomes complets de nouveaux virus HDV-like seront séquencés par approche métagénomique. Pour cela, une PCR « HDV-like » optimisée a été mise en place au laboratoire associé en 2024 (voir chapitre « Travaux de recherche de l'année N ») Mettre en évidence des séquences génétiques de "HDV-Like" proches du VHD chez des animaux sauvages permettra de confirmer et de finaliser nos travaux sur l'origine du VHD. D'autre part, nous pourrions évaluer la prévalence de l'infection par un *Hepadnavirus* au sein d'une très large population animale en milieu naturel permettant ainsi de mieux comprendre la transmission potentielle inter-espèces des 2 virus VHB/VHD et de leur coévolution. Les résultats de cette étude permettront une meilleure compréhension de l'épidémiologie actuelle du VHD chez l'homme, incitant ainsi à rechercher la présence de cette infection dans des zones géographiques encore non explorées. Ce projet a été financé par l'ANRS au 1^{er} appel d'offres 2025, pour la somme de 192 000 euros sur 36 mois.

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Le Centre National de Référence (CNR) Virus des hépatites B, C et delta est localisé au sein du Département "Prévention, Diagnostic et Traitement des infections" des hôpitaux universitaires Henri Mondor à Créteil (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris) depuis 2006. Il est constitué d'un CNR coordonnateur (Responsable scientifique : Stéphane Chevaliez) et d'un laboratoire associé en charge de l'hépatite delta (Responsable scientifique : Ségolène Brichler). Le laboratoire associé est le laboratoire de Microbiologie Clinique des hôpitaux universitaires Paris-Seine-Saint-Denis, localisé à l'hôpital Avicenne à Bobigny.

Cette structure permet au CNR de répondre à l'ensemble des missions définies par le décret n°2016-806 du 16 juin 2016 relatif aux Centres Nationaux de Référence pour la lutte contre les maladies transmissibles et par l'arrêté de mars 2022 fixant le cahier des charges des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles en s'articulant autour de 4 axes majeurs :

1. Expertise microbiologique
2. Conseil
3. Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique
4. Contribution à l'alerte

1. Le développement, la standardisation et l'évaluation des performances analytiques et cliniques, des indications des tests et des nouvelles technologies virologiques à visée diagnostique et de suivi thérapeutique des hépatites virales fait l'objet de nombreuses études.

Le développement et la validation de tests de dépistage rapides (TDR ou TROD) sur des matrices non conventionnelles (sang total capillaire, salive) ou de supports spécifiques permettant le recueil de sang total capillaire (papier filtre, micro-prélèvement volumétriques) utilisés comme alternative au prélèvement veineux seront poursuivis et amplifiés, en particulier pour le virus delta. Ces tests ont un intérêt tout particulier vis-à-vis de populations marginalisées sans accès aux structures de soins classiques, un intérêt majeur dans les pays à ressources limitées afin non seulement de dépister les populations éloignées géographiquement des structures de soins mais également de tester les infections transmissibles par les produits sanguins, et dans les enquêtes épidémiologiques de grande envergure (BaroTest).

Une des missions importantes du CNR concernera le typage moléculaire des souches d'hépatites B, C et delta à l'aide d'analyses phylogéniques. Le développement de la biologie moléculaire au cours de la dernière décennie, avec en particulier le développement des méthodes de séquençage à haut débit de nouvelle génération (plateforme "GENOBIOMICS") regroupant les dernières technologies et des approches bio-informatiques (metaMIC) est implantée au cœur des locaux de l'hôpital Henri Mondor, le laboratoire associé disposant également de séquenceurs haut débit, permet d'investiguer des situations complexes d'intérêt médical et scientifique. Ces nouvelles technologies sont mises à profit dans les études de cas isolés, cas groupés, épidémies, auxquelles les CNR sont régulièrement confrontés.

La détection et l'investigation virologique de "nouveaux agents viraux" potentiellement impliqués dans la survenue d'hépatites chez l'homme reste d'actualité, et ce avec les cas d'hépatites aiguës sévères pédiatriques d'étiologie inconnue observées dans plusieurs pays européens dont le Royaume-Uni ou l'identification par métagénomique shogun au sein du laboratoire d'un nouveau virus chez une femme immunodéprimée (doublement transplantée cœur-poumons) souffrant d'une hépatite aiguë sévère de cause indéterminée (Rodriguez *et al.*, Emerg Infect Dis 2023 ;29(5) :1051-54).

L'étude de la résistance des virus d'hépatites aux antiviraux à action directe se fait en étroite collaboration avec le réseau de laboratoire de virologie de l'ANRS-MIE à travers la caractérisation de la résistance primaire du VHC aux antiviraux directs de souches circulant en Afrique (Mali et Gabon) et en Asie du Sud-Est (Thaïlande) (étude HCVResiS). L'expertise microbiologique en sécurité transfusionnelle et des dons d'organes, qui recouvre notamment l'évaluation des réactifs de dépistage et de confirmation, la collecte d'échantillons via l'EFS et le CTSA et la surveillance des donneurs de sang est assurée par le laboratoire coordonnateur. Ce dernier abrite en effet le laboratoire Central de Qualification Virologique des Organes, Tissus et Cellules de l'AP-HP (Responsable : Dominique Challine), qui couvre un large territoire allant de l'Ile-de-France à la région Centre-Val de Loire et la Normandie ainsi que les Antilles françaises, ainsi que l'ex-CNR Risques Infectieux Transfusionnels (RIT) depuis avril 2021. L'activité d'expertise du

CNR RIT dans le domaine des hépatites virales se poursuit malgré la suppression de ce dernier. L'évaluation du risque de transmission après accident d'exposition au sang dans le cadre d'un milieu de soins ou autre sera assurée par le CNR des virus des hépatites B, C et delta, dans le cadre des activités diagnostiques.

2. Une prestation de conseil dans les domaines couvrant largement le champ des hépatites virales sera réalisée [chimiothérapie anti-infectieuse (antiviraux), risques de transmission, méthodes de dépistage, diagnostic et typage, stratégies de traitement, etc...] auprès des professionnels ou instances de santé qui en font la demande auprès de l'un des laboratoires du CNR virus des hépatites B, C et delta.

3. La surveillance des types viraux en France et la détection des virus mutants émergents susceptibles de poser des difficultés diagnostiques, de prise en charge thérapeutique ou d'échappement à la vaccination (pour le VHB) sont assurées conjointement par les 2 laboratoires dans leurs domaines de compétences respectives. Cette surveillance épidémiologique bénéficiera de l'expertise de participants extérieurs au CNR ; on pourra citer le réseau de laboratoires de virologie médicale de l'ANRS-MIE, en particulier pour la surveillance des types viraux circulants et la surveillance de la résistance aux antiviraux directs pour l'hépatite B, C et delta. La surveillance des types viraux permet ainsi de mieux renseigner la prévalence et/ou l'incidence des hépatites B, C et delta (ainsi que celle du VIH avec un dépistage systématique des 3 virus) au sein de différentes populations [population consultant le Service d'Accueil des Urgences de l'hôpital Henri Mondor, population générale âgée >40 ans habitant Créteil en lien avec la médecine générale, incidence de la surinfection du virus delta dans 2 cohortes longitudinales de porteurs chroniques de l'AgHBs (France et Gambie), prévalence du VHB, VHC (et du VIH) dans la population générale à travers le volet biologique BaroTest de la neuvième vague des Baromètres Santé] ou dans certaines régions (Guyane) dans le cadre des projets de micro-élimination de l'hépatite C. Des études visant à la cartographie des types circulant pour le VHC mais également pour le VHB en partenariat avec le réseau des laboratoires de l'AC43 sont mises en place. Elles permettront entre autres de comparer l'évolution des types circulant en France par rapport aux études antérieures.

