



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

# LA RECHERCHE DE L'ANTIGÈNE PEUT-ELLE REMPLACER LA CHARGE VIRALE DU HCV?

Sara BENYAICH



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

# 1. Virologie

# Le virus de l'hépatite C

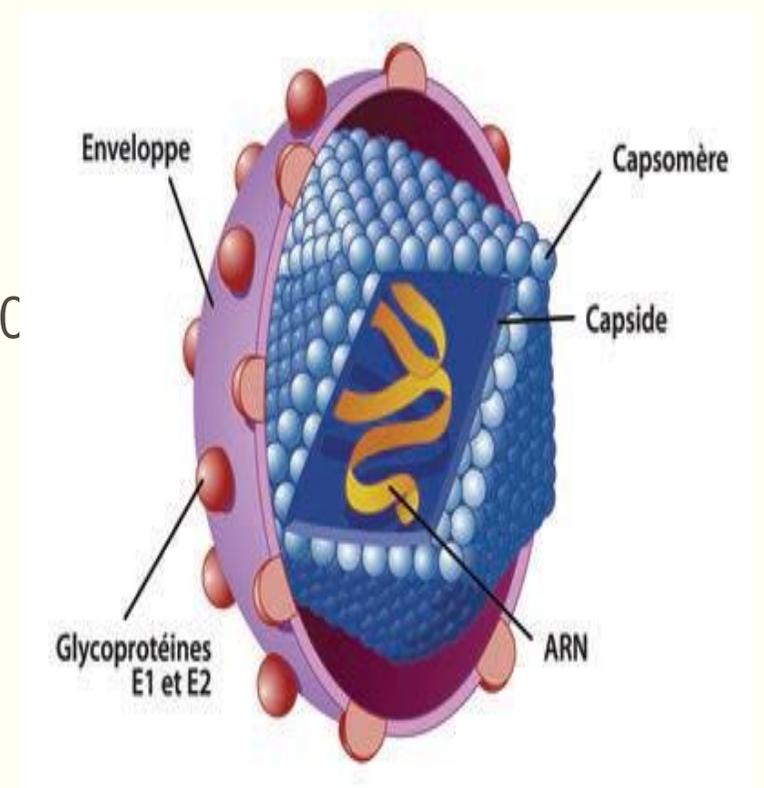


C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

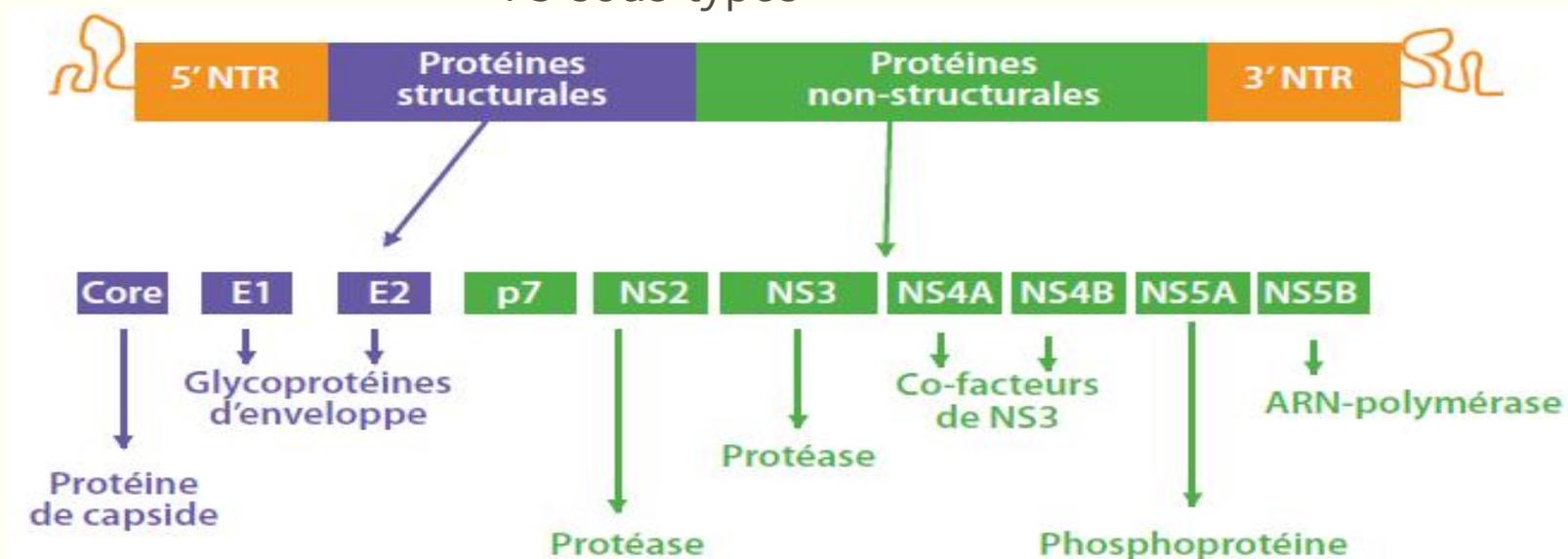
- ❑ Découverte du virus en 1989.
- ❑ Famille: *Flaviviridae*, genre: *Hepacivirus*.
- ❑ Particule virale de petite taille, sphérique dont le diamètre est compris entre 40 et 80 nm.
- ❑ Composition:
  - 1 copie du génome virale.
  - Capside icosaédrique constituée de la protéine de core C.
  - Enveloppe phospholipidique dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines virales transmembranaires E1 et E2.