4. Les deux laboratoires qui constituent le CNR virus des hépatites B, C et delta contribuent à l'alerte en signalant à l'agence nationale de santé publique tout évènement sanitaire inhabituel (suspicion de cas groupés, émergence d'une souche particulière, forme cliniques inhabituelles, ...).

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Personnels dévolus au laboratoire coordonnateur :

	Qualification	ETP	Organisme payeur
Stéphane Chevaliez	PU-PH	0,5	UPEC/APHP
Jean-Michel Pawlotsky	PU-PH	0,1	UPEC/APHP
Slim Fourati	PU-PH	0,2	UPEC/APHP
Christophe Rodriguez	PU-PH	0,2	UPEC/APHP
Magali Bouvier-Alias	PH	0,2	APHP
Dominique Challine	PH	0,2	APHP
Pierre Cappy	PH	0,5	APHP
Daniel Candotti	Chargé de mission	0,2	APHP
Meriem Harrabi	ARC	1,0	Dotation CNR
Odon Thiebauld de la Crouée	Ingénieur	1,0	Dotation CNR
Nazim Ahnou	Technicien	0,1	Dotation CNR
Arnaud Ly	Doctorant	1,0	Dotation CNR
Rola Matar	Doctorante	1,0	Dotation CNR
Taylor Thompson	Doctorante	1,0	Dotation CNR
Valérie Ortonne	Technicienne	1,0	APHP
Olivia Garrigou	Technicienne	1,0	APHP
Delphine Rosse	Technicienne	1,0	APHP
Jeanne-Marie Le Glaunec	Technicienne	1,0	APHP
Nathalie Jousset	Cadre	0,1	APHP
Laurence Ledit	Assistante	0,1	APHP
Total ETP		11,4	

Personnels dévolus dans les activités du laboratoire associé delta :

	Qualification	ETP	Organisme payeur
Sékolène Brichler	MCU-PH	0,3	USPN/APHP
Emmanuel Gordien	MCU-PH	0,2	USPN/APHP
Brigitte Lamy	PU-PH	0,1	USPN/APHP
Dominique Roulot	PU-PH	0,2	USPN/APHP
Frédéric Le Gal	Ingénieur	0,5	APHP
Samira Dziri	Ingénieure	0,3	APHP
Athénais Gerber	Ingénieure	1,0	Dotation CNR
Valérian Delagarde	Ass Ingénieur	1,0	Dotation CNR
Sezen Zheng	Étudiante alternance	0,5	Dotation CNR
Mathias Poudroux	Cadre	0,1	APHP
Catherine Arras	Assistante	0,2	APHP
Total ETP		4,4	

1.3 Locaux et équipements

Le laboratoire hospitalo-universitaire de Virologie du Département “Prévention, Diagnostic, Traitement des infections” occupe 430 m² de laboratoire, 105 m² de bureau, 175 m² de surface d'accueil, laverie et réserves, salle de réunions (certains locaux sont communs avec le laboratoire de Bactériologie-Hygiène et la plateforme de séquençage de nouvelle génération “GENOBIOMICS”) ; 30 m² sont réservés à la garde de nuit (**Figure 1**). Le laboratoire fonctionne 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7. Le CNR bénéficie d'une plateforme automatisée de sérologies, ainsi qu'une plateforme intégrée de biologie moléculaire en maladies infectieuses et une plateforme de séquençage de nouvelle génération à haut débit (*next-generation sequencing*, NGS). Cette plateforme est localisée dans des locaux dédiés, contigus au Département “Prévention, Diagnostic, Traitement des infections”, sous la responsabilité du Professeur Christophe Rodriguez. La **Figure 1** présente les surfaces occupées par le laboratoire de virologie, la plateforme de NGS, ainsi que les surfaces communes au Département.

Une nouvelle plateforme universitaire de Biologie et de Pathologie d'une superficie de plus de 8 000 m² pour un budget de 53 millions d'euros verra le jour d'ici 2028. En effet, il s'agit d'un projet visant à mettre en place une offre territoriale de biologie et de pathologie à haute valeur ajoutée au sein d'un laboratoire partagé assurant l'intégralité des activités de proximité et d'expertise et de recours pour l'ensemble des partenaires du territoire et de son bassin de population. Le projet associera la création d'un nouveau bâtiment de 4 800 m² à la restructuration de 3 300 m² de surfaces aujourd'hui occupés par les laboratoires afin d'organiser l'activité du DMU de Biologie – Pathologie autour de 5 plateformes technologiques à haute valence d'innovation (GenoBioMics, CytoSphère, ProS2, ImlAge et DRY), d'une plateforme de très grande routine de haut débit (PHD24), d'un centre de prélèvements et de laboratoires spécialisés à la pointe de la recherche biomédicale. Ce projet permettra d'assurer l'avenir des activités hospitalo-universitaires de biologie et de pathologie au service des 2,5 millions d'habitants du territoire.

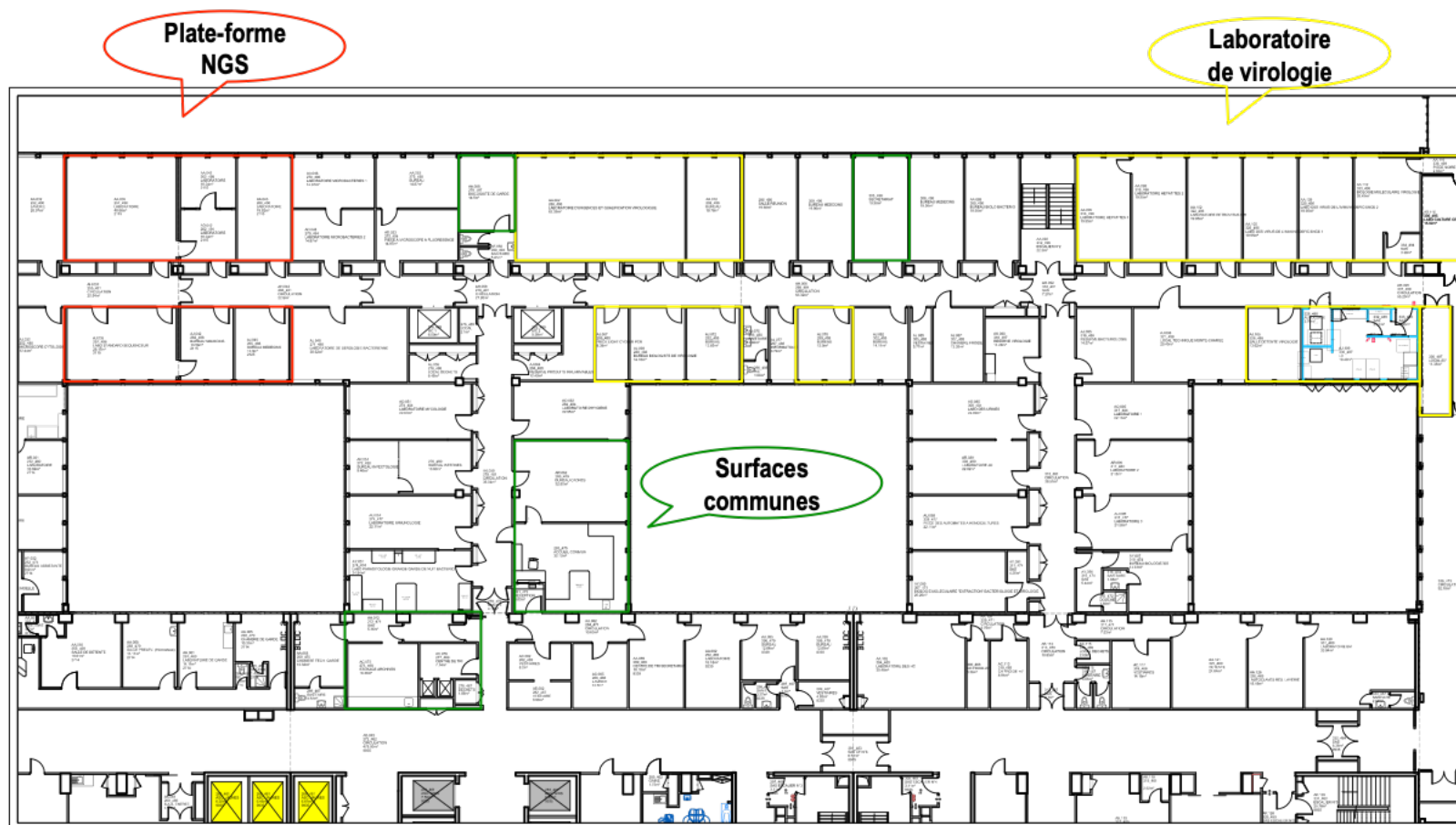
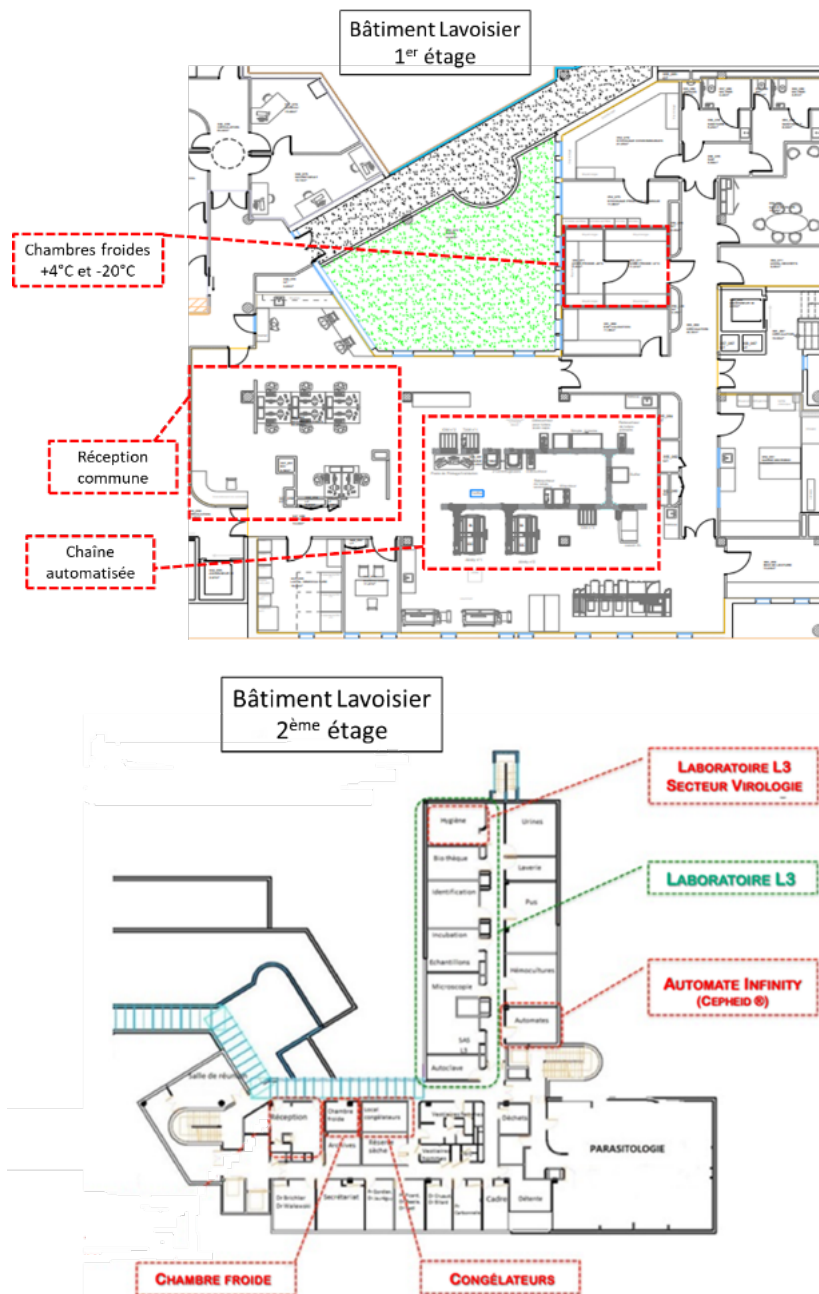


Figure 1 : Plan actuel du Département “Prévention, Diagnostic, Traitement des infections” avec les locaux dédiés au laboratoire de Virologie représenté en jaune, la plate-forme de NGS en rouge et les surfaces communes en vert. Cette organisation est appelée à évoluer avec l’ouverture de la plateforme hospitalo-universitaire de territoire de Biologie et Pathologie des hôpitaux universitaires Henri Mondor en 2028

Le laboratoire de Microbiologie Clinique est situé dans le bâtiment Lavoisier, qui regroupe l'ensemble des laboratoires de biologie de l'hôpital Avicenne. Ses locaux techniques ainsi que les bureaux des personnels ont été largement modifiés en 2024, et sont désormais répartis sur 3 niveaux (**Figure 2**). En effet, le laboratoire a ouvert un plateau technique automatisé au 1^{er} étage du bâtiment Lavoisier, qui accueille une réception commune à tous les laboratoires (avec les gares d'arrivée des pneumatiques venant des services de soins) et une chaîne Abbott regroupant l'activité pré-analytique (centrifugation, aliquotage), analytiques (2 automates Alinity i et 1 automate LIAISON XL pour le Biochimie et la Sérologie Infectieuse, tri des tubes) et post-analytique (stockage des échantillons primaires).