Structure du virus de l'hépatite C

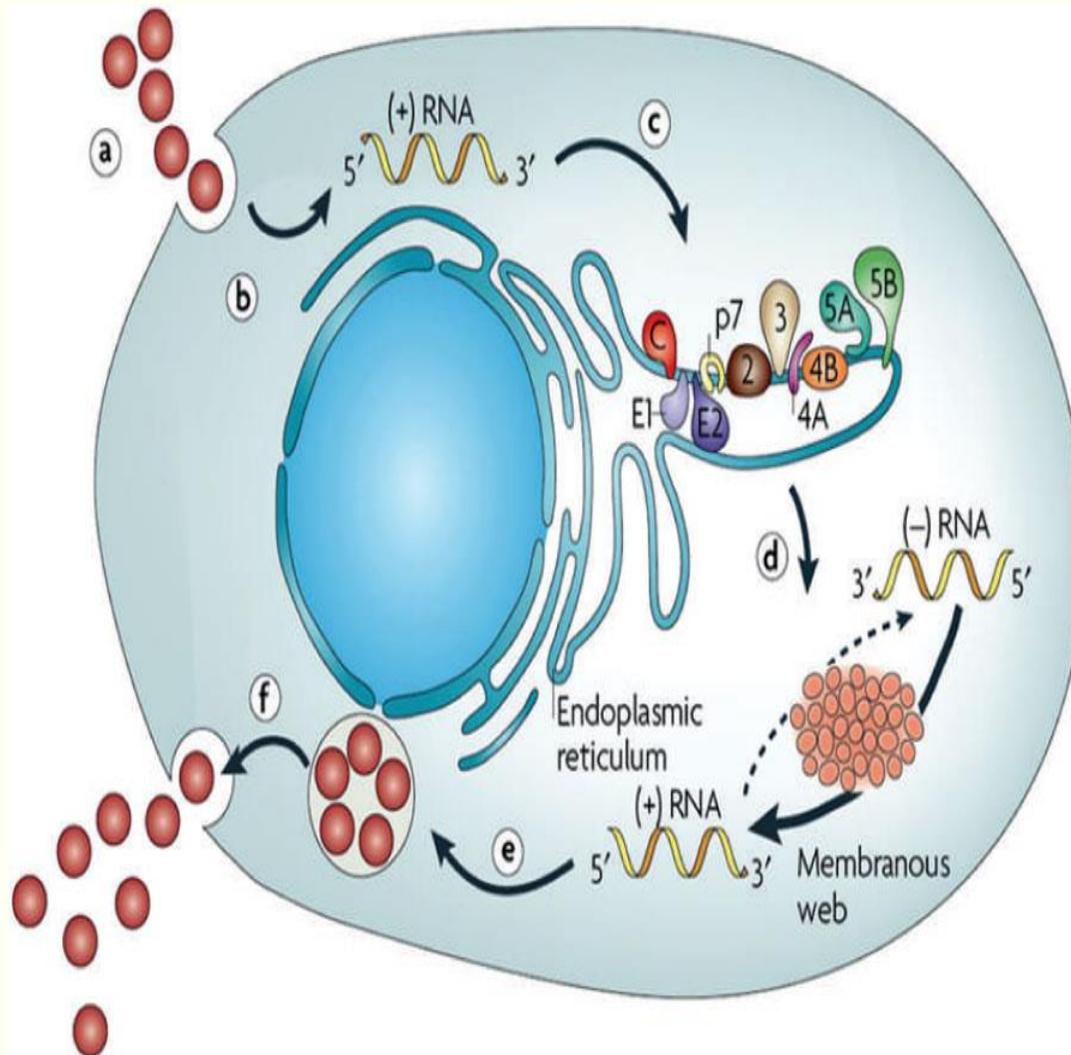
# Le génome

- ❑ Virus à ARN
- ❑ Simple brin
- ❑ Polarité positive
- ❑ Environ 9500 nucléotides
- ❑ Très grande diversité génétique:
  - 6 génotypes
  - 75 sous-types



Le génome du virus de l'hépatite C.

# Le cycle viral



a. Interaction gp E1 et E2 avec récepteurs (CD81) et endocytose de la nucléocapside dans l'hépatocyte.

b. Relargage et décapsulation du génome viral.

c. Traduction et maturation de la polyprotéine.

d. Réplication de l'ARN viral.

e et f. Formation et sécrétion de nouvelles particules virales.