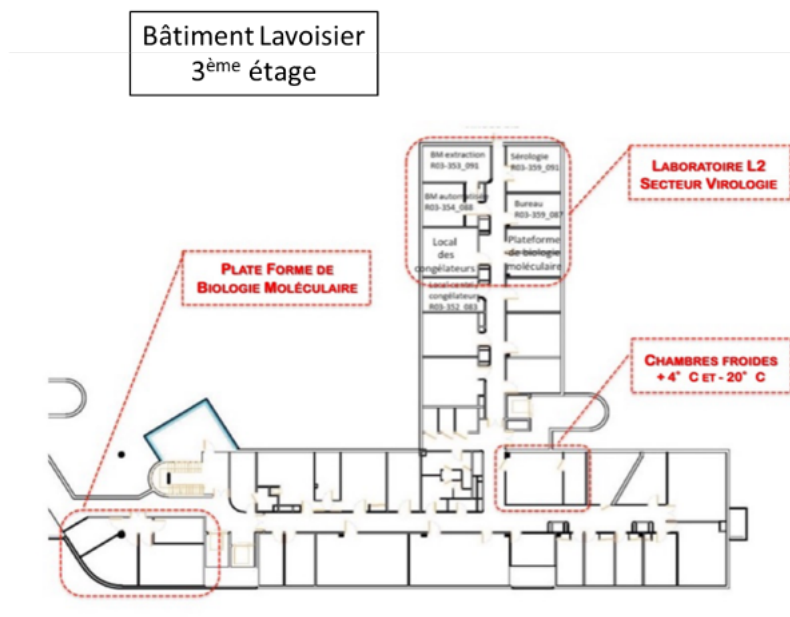


Figure 2 : Plan du laboratoire de Microbiologie Clinique d'Avicenne

Principaux équipements

Les équipements à la disposition du laboratoire coordonnateur sont les suivants :

Automates de sérologie

- . 3 VIDAS 3 (bioMérieux)
- . 1 LIAISON XL (DIASORIN)
- . 1 VITROS 3600 (Ortho-Clinical Diagnostics)
- . 1 ARCHITECT (Abbott)
- . 1 ALINITY i (Abbott)
- . 1 Virclia LOTUS (Eurobio Scientific)
- . 1 Lumipulse G600II (Fujirebio Inc.)

Automates dédiés à la détection et à la quantification des acides nucléiques

- . 2 extracteurs/thermocycleurs PCR en temps réel Alinity *m* (Abbott Molecular)
- . 1 extracteur/thermocycleur TMA en temps réel Panther (Hologic)
- . 1 extracteur/thermocycleur TMA/PCR en temps réel Panther/Fusion
- . 1 cobas 5800 System
- . 3 GeneXpert (Cepheid)
- . 1 extracteur EMAG (bioMérieux)
- . 1 thermocycleur pour PCR en temps réel ABI7300 (Applied Biosystems)
- . 2 thermocycleurs Veriti (Applied Biosystems)
- . 2 thermocycleurs 2720 ((Applied Biosystems)
- . 1 thermocycleur QuantStudio 5 (Thermo Fisher)

Automates dédiés à la caractérisation de la séquence des génomes viraux

- . 1 automate d'analyse des hybridations inverses AUTOBLOT 3000 (Siemens)

Matériel destiné à la constitution et la conservation des thèques

- . Hottes à flux laminaires
- . Congélateurs -80°C
- . Chambres froides et congélateurs -20°C

Équipements pour la plateforme de NGS

- . 3 Chemagic Prime (Perkin) (Extracteurs haut débit)
- . 1 QiaSymphony (Qiagen (extracteur moyen débit)
- . 3 préparateurs de bibliothèques DreamPrep Fluent (Tecan)

- . 1 Sentosa SX (Agilent) (Préparateur de banque Vela Diagnostics)
- . 1 Ion Chief (Thermo Fischer) (Préparateur de banque Thermo Fischer)
- . 16 thermocycleurs Veriti (Thermo Fischer)
- . 1 thermocycleur QuantStudio 5 (Thermo Fisher)
- . 1 LC480 (Roche) (qPCR)
- . 1 ABI7900 (Thermo Fischer) (qPCR)
- . 1 RotorGene Q (Qiagen) (qPCR)
- . 1 QX200 (Biorad) (PCR digitale)
- . 1 Varioskan (Thermo Fisher) (Lecteur absorbance, fluorescence haut débit)
- . 1 Tape Station2000 (Agilent) (migration sur gel automatisée)
- . 2 MiSeq (Illumina) (NGS)
- . 2 NextSeq 500 (Illumina) (NGS)
- . 1 NextSeq2000 (Illumina) (NGS)
- . 1 NovaSeq6000 (Illumina) (NGS)
- . 1 PGMTM (Thermo Fisher) (NGS)
- . 1 S5 (Thermo Fischer) (NGS)
- . 1 Genexus Thermo Fischer) (NGS)
- . 1 Gridion (Oxford Nanopore) (NGS)
- . 2 SeqStudio (Thermo Fischer) (Sanger)

Équipements de traitement bio-informatique des données (NGS)

- . 2 serveurs Dragen (Illumina) (Core FPGA dédié aux analyses génomiques)
- . 2 serveurs GPU
- . 7 serveurs polyvalents en grappe comprenant 5 serveurs de production et 2 en développement (220 Core ; 1,5 To)
- . 1 serveur de stockage chaud (120 To SSD)
- . 1 serveur de stockage froid (1 Po)

Les équipements à la disposition du laboratoire associé delta sont les suivants :

Automates de sérologies virales

- . 1 LIAISON XL (DiaSorin)
- . 2 ALINITY i (Abbott)
- . 1 ARCHITECT i1000 (Abbott)
- . 1 ETIMAX 3000 (DiaSorin)
- . 1 EVOLIS (Biorad)
- . 1 TENDIGO (Fujirebio Inc.)