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

## 2. Infection par le virus de l'hépatite C

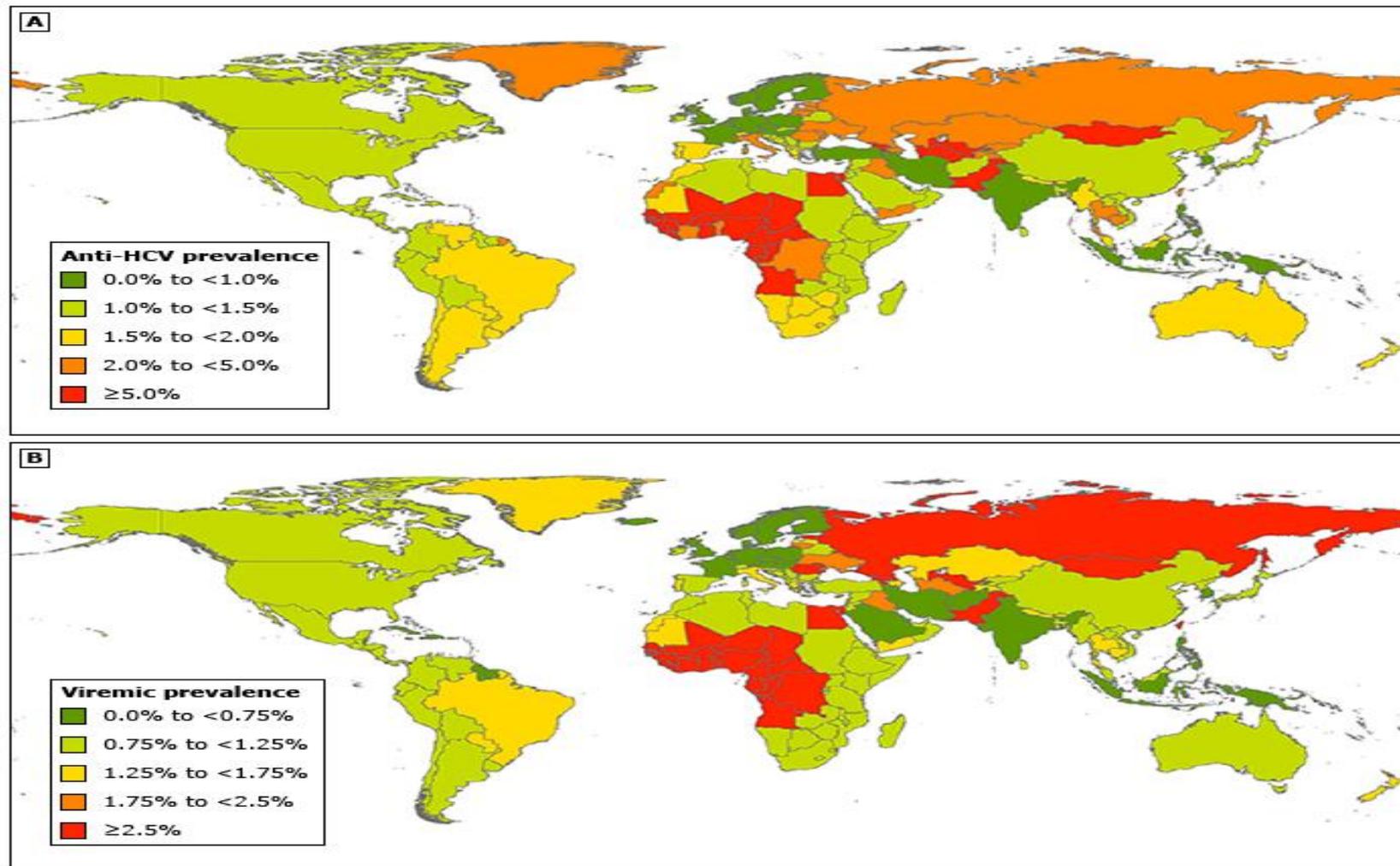
# Épidémiologie



C.H.U. de Charleroi

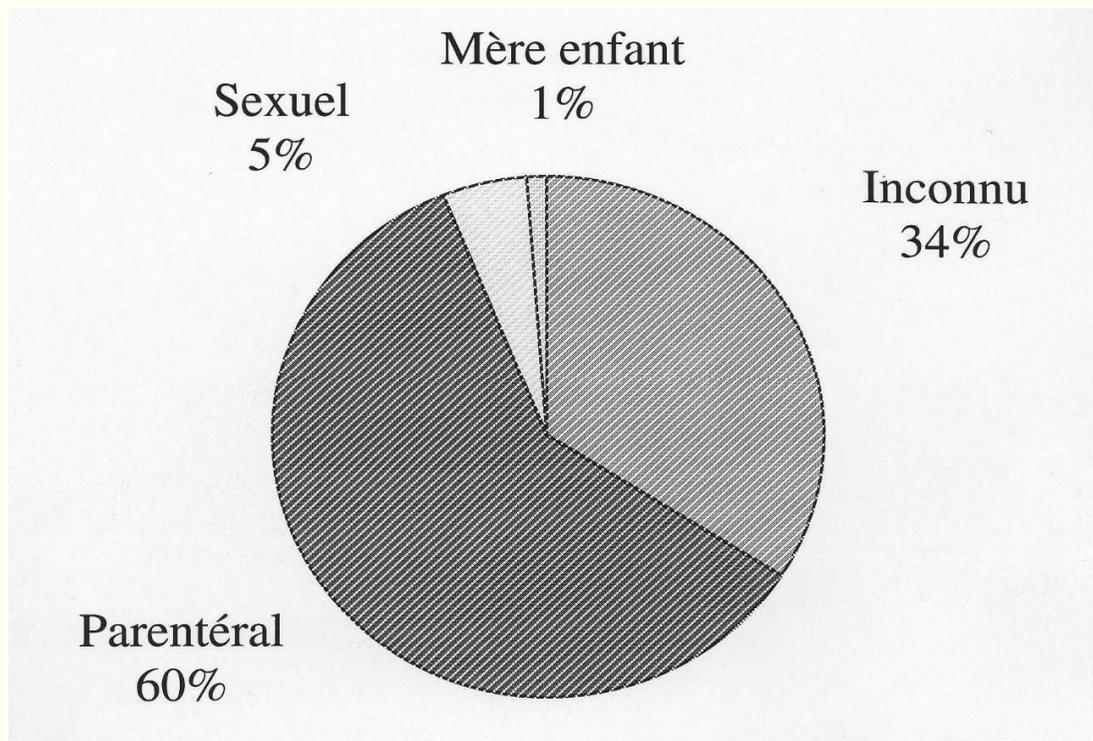


- Distribution mondiale, endémique.



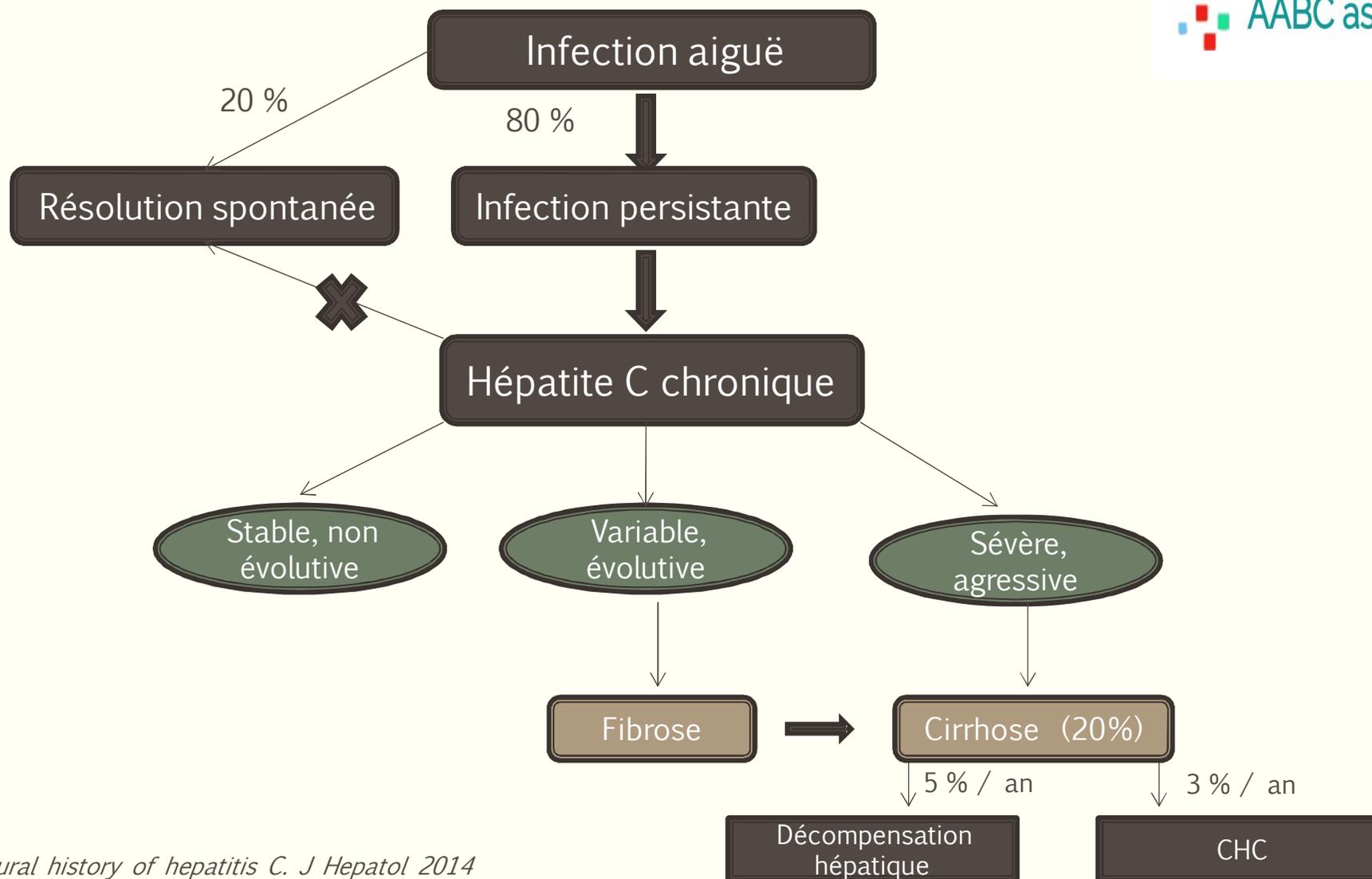
# Transmission

- Virus strictement humain.
- Transmission parentérale.



- Consommation de drogues injectables avec partage du matériel.
- Réutilisation ou stérilisation incomplète du matériel médical.
- Transfusion de produits sanguins n'ayant pas fait l'objet de dépistage.
- Voie sexuelle.
- Transmission mère-enfant.

# Histoire naturelle





# Clinique (1)

---

## ☐ Infection aiguë

- Période d'incubation très variable: 2 semaines à 6 mois.
- 90 % des individus asymptomatiques.
- Symptômes aspécifiques:
  - Fièvre
  - Fatigue
  - Nausées, vomissement
  - Douleurs abdominales
  - Ictère
  - Douleurs articulaires



# Clinique (2)

---

## □ Infection chronique

- Fibrose:
  - Dépôt excessif de tissu de collagène → destruction de l'architecture tissulaire + inflammation chronique.
  - Stade minime → modéré → sévère.
  
- Cirrhose:
  - Élimination hépatocytes + régénération anarchique → cirrhose compensée. État irréversible avec perte de fonction.
  - Apparition de complications (insuffisance hépatocellulaire, ascite, hémorragie digestive) signe la décompensation.
  
- Manifestations extra-hépatiques:
  - Cryoglobulinémie mixte
  - Atteintes viscérales: polyneuropathie sensitivo-motrice, glomérulonéphrite membrano-proliférative.
  - Syndrome sec buccal et/ou oculaire.

# Qui dépister ?

Utilisateurs de drogues par voie iv ou intra-nasale

Personnes ayant une asthénie inexpliquée, une élévation inexpliquée de transaminases, VIH/VHB +

Tatouages et piercing

Patients dialysés

Personnes ayant reçu des soins dans des pays à forte prévalence du HCV (Asie du SE, Moyen Orient, Afrique, Amérique du Sud)

Nés de mère HCV+, Membres de la famille ou Partenaires sexuel sd'un individu HCV +

Individus ayant reçus avant 1990 une transfusion sanguine, une intervention chirurgicale, une transplantation, ...

**Personnes à risque**



# Diagnostic (1)

---

➤ 2 éléments clés: diagnostic sérologique + moléculaire

1. Diagnostic sérologique

- Mise en évidence d'Ac anti-HCV (IgG).
- Marqueur d'un contact avec le virus.
- Immuno-essais (ELISA, ECLIA), tests rapides, immunoblot,...
- Tests de dépistage ELISA de 3<sup>ème</sup> génération= gold standard.

2. Diagnostic moléculaire

- Recherche de l'ARN de l' HCV, détection et quantification du génome.
- Marqueur de la réplication virale.
- RT-PCR en temps réel = gold standard.

# Diagnostic (2)

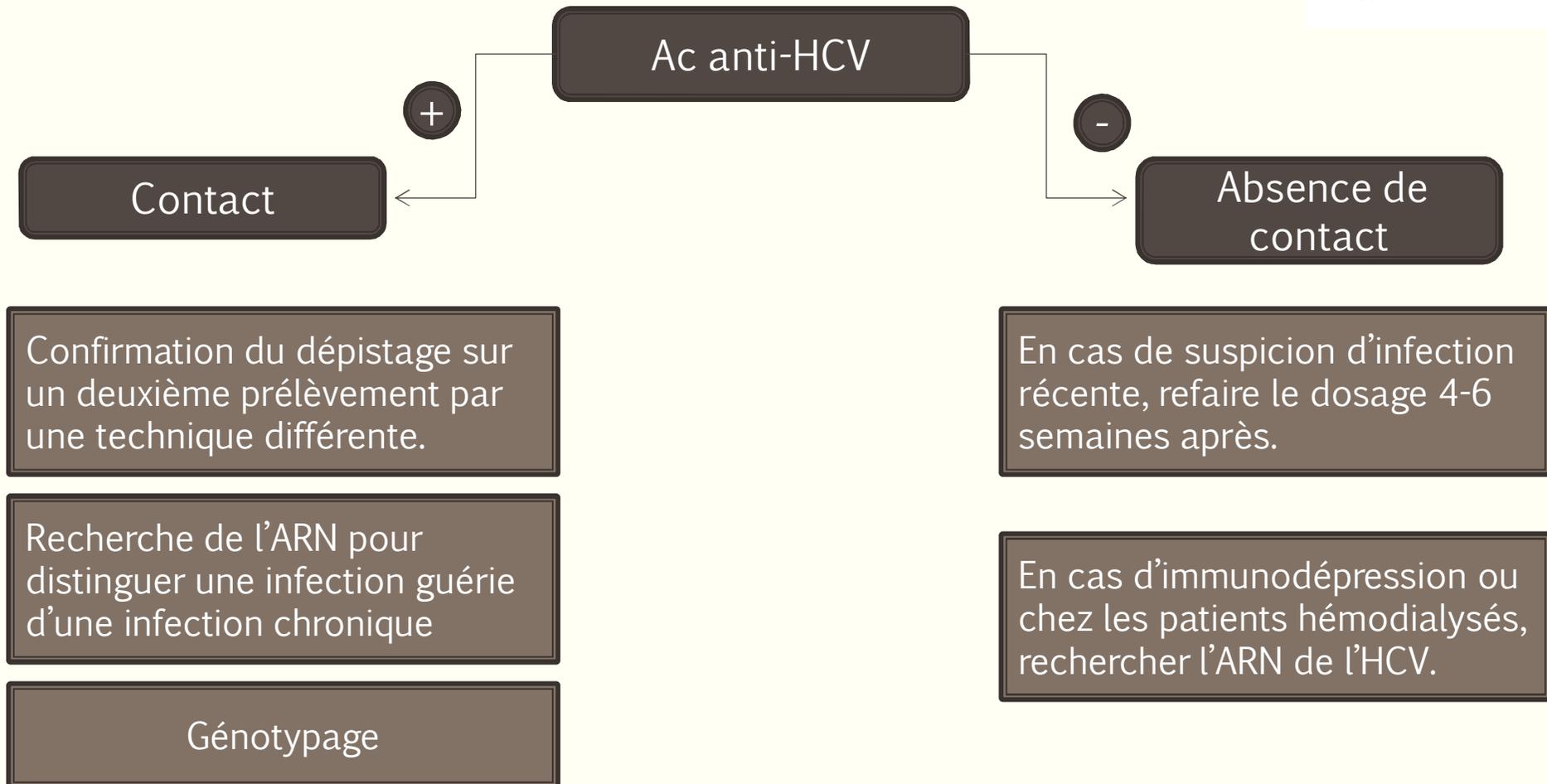


C.H.U. de Charleroi

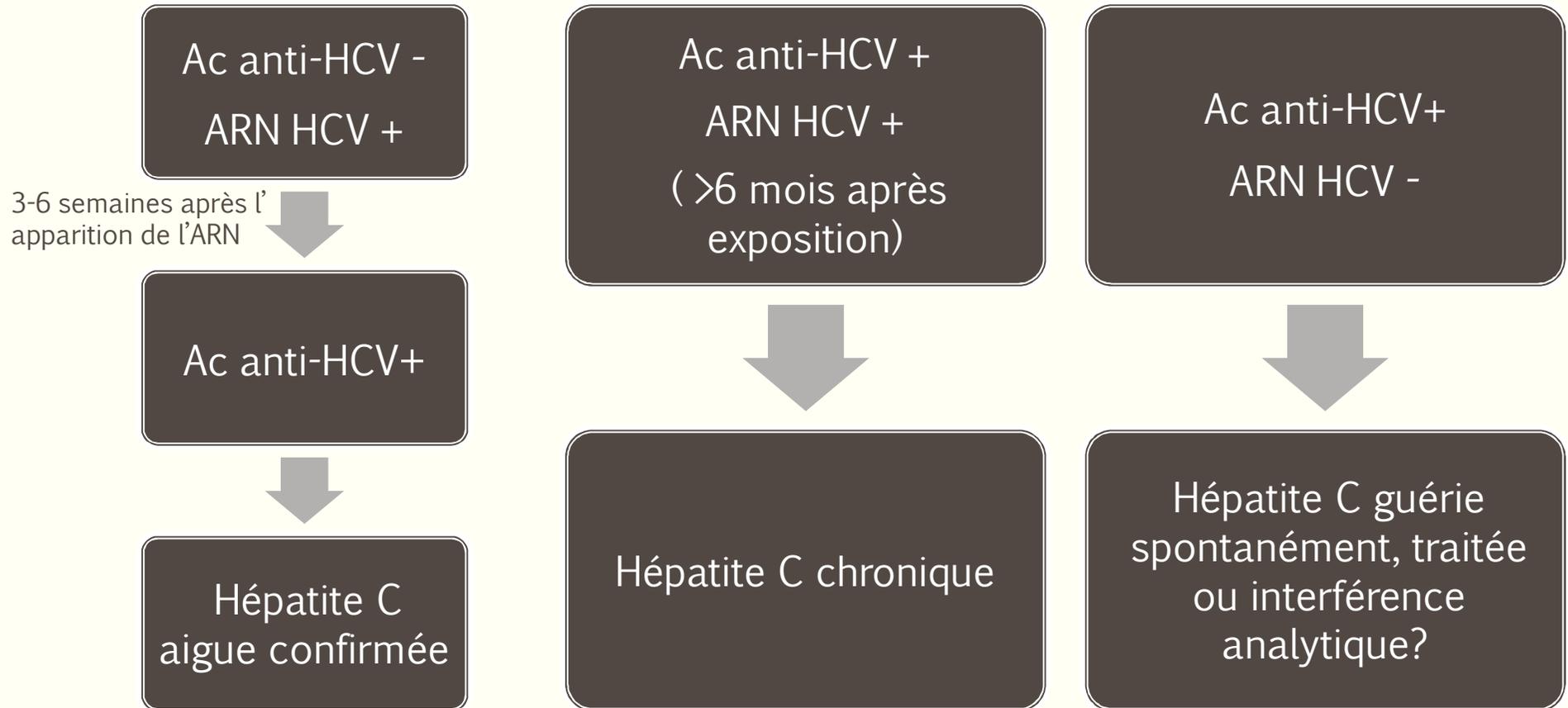