Automates dédiés à la détection et à la quantification des acides nucléiques

- . 2 extracteurs d'acides nucléiques (Maxwell Promega)
- . 1 extracteur d'acides nucléiques (NucliSENS EasyMag Biomérieux)
- . 1 extracteur/thermocycleur PCR en temps réel Alinity m (Abbott Molecular)
- . 1 extracteur automatique d'acides nucléiques *m2000_{SP}* (Abbott Molecular)
- . 1 thermocycleur pour PCR en temps réel ABI7500 (Applied Biosystems)
- . 2 thermocycleurs pour PCR en temps réel QuantStudio 7 (Applied Biosystems)
- . 1 thermocycleur pour PCR en temps réel CFX96 (Biorad)
- . 1 automate LIAISON MDX
- . 1 robot Infinity (Cepheid) avec 16 modules indépendants
- . 8 modules de FilmArray Torch (Biomérieux)
- . 4 thermocycleurs point final (Applied Biosystems)

Automates dédiés à la caractérisation de la séquence des génomes viraux

- . 1 Séquenceur ABI 3500DX (8 capillaires) (Applied Biosystems)
- . 1 Séquenceur SeqStudio (4 capillaires) (Thermo Fisher)
- . 2 Ion Chief (Thermo Fischer) (Préparateur de banque Thermo Fischer)
- . 1 Séquenceur S5 (Thermo Fischer) (NGS)
- . 1 Genexus (Thermo Fisher) (préparateur de banque et séquenceur Thermo Fisher) (NGS)
- . 1 MySeq (Illumina) (NGS)

- . 1 NextSeq 550 (Illumina) (NGS)
- . 1 Minlon (Nanopore)
- . 2 automates de pipetage : Biomek 4000 et Biomek NXP (Beckman Coulter)

Matériel destiné à la constitution et la conservation des thèques

- . 5 Hottes à flux laminaire de type PSM2
- . Congélateurs à -20°C et à -80°C
- . Congélateurs à -150°C
- . Chambres froides à +4°C et -20°C

Laboratoire L3

- . Espace dédié à la virologie incluant tous les équipements nécessaires à la culture virale B-delta (2 étuves CO2, 1 microscope inversé, 1 PSM2, 1 congélateur à -20°C et 1 congélateur à -80°C)

1.4 Collections de matériel biologique

Cf. Annexe 6.

1.5 Démarche qualité du laboratoire

L'ensemble des analyses utilisées pour le dépistage et le diagnostic des infections par le VHB, VHD et le VHC sont accréditées par le COFRAC selon la Norme ISO 15189. Les laboratoires coordonnateur et associé participent au programme d'évaluation externe de la qualité proposé par le CTCB et le QCMD.

En plus de la quantification de l'ARN du VHD, le laboratoire associé réalise systématiquement un séquençage des souches envoyées dans le cadre de ces EEQ. Malheureusement, la majorité des échantillons contenus dans ces enquêtes appartiennent au génotype HDV-1, et ces programmes ne permettent pas de tester vraiment la capacité pangénomique des techniques. C'est pourquoi le laboratoire organise chaque année, à destination des laboratoires français, un contrôle national de qualité de biologie moléculaire. Les résultats du laboratoire de virologie d'Avicenne font l'objet d'une analyse individuelle comme l'ensemble des participants.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Les différentes techniques de référence disponibles au **laboratoire de virologie de l'hôpital Henri Mondor** pour le dépistage, le diagnostic l'identification des virus d'hépatites et l'évaluation de la sensibilité aux antiviraux sont les suivantes :

. Méthodes sérologiques automatisées permettant la détection et/ou la quantification d'antigènes viraux et d'anticorps, comme la détection et la quantification de l'AgHBs, de l'antigène de capsid du VHC (AgC), de l'AgHBe et de l'antigène lié à la capsid du VHB (HBcrAg), la détection des anticorps HbC totaux et IgM, la quantification des anticorps HBs et la détection des anticorps HBe, des anticorps VHC totaux et des anti-HD (méthode automatisée et manuelle).

. Techniques de biologie moléculaire pour la détection et la quantification des acides nucléiques (ADN VHB, ARN VHC et ARN VHD) par PCR "classique" ou par PCR/TMA en temps réel automatisée.

. Techniques de biologie moléculaire pour la détermination du génotype du VHC par séquençage direct des régions NS5B et core/E1, et par NGS des régions NS3, NS5A et NS5B (trousse Sentosa SQ HCV Genotyping version 2) ou du génome complet (métagénomique shotgun).

. Techniques de biologie moléculaire pour la détermination du génotype du VHB par séquençage direct de la région codant l'AgHBs et/ou la région PreS ou par NGS (trousse ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay).

. Techniques d'identification des VHB mutants de la région PreC/C par séquençage direct, hybridation inverse (Inno-LiPA HBV precore) ou par NGS (trousse ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay).

. Techniques de biologie moléculaire pour l'étude de la séquence des régions hypervariables HVR1 et de la glycoprotéine E1 du VHC, destinée aux études de transmission virale.

. Techniques de biologie moléculaire pour la détection des mutations de résistance du VHB associées à la chimiothérapie antivirale, fondées sur le séquençage direct du domaine transcriptase inverse de l'ADN polymérase, l'hybridation inverse (Inno-LiPA HBV DR v3) ou par NGS (trousse ViroKey® SQ FLEX Genotyping Assay) ; la caractérisation de la dynamique des populations virales sous traitement par l'étude des quasi-espèces de la transcriptase inverse du VHB par des techniques de clonage-séquençage ; et les techniques de détection des mutations de résistance et de caractérisation de leurs dynamiques par séquençage à haut débit suivi de l'analyse des données par notre package de logiciels développés au sein du laboratoire PyroPack® (UDPS).

. Techniques de biologie moléculaire pour la détection des mutations de résistance du VHC aux inhibiteurs directs, fondées sur le séquençage direct des protéines NS3 (protéase), NS5B (polymérase) et NS5A ; la caractérisation de la dynamique des populations virales sous traitement par l'étude des quasi-espèces des régions virales ciblées par les antiviraux du VHC par clonage-séquençage ; et les techniques de détection des mutations de résistance par la trousse Sentosa SQ HCV Genotyping version 2.0 Assay (Vela Diagnostics).

. Techniques de biologie moléculaire pour l'analyse de la séquence du gène S codant preS et l'AgHBs, en particulier la région hydrophile majeure (MHR) contenant des déterminants importants de la réponse humorale, appliquées aux études de transmission du VHB et à la recherche de mutants de l'AgHBs non détectés par les tests sérologiques (hépatites B dites "à virus mutant de l'AgHBs").

. Techniques de biologie moléculaire pour la détection des acides nucléiques (ADN VHB, ARN VHC et ARN VHD), de la détermination du génotype VHC, VHD et VHB, ainsi que la détection des mutations de résistance du VHC à partir de sang total déposé sur papier buvard (DBS).

. Techniques de détection des marqueurs sérologiques (anticorps VHC, AgHBs, anticorps HBs et HbC totaux, anticorps delta) à partir de sang total déposé sur papier buvard (DBS).

Les différentes techniques de référence disponibles au **laboratoire de Microbiologie Clinique de l'hôpital Avicenne** pour le dépistage, le diagnostic l'identification des virus d'hépatites et l'évaluation de la sensibilité aux antiviraux sont les suivantes :

. Méthodes sérologiques automatisées ou manuelles pour la détection des anticorps VHD (Liaison XL murex Anti-HDV et HDV Ab DIA PRO) et des IgM anti-VHD (EIAgen anti-HDV IgM kit, DIA.PRO).

. Techniques de biologie moléculaire pour la quantification de l'ARN VHD (EurobioPlex HDV RT-PCR EBX-071, Eurobio).

. Techniques de biologie moléculaire pour la détermination du génotype du VHD (analyse phylogénique de la région R0).