AABC asbl

## Algorithme du dépistage de l'hépatite C

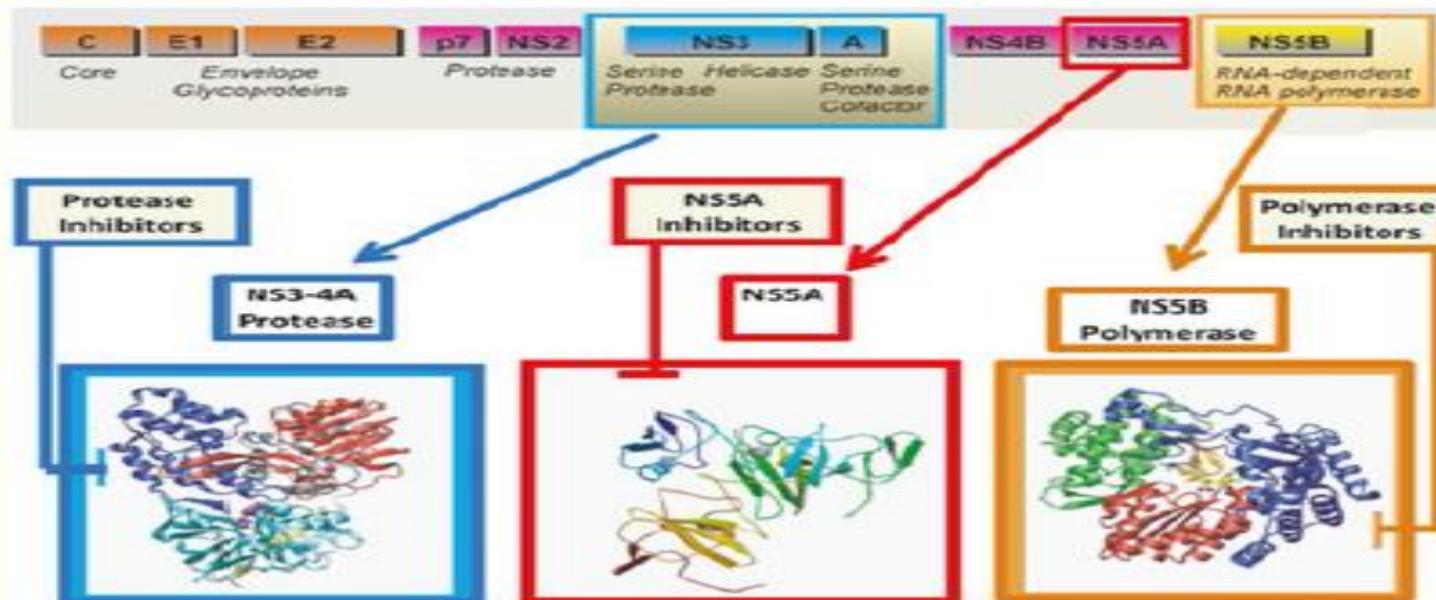


# Diagnostic (3)



# Prise en charge (1)

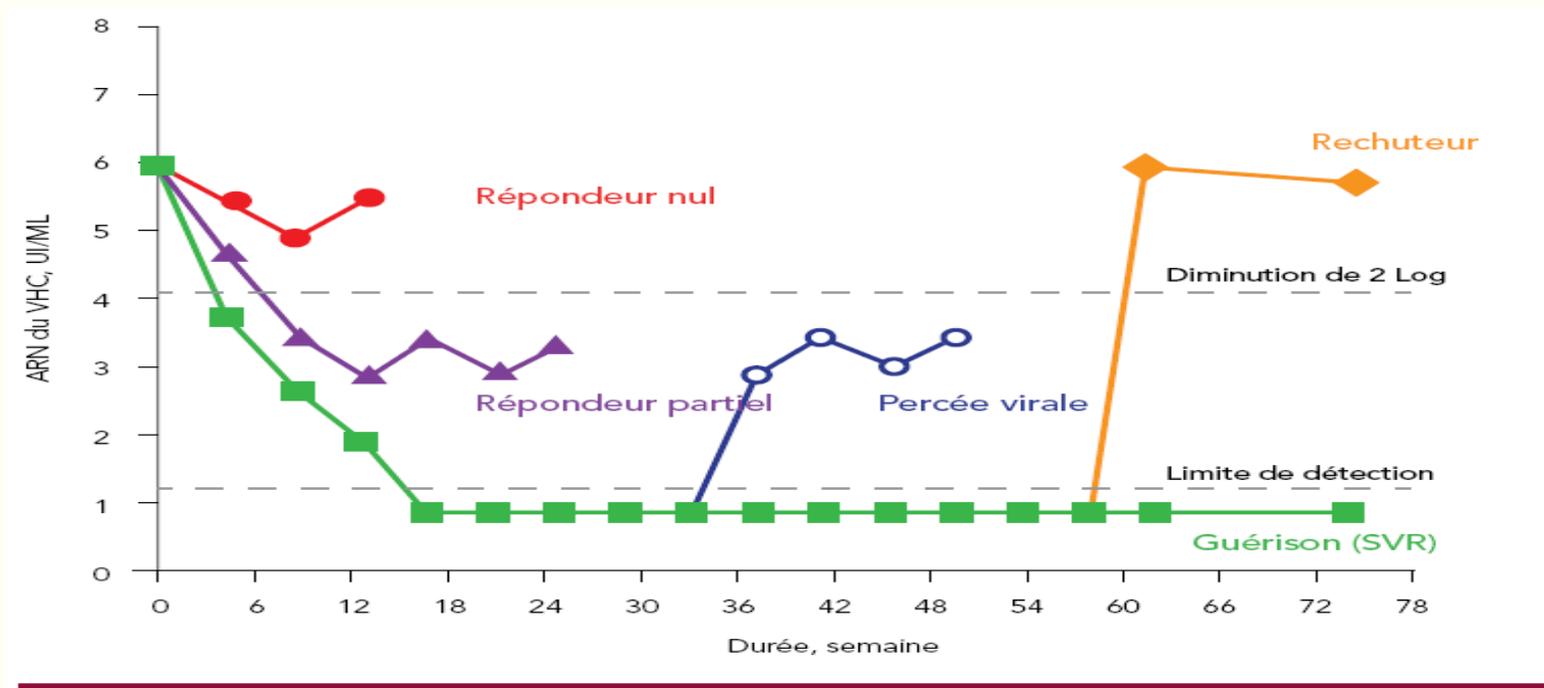
- ❑ L’OMS recommande de traiter toutes les personnes de plus de 18 ans atteints d’une hépatite C chronique par une combinaison d’AADs pendant 8 à 24 semaines.
- ❑ Chez les adolescents entre 12 et 17 ans (>35 Kg), l’OMS préconise:
  - L’association Sofosbuvir/Lédipasvir pendant 12 sem pour les génotypes 1, 4, 5 et 6
  - L’association Sofosbuvir/Ribavirine pendant 12 sem pour le génotype 2.
  - L’association Sofosbuvir/Ribavirine pendant 24 sem pour le génotype 3.