. Techniques de biologie moléculaire pour l'analyse de nombreuses régions du VHD (R1, R2 et R3) et la reconstitution de la séquence complète du génome viral.

. Techniques de biologie moléculaire pour la détermination du taux d'Editing du VHD (NGS Illumina).

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Sans objet.

3. Annexe 3

Fiche de Renseignements																						
Surveillance Nationale des Patients Nouvellement Pris en Charge pour l'Infection par le Virus de Hépatite B (±VHD) à Partir des Centres Experts (FPRH), des Services d'Hépatologie des Hôpitaux Généraux (ANGH) et du Réseau de Virologie et de Pharmacologie Médicale (ANRS-MIE)																						
INFORMATION DU CENTRE EXPERT OU SERVICE																						
Nom du centre expert ou service : _____ Adresse : _____ Responsable du centre expert ou service : _____ Adresse électronique : _____ Responsable opérationnel du centre expert ou service : _____ Référent du laboratoire de virologie : _____ Adresse électronique : _____																						
POTENTIEL D'INCLUSION : DONNEES CONCERNANT LES PATIENTS HEPATITE CHRONIQUE B EN 2023																						
Données rétrospectives (2023) ➤ File active patients hépatite B ¹ : _____ ○ Nombre de patients mono-infectés VHB : _____ ○ Nombre de patients co-infectés VHB et VHD : _____ ○ Nombre de patients nouvellement pris en charge pour leur hépatite B ² : _____ ○ Nombre de patients ayant initié un traitement pour leur hépatite chronique B : _____																						
¹ Définition de la file active : nombre total de patients infectés par le VHB vus au moins une fois dans le centre expert ou service au cours de l'année. Il s'agit bien d'un décompte de patients et pas d'un décompte de recours. Un patient peut être « vu » lors d'une consultation, un passage à l'hôpital de jour ou une hospitalisation. ² Patient nouvellement pris pour hépatite chronique B dans le centre ou le service																						
EQUIPE DE RECHERCHE ET ORGANISATION DU CENTRE																						
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;"></th> <th style="width: 10%; text-align: center;">Oui</th> <th style="width: 10%; text-align: center;">Non</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Disposez-vous de personnel(s) dédié(s) à la recherche clinique ?</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td>Si oui, ☐ ARC/TEC ☐ IRC ☐ Co-investigateur ☐ Infirmière (Autre) ☐ Pharmacien ☐ Autres _____</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐ Secrétariat spécifique à la recherche clinique ou temps dédié ☐ Autre personnel</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Si oui, avez-vous des TEC/TEB/MEC/MEB/IRC impliqués dans la suite de l'étude ANRS CO22 Hepather (HEPAT-B) ?</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td>Disposez-vous de lieux de stockage des prélèvements pour l'étude ?</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Si oui, capacité de stockage : _____</td> </tr> </tbody> </table>			Oui	Non	Disposez-vous de personnel(s) dédié(s) à la recherche clinique ?	☐	☐	Si oui, ☐ ARC/TEC ☐ IRC ☐ Co-investigateur ☐ Infirmière (Autre) ☐ Pharmacien ☐ Autres _____			☐ Secrétariat spécifique à la recherche clinique ou temps dédié ☐ Autre personnel			Si oui, avez-vous des TEC/TEB/MEC/MEB/IRC impliqués dans la suite de l'étude ANRS CO22 Hepather (HEPAT-B) ?	☐	☐	Disposez-vous de lieux de stockage des prélèvements pour l'étude ?	☐	☐			Si oui, capacité de stockage : _____
	Oui	Non																				
Disposez-vous de personnel(s) dédié(s) à la recherche clinique ?	☐	☐																				
Si oui, ☐ ARC/TEC ☐ IRC ☐ Co-investigateur ☐ Infirmière (Autre) ☐ Pharmacien ☐ Autres _____																						
☐ Secrétariat spécifique à la recherche clinique ou temps dédié ☐ Autre personnel																						
Si oui, avez-vous des TEC/TEB/MEC/MEB/IRC impliqués dans la suite de l'étude ANRS CO22 Hepather (HEPAT-B) ?	☐	☐																				
Disposez-vous de lieux de stockage des prélèvements pour l'étude ?	☐	☐																				
		Si oui, capacité de stockage : _____																				
INTERET POUR L'ETUDE																						
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;"></th> <th style="width: 10%; text-align: center;">Oui</th> <th style="width: 10%; text-align: center;">Non</th> <th style="width: 30%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Le tube de sang (sérum ou plasma) à collecter au moment de la prise en charge ou à une date la plus proche est-il compatible avec vos pratiques ?</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Si non, préciser : _____ _____ _____</td> </tr> <tr> <td>Quels sont les besoins de votre centre ou service pour participer à cette étude (personnel, matériel, financement...)?</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Commentaires : _____ _____ _____</td> </tr> <tr> <td>En vous basant sur le synopsis, des difficultés de recrutement des patients sont-elles à prévoir dans votre centre ou service ?</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Commentaires : _____ _____ _____</td> </tr> </tbody> </table>			Oui	Non		Le tube de sang (sérum ou plasma) à collecter au moment de la prise en charge ou à une date la plus proche est-il compatible avec vos pratiques ?	☐	☐	Si non, préciser : _____ _____ _____	Quels sont les besoins de votre centre ou service pour participer à cette étude (personnel, matériel, financement...)?	☐	☐	Commentaires : _____ _____ _____	En vous basant sur le synopsis, des difficultés de recrutement des patients sont-elles à prévoir dans votre centre ou service ?	☐	☐	Commentaires : _____ _____ _____					
	Oui	Non																				
Le tube de sang (sérum ou plasma) à collecter au moment de la prise en charge ou à une date la plus proche est-il compatible avec vos pratiques ?	☐	☐	Si non, préciser : _____ _____ _____																			
Quels sont les besoins de votre centre ou service pour participer à cette étude (personnel, matériel, financement...)?	☐	☐	Commentaires : _____ _____ _____																			
En vous basant sur le synopsis, des difficultés de recrutement des patients sont-elles à prévoir dans votre centre ou service ?	☐	☐	Commentaires : _____ _____ _____																			

4. Annexe 4

Distribution génotypes VHC en France 2023-2024 Variables accompagnant les échantillons biologiques

Identification échantillon :

Hôpital :

Date échantillon : DD/MM/YYYY

Année de naissance :

Pays de naissance :

Sexe : Femme ☐ Homme ☐ Autre ☐

ARN VHC ($\log_{10}$ UI/mL) :

Coinfections : VIH ☐ VHB ☐ VHB/VHD ☐

Cirrhose : Oui ☐ Non ☐

Test non invasif (Fibrotest, APRI, FIB-4) : ☐ Valeur du test :

Elastométrie (kPa) :

Gène séquencé pour le génotypage :

Séquence nucléotidique disponible ☐ :

GATTACA-----

Génotype/sous-type :

Antécédents de traitement : Non ☐ PEGInf/RBV ☐ AAD ☐

Mise sous traitement par AAD : Oui ☐ Non ☐

Si oui, type de traitement : G/P ☐ SOF/VEL ☐ SOF/VEL/VOX ☐

 SOF + G/P ☐ RBV ☐ Autre :

Date de début de traitement : DD/MM/YYYY

Durée de traitement : 6 semaines ☐ 12 semaines ☐ 18 semaines ☐ 24 semaines ☐

Réponse virologique soutenue : Oui ☐ Non ☐

Si échec du traitement, échantillon disponible : Oui ☐ Non ☐

Si échantillon disponible, date de l'échantillon :

5. Annexe 5 : Autres informations

5.1 Permanence du CNR ¹

Le laboratoire de Virologie du GH Henri Mondor est ouvert 7 jours sur 7 et 24 heures sur 24. Un biologiste médical et un technicien sont présents au minimum au laboratoire en dehors des heures et jours ouvrés.

Personnes à contacter :

- . Stéphane Chevaliez (bureau 01 49 81 28 28, portable 06 61 49 17 93)
- . Jean-Michel Pawlotsky (bureau 01 49 81 28 27, portable 06 73 16 62 16)

Le laboratoire de Microbiologie Clinique d'Avicenne est ouvert du lundi au vendredi de 8h00 à 17h30, et le samedi de 8h00 à 15h30 (présence d'un technicien de Virologie). Un biologiste médical de l'unité de virologie est présent 6 jours/7, et 2 des 4 biologistes du service font partie du CNR-VHD. En dehors de ces plages horaires, des prélèvements peuvent être réceptionnés au niveau de la réception commune du Plateau technique Automatisé au 1^{er} étage du bâtiment, mais aucune analyse ne peut être réalisée. Il n'y a pas d'astreinte téléphonique pour le CNR-VHD.

Personnes à contacter :

- . Ségolène Brichler (bureau 01 48 95 75 96, portable 06 07 06 08 45)
- . Emmanuel Gordien (bureau 01 48 95 58 12, portable 06 12 44 51 63)
- . Frédéric Le Gal (bureau 01 48 95 74 03, portable 06 07 05 51 19)

5.2 Autorisations MOT ²

Sans objet.

¹ Ces informations seront conservées exclusivement par Santé publique France aux seules fins de contacter un CNR en cas d'urgence ; elles ne seront pas rendues publiques.

² Micro-Organismes et Toxines de la liste prévue à l'article R. 5139-1 du code de la santé publique. La liste des MOT est actuellement fixée par l'arrêté du 30 avril 2012 modifié par les arrêtés du 6 novembre 2014 et par l'arrêté du 2 octobre 2015.

5.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale

Stéphane Chevaliez est biologiste médical et est autorisé à exercer la biologie médicale pour le CNR coordonnateur, ainsi que Dominique Challine, Magali Bouvier, Slim Fourati, Pierre Cappy et Christophe Rodriguez.

Ségolène Brichler est biologiste médical et est autorisé à exercer la biologie médicale pour le CNR associé ainsi que Emmanuel Gordien.

5.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo

Sans objet.

5.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année 2024, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France

Sans objet.

5.6 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

Cf. déclarations d'intérêts et engagements déontologiques signés par les responsables des CNR.

5.7 Autres remarques à destination du comité des CNR

Sans objet.

6. Annexe 6 : Recensement des collections de matériels biologiques

Toute nouvelle souche est conservée en biothèque dans les différents laboratoires du CNR. Les échantillons sont caractérisés (génotypage, charge virale, etc...) systématiquement selon les méthodes de référence disponibles. Un volume minimum de 500 microlitres minimum est conservé dans des cryotubes à pas de vis externe. Une biothèque spécifique consacrée aux donneurs d'organes, tissus et cellules contenant aujourd'hui plus de 47 000 échantillons dont environ 10 000 provenant de donneurs d'organes. Il s'agit d'une collection unique d'échantillons qui continuera à s'enrichir au sein du CNR à raison d'environ 1500-2000 nouveaux échantillons par an. De même, une biothèque spécifique consacrée aux donneurs de sang positifs pour les marqueurs VHB ou VHC.

Les collections de matériel biologique concernent essentiellement des échantillons de sang total collecté sur papier filtre (spots de sang séché) des centres médico-sociaux (CSAPA, CAARUD), unités de consultation et de soins ambulatoires (UCSA) de centres pénitentiaires, ainsi que des échantillons sériques ou plasmatiques dans le cadre de demandes de laboratoires ou services cliniques répartis sur le territoire national. Au total, 149 buvards et 548 échantillons de sang (plasma ou sérum) ont été collectés au cours de l'année 2024 et sont ainsi conservés à -20°C ou -80°C.

Une biothèque spécifique consacrée aux donneurs d'organes, tissus et cellules dans le cadre de la qualification virologique des dons est constituée depuis 2000. Cette biothèque contient aujourd'hui plus de 47 000 échantillons, dont XXX collectés en 2023. Dans le cadre de l'hémovigilance et de la surveillance des donneurs de sang positifs pour les marqueurs VHB ou VHC, XXX échantillons ont été reçus au laboratoire en 2023 : XX échantillons plasmatiques dans le cadre de l'hémovigilance et XX échantillons plasmatiques dans le cadre de la surveillance des donneurs de sang [XX dons positifs pour le VHB (AgHBs et/ou ADN VHB) et XX anti-HBc isolés et XX pour le VHC (et XX pour le VIH)].

La collection "donneurs de sang" débutée en 2005 pour le VHB et 2008 pour le VHC contient plusieurs centaines d'échantillons plasmatiques et est régulièrement alimentée par des échantillons informatifs (précoces de l'infection, différents génotypes, porteurs chroniques) centralisés sous des volumes pouvant aller jusqu'à 250 mL, correspondant à du plasma de donneurs de sang infectés par le VHB ou VHC. Sont disponibles 2 536 échantillons ADN VHB positif, génotypes divers, 170 échantillons ADN VHB positifs avec une souche ayant 1 ou plusieurs mutations du gène S, 56 échantillons positifs pour le VHD (anticorps et/ou ARN VHD) et 716 échantillons ARN VHC positifs, génotypes divers. Des panels de la Société Française de Transfusion Sanguine (SFTS) sont également disponibles (40 échantillons plasmatiques de 0,5 mL sérologiquement et moléculairement caractérisés représentant diverses situations clinico-biologiques) et 59 échantillons anti-HBc sous un volume de 1 mL).

La collection des souches VHD du laboratoire associé delta a débuté à la fin des années 1990. Elle a pour objectif de recenser de façon exhaustive, l'ensemble de la diversité génétique des souches de VHD circulant chez l'homme.

La collection de souches est stockée dans 3 congélateurs à -80°C au niveau de la Plateforme de Ressources Biologiques (PRB) du groupe hospitalier Paris Seine Saint Denis (GHPSSD), localisée sur le site de l'hôpital Avicenne. La PRB est sous la direction du Pr Marianne Zioli, et le Dr Ségolène Brichler est le biologiste responsable de l'UG PRB Virologie/Bactériologie. Elle est certifiée depuis 2023 selon la norme ISO 20387. Son activité est présentée sur le site internet du CHU (<https://chu93.aphp.fr/centre-de-ressources-biologiques/>).