# Prise en charge (2)

- ❑ Le but du traitement est la guérison → Suivi du traitement par RT-PCR quantitative: évaluation de la réponse en fin de traitement et 3-6 mois après l'arrêt.

➔ Réponse virologique soutenue RVS





3. Quelle est la place de la recherche de l'Ag dans le diagnostic de l' HCV?



# Contexte (1)

---

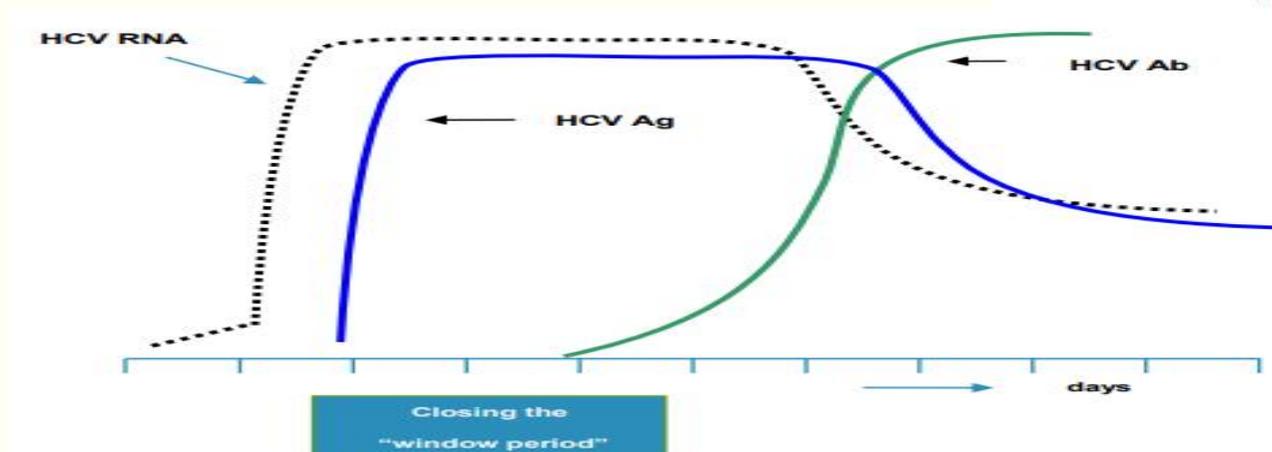
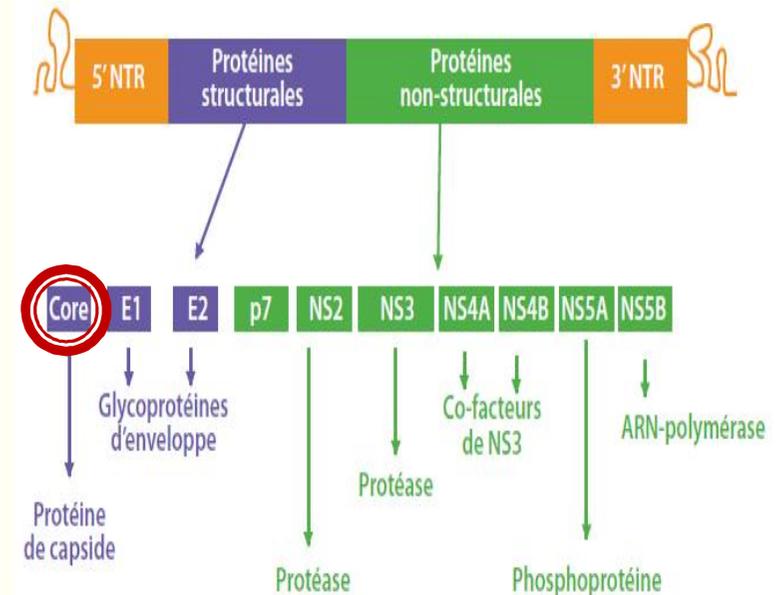
- ❑ Actuellement le dépistage repose sur la présence d'Ac anti-HCV. La sérologie ne permet cependant pas de distinguer une infection active d'une infection passée et ne permet pas le suivi thérapeutique.
  
- ❑ L'ARN viral est un excellent marqueur diagnostique d'une infection active et la quantification de la charge virale contribue au monitoring thérapeutique.

Mais ... la détection moléculaire présente des limites:

- Coût élevé
- Expertise du personnel
- Accessibilité
- Temps

## Contexte (2)

- ❑ En 1995 Takada et al. ont détectés l'Ag capsidique dans le sérum des patients atteints d'hépatite C chronique.
- ❑ Protéine de 191 aa.
- ❑ Séquence hautement conservée.
- ❑ Détectable à 2-3 semaines de l'infection



# Objectifs

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

- ❑ Le développement de tests permettant la détection et la quantification de l'antigène capsidique de l' HCV semblent être une bonne alternative pour pallier aux limites des techniques moléculaires.
  
- ❑ Double objectif:
  - Évaluer les performances analytiques du test Architect HCV® Ag.
  - Établir l'utilité clinique du dosage de l' Ag capsidique.

# Matériels et méthode (1)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

- 78 sérums prélevés au sein du laboratoire du CHU de Charleroi entre le 13/10/2016 et le 09/02/2017 pour un examen de routine.
- Sélection sur base d'un taux détectable d'Ac anti-HCV (S/CO $\times$ 1), préalablement analysés sur Architect® anti-HCV (ARCHITECT, Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany).
- Quand disponibles, les données suivantes ont été recueillies:
  - GGT, transaminases
  - Génotype
  - Degrés de fibrose (Fibroscan®)
  - Immunodépression, hémodialyse

# Matériels et méthode (2)

- Les sérums ont été testés en parallèle sur RealTime® HCV (Abbott Molecular, IL, USA) et sur Architect® HCV Ag (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany).

	RealTime® HCV	Architect® Ag HCV
Principe de la méthode	Amplification et quantification par RT-PCR en temps réel	Dosage immunologique particulière à chimiluminescence
Appareillage utilisé	m2000®rt (Abbott)	Architect i2000®sr (Abbott)
Paramètre quantifié	ARN (séquence cible: région 5' du génome d'HCV)	Antigène capsidique d'HCV
Interprétation	<12 UI/ml : non détecté - 12UI/ml: détecté	< 3fM/L : non réactif 3-10 fM/L: réactivité douteuse - 10 fM/L : réactif
Intervalle de quantification	12 – 100 000 000 UI/mL	3 – 20 000 fM/L
Temps d'analyse	276 min	36 min
Matrice biologique	Plasma, sérum	Plasma, sérum
Volume minimum requis	0,2 mL	158 µL

# Matériels et méthode (3)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

- Les performances analytiques du test Architect® HCV Ag ont été évalués en considérant la méthode moléculaire comme gold-standard.
- La corrélation entre les taux d'antigènes et la charge virale a également été étudiée.
- L'analyse statistique a été réalisée sur les valeurs logarithmiques à l'aide du logiciel Medcalc® Statistical software.