PLATEFORME DE RESSOURCES BIOLOGIQUES

- > La Plateforme de Ressources Biologiques
- > Une équipe à disposition des professionnels de santé
- > Demander des échantillons

LA PLATEFORME DE RESSOURCES BIOLOGIQUES

La Plateforme de Ressources Biologiques (PRB) de l'hôpital Avicenne de Bobigny est un lieu d'enregistrement, de conservation et de transformation de collections de produits biologiques humains en vue de leur utilisation dans des projets de recherche biocliniques.

La Plateforme de Ressources Biologiques (PRB) a débuté ses activités en 2003. Elle est certifiée depuis 2023 selon la norme ISO 20387. Elle a pour missions :

- d'organiser des mises en collection d'échantillons biologiques ou de lames virtuelles
- de réceptionner, de préparer et de conserver ces échantillons biologiques dans le cadre de collections ou de Recherche Impliquant la Personne Humaine (RIPH)
- de mettre à disposition ces échantillons biologiques annotés pour nos équipes de recherches, nos collaborateurs extérieurs ou des industriels
- de centraliser des échantillons issues de RIPH multicentriques
- d'apporter son expertise scientifique ou qualité :

Anatomie pathologie – Pr Marianne Zioli marianne.zioli@aphp.fr

Hématologie – Pr Fanny Baran-Marszak fanny.baran-marszak@aphp.fr

Oncologie somatique – Pr Angela Sutton angela.sutton@aphp.fr

Bactériologie-virologie – Pr Ségolène Brichler segolene.brichler@aphp.fr

Toute nouvelle souche ARN VHD >0 est conservée au laboratoire associé delta en congélation à -80°C avec un volume minimum de 500 microlitres (sérum ou plasma). Les extraits (ARN et/ou ADN) sont également conservés. Ces échantillons sont systématiquement génotypés pour le VHD. Pour 595 prélèvements, le génotype de la souche VHB est également connu.

Les prélèvements contenus dans cette collection sont de 2 origines :

- Souches issues de la routine du laboratoire d'Avicenne et de ses partenaires (un aliquote de sérum ou de plasma de tout nouveau patient ayant été dépisté VHD positif répliquant est conservé dans cette collection).
- Souches issues de projets et de protocoles de recherche avec constitution de biothèque. Ces souches ont été obtenues grâce à des collaborations nationales et internationales, via de multiples projets de recherche depuis plus de 20 ans. Chaque souche fait l'objet d'un séquençage, au moins partiellement de la région R0. Le pays de naissance du patient, ainsi que quelques données démographiques sont également recueillis (âge, sexe).

Au 31 décembre 2024, la collection VHD comprenait 4 580 souches uniques. 128 souches et séquences ont été ajoutées à la collection en 2024. 3089 prélèvements ont été réalisés sur le territoire français (souches appelées « dFr »), et 1491 hors de France. Parmi ces derniers, la majorité nous a été confiée par les laboratoires Cerba (n=987) et Biomnis (n=145), via leurs filiales à l'étranger, dans le cadre du partenariat pour la surveillance épidémiologique des souches VHD circulantes. 326 souches, issues de projets de recherche, ont été basculées dans la collection du CNR-VHD. Les origines des prélèvements sont résumées sur la **Figure 3** ci-dessous. 280 séquences sont disponibles sur NCBI.

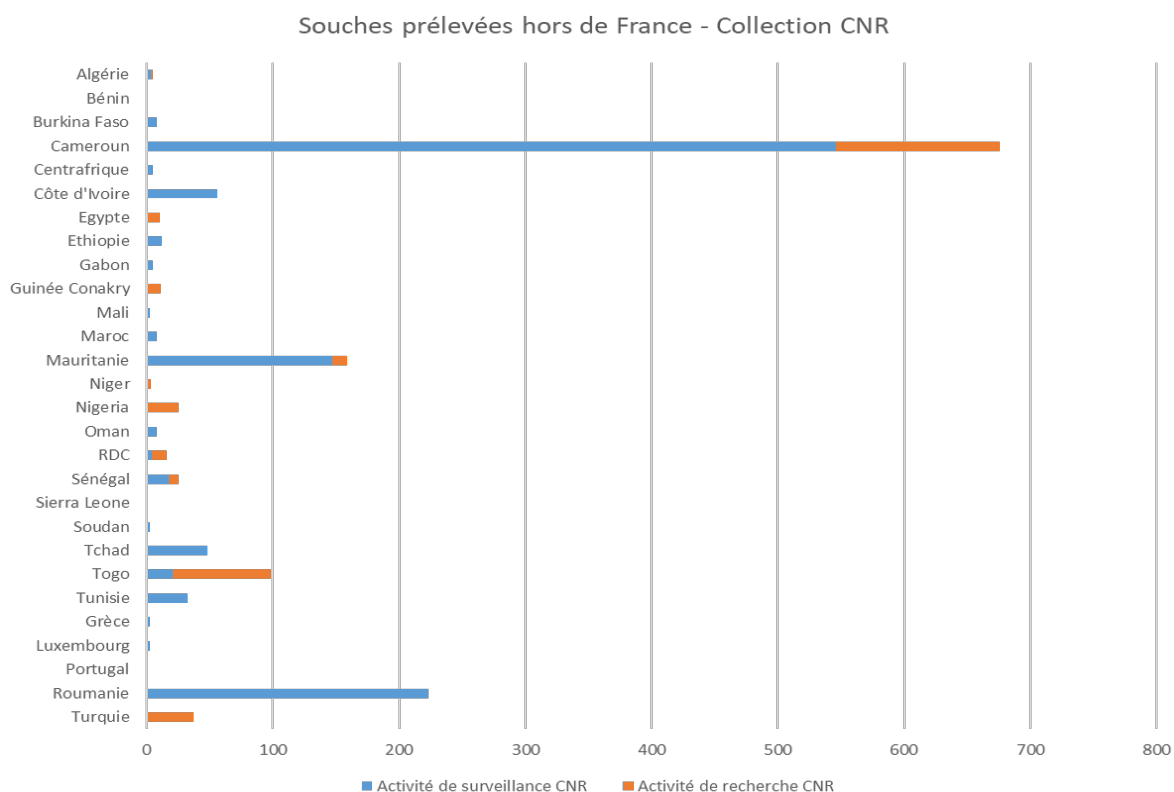


Figure 3 : Lieu d'origine des prélèvements de la collection CNR-VHD (hors-France)

En 2024, nous avons mis en place de façon officielle une « charte » de collaboration avec les laboratoires de virologie français réalisant la quantification de l'ARN du VHD en routine, portant sur les modalités d'envoi des prélèvements ARN-VHD+ au CNR-VHD, le retour des résultats du génotypage VHD, et les possibilités pour le laboratoire initial d'utiliser cette donnée pour son propre usage. Les envois des prélèvements sont organisés et pris en charge par le CNR-VHD.