# Résultats (1)



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

	HCV ARN <sup>-</sup> 12 UI/mL (n=40)	HCV ARN < 12 UI/mL (n=38)	Total (n=78)	P-Value
Sexe				
H	19 (47,5%)	19 (50%)	38 (48,7%)	0,650
F	21 (52,5%)	19 (50%)	40 (51,3%)	
Age médian (ans)	47 [18-77]	45 [16-81]	46 [18-81]	-
AST				
< 30 U/mL	15 (37,5%)	26 (68,4%)	43 (55,1%)	0,04
× 30 U/mL	25 (62,5%)	12 (31,6%)	35 (44,9%)	
ALT				
< 30 U/mL	13 (32,5%)	25 (65,8%)	38 (48,8%)	0,04
× 30 U/mL	27 (67,5%)	13 (34,2%)	40 (51,2%)	

Caractéristiques de la population séropositive au HCV.

# Résultats (2)



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

		RealTime® HCV		Total
		Déecté	Non déecté	
Architect® Ag HCV	Positif	35	0	35
	Douteux	4	0	4
	Négatif	1	38	39
Total		40	38	78

Résumé des résultats obtenus par Architect HCV® Ag et RealTime® HCV.

Sensibilité (%)	97,43
Spécificité (%)	100
Pourcentage d'accords positifs (PPA %)	100
Pourcentage d'accords négatifs (PPN %)	97,5

Performances analytiques du test Architect HCV® Ag

# Résultats (3)



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

		RealTime® HCV		
		Déecté	Non déecté	Total
Architect® Ag HCV	Positif	35	0	35
	Douteux	4	0	4
	Négatif	1	38	39
Total		40	38	78

HCV PCR (UI/ml)	Ag HCV (fM/l)	Génotype	GGT, transami nases	Immunosup pression	Hémodialyse
354,81	3,40	1b	N	Non	Oui
776,25	4,85	1a	↑	EBV	Non
1412,54	4,17	1a	↑	HIV	Oui
1862,09	6,89	1a	↑	HIV	Oui

# Résultats (4)



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

		RealTime <sup>®</sup> HCV		
		Déecté	Non déecté	Total
Architect <sup>®</sup> Ag HCV	Positif	35	0	35
	Douteux	4	0	4
	Négatif	1	38	39
Total		40	38	78



HCV PCR (UI/ml)	Ag HCV (fM/l)	Génotype	GGT, transami nases	Immunosup pression	Hémodialyse
48,98	0,44	1b	N	Non	Oui

# Résultats (5)

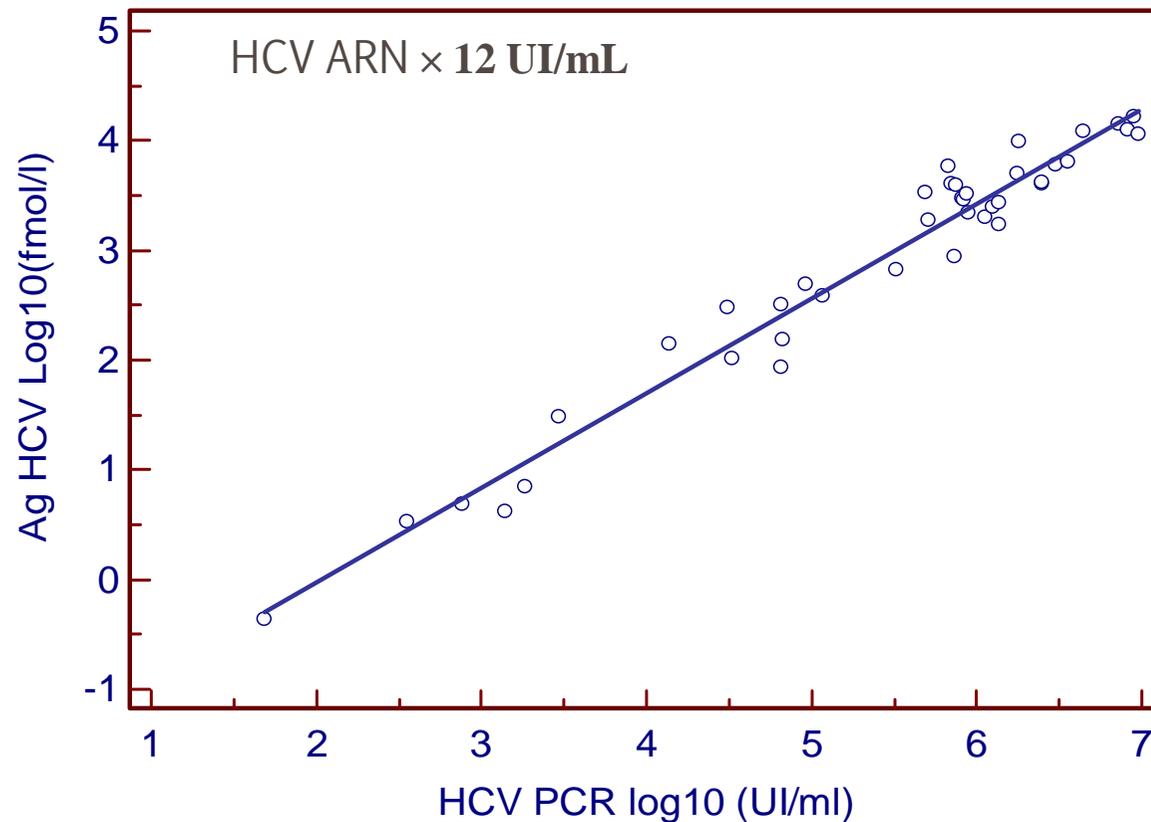


C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

$\text{Log Ag HCV} = -1,7640 + 0,8646 \text{ Log HCV ARN}$   
 $R = 0,98$



➤ Coefficient de Spearman: 0,92

$p < 0,0001$

IC 95: 0,857-0,958

Corrélation entre les valeurs de la charge virale et celles de l'antigène d'HCV

# Discussion (1)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

- Une prise en charge optimale et un diagnostic précoce de l'hépatite C ont montré des preuves bénéfiques sur la transmission et l'évolution de l'infection.
- La mise en évidence d'Ac anti-HCV permet le dépistage chez la population à risque mais ne permet pas de distinguer une infection en cours d'une infection passée.
- Les techniques moléculaires de part leur excellente sensibilité et spécificité sont les outils recommandés pour le diagnostic d'une infection active et pour le monitoring thérapeutique .

# Discussion (2)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

- La détection et la quantification de l' Ag d'HCV est moins onéreux, plus rapide et nécessite moins d'équipements spécialisés et de personnel formé.
  
- Premier test pour la détection et la quantification de l'antigène développé en 1999
  - ELISA
  - Très grande variabilité
  - Sensibilité 92,7%
  - Peu d'intérêt clinique
  
- L'utilisation de la technologie chimiluminescence a permis d'améliorer la sensibilité avec une limite de détection plus basse.

# Discussion (3)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

- ❑ En utilisant un cut-off de 3 fM/L, le kit Architect® Ag HCV présente une excellente spécificité (100%) mais une sensibilité moins optimale (97,43%).
- ❑ 1 seul FN avec une charge virale très faible (48,98 UI/mL)
  - Plusieurs études ont démontré que la limite de détection de l'Ag d'HCV est équivalente à une charge virale comprise entre 1000 et 5000 UI/mL et aurait tendance à augmenter le coefficient de variation.  
→ Ce taux faible de charge virale pourrait avoir contribué au faux négatif.
- ❑ Les valeurs de la charge virale d'HCV sont hautement corrélées à celle de l'antigène d'HCV.

# Discussion(4)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

## ➤ Limitations de l'étude:

- Nombre limité de prélèvements.
- Peu d'informations concernant:
  - ✓ Le génotype
  - ✓ La présence d'une co-infection
  - ✓ Le stade de fibrose

→ Difficulté d'évaluer l'influence de ces paramètres sur le taux d'Ag d'HCV.

# Revue de littérature (1)



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

**Annals of Internal Medicine**

REVIEW

## Hepatitis C Core Antigen Testing for Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection

### A Systematic Review and Meta-analysis

J. Morgan Freiman, MD; Trang M. Tran, BA; Samuel G. Schumacher, MSc, PhD; Laura F. White, PhD; Stefano Ongareello, PhD; Jennifer Cohn, MD, MPH; Philippa J. Easterbrook, MD, MPH; Benjamin P. Linas, MD, MPH; and Claudia M. Denkinger, MD, PhD

- ❑ 44 études incluses.
- ❑ 5 différents kits commercialisés comparés aux techniques moléculaires

# Revue de littérature (2)



C.H.U. de Charleroi



Annals of Internal Medicine

## Hepatitis C Core Antigen Testing for Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection

### A Systematic Review and Meta-analysis

J. Morgan Freiman, MD; Trang M. Tran, BA; Samuel G. Schumacher, MSc, PhD; Laura F. White, PhD; Stefano Ongarelli, PhD; Jennifer Cohn, MD, MPH; Philippa J. Easterbrook, MD, MPH; Benjamin P. Linas, MD, MPH; and Claudia M. Denninger, MD, PhD

Table 2. Accuracy by HCV cAg Index Test Type for Diagnosis of Active HCV Infection Compared With NAT as the Reference Standard\*

Index Test	HCV Antibody Status	Studies, n	Samples, n	Sensitivity (95% CI), %	Specificity (95% CI), %	Likelihood Ratio (95% CI)†	
						Positive	Negative
<b>Abbott ARCHITECT HCV Ag</b>							
By bivariate meta-analysis	All	23	12 670	93.4 (90.1-96.5)	98.8 (97.4-99.5)	80.6 (36.4-178.8)	0.06 (0.04-0.10)
By univariate meta-analysis	All	33	13 638	94.3 (92.8-95.9)	ND	NA	NA
By bivariate meta-analysis	Known positive	16	5246	92.5 (86.9-95.8)	97.8 (94.7-99.1)	42.0 (16.4-106.4)	0.05 (0.03-0.08)
By univariate meta-analysis	Known positive	27	6189	93.4 (91.4-95.4)	ND	NA	NA
By bivariate meta-analysis	Known negative	5	3415	92.3 (88.7-99.9)	98.8 (97.3-99.4)	73.9 (32.6-167.9)	0.080 (0.004-15.700)
<b>Ortho HCV Ag ELISA</b>							
By bivariate meta-analysis	All	5	1177	93.2 (81.6-97.7)	99.2 (87.9-100.0)	116.5 (6.7-977.0)	0.06 (0.02-0.07)
By univariate meta-analysis	All	6	1423	90.8 (83.5-98.2)	ND	NA	NA
Eiken Lumispot HCV Ag‡	All	2	235	97.5 (98.1)	ND	NA	NA
Fujirebio Lumipulse Ortho HCV Ag	All	1	80	95.0 (90.2-99.8)	ND	NA	NA
Hunan Jynda Bioengineering Group HCV Ag ELISA, by bivariate meta-analysis	All	4	562	59.7 (46.0-71.7)	82.9 (58.6-94.3)	3.5 (1.1-12.6)	0.28 (0.20-0.30)

# Revue de littérature (3)



C.H.U. de Charleroi

**Annals of Internal Medicine**

REVI  AABC asbl

## Hepatitis C Core Antigen Testing for Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection

### A Systematic Review and Meta-analysis

J. Morgan Freiman, MD; Trang M. Tran, BA; Samuel G. Schumacher, MSc, PhD; Laura F. White, PhD; Stefano Ongarello, PhD; Jennifer Cohn, MD, MPH; Philippa J. Easterbrook, MD, MPH; Benjamin P. Linas, MD, MPH; and Claudia M. Denkinger, MD, PhD

- ❑ Un test diagnostic performant peut être une alternative à la biologie moléculaire pour le diagnostic de l'hépatite C quand la charge virale est supérieure à 3000 UI/mL.
- ❑ Le test Abbott Architect et Ortho ELISA ont des performances analytiques similaires, ainsi que Eiken Lumispot et Fujirebio Lumipulse.
- ❑ Human Jynda ELISA est le moins performant, ce qui confirme que l'ELISA est insuffisante pour la détection et qu'il est nécessaire d'amplifier le signal.



# Revue de littérature (4)



## HCV core antigen as an alternative to HCV RNA testing in the era of direct-acting antivirals: retrospective screening and diagnostic cohort studies



*Marjolein van Tilborg\*, Saeed H Al Marzooqi\*, William WL Wong, Rael Maan, Johannes Vermehren, Benjamin Maasoumy, Tony Mazzulli, Shelly Bolotin, Gary Garber, Fiona Guerra, Christopher R Flud, Matthew Kowgier, Harry L Janssen, Robert J de Knegt, Jean-Michel Pawlotsky, Gavin A Cloherty, Andres Duarte-Rojo, Christoph Sarrazin, Heiner Wedemeyer, Jordan J Feld*

### ❑ Étude de cohorte rétrospective

- n= 10 006
- Évaluation des performances analytiques du test Architect® Ag HCV pour le diagnostic, le monitoring thérapeutique et la détermination de la RVS en prenant comme méthode de référence le test RealTime® HCV RNA.

# Revue de littérature (5)



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

## HCV core antigen as an alternative to HCV RNA testing in the era of direct-acting antivirals: retrospective screening and diagnostic cohort studies



*Marjolein van Tilborg\*, Saeed H Al Marzooqi\*, William WL Wong, Rael Maan, Johannes Vermehren, Benjamin Maasoumy, Tony Mazzulli, Shelly Bolotin, Gary Garber, Fiona Guerra, Christopher R Flud, Matthew Kowgier, Harry L Janssen, Robert J de Knegt, Jean-Michel Pawlotsky, Gavin A Cloherty, Andres Duarte-Rojo, Christoph Sarrazin, Heiner Wedemeyer, Jordan J Feld*

- ❑ Performances analytiques du test pour le diagnostic et le monitoring thérapeutique:
  - Se : 94 %
  - Sp: 100 %
  - FN: charge virale faible



# Revue de littérature (6)

## HCV core antigen as an alternative to HCV RNA testing in the era of direct-acting antivirals: retrospective screening and diagnostic cohort studies



Marjolein van Tilborg\*, Saeed H Al Marzooqi\*, William WL Wong, Rael Maan, Johannes Vermehren, Benjamin Maasoumy, Tony Mazzulli, Shelly Bolotin, Gary Garber, Fiona Guerra, Christopher R Flud, Matthew Kowgier, Harry L Janssen, Robert J de Knegt, Jean-Michel Pawlotsky, Gavin A Cloherty, Andres Duarte-Rojo, Christoph Sarrazin, Heiner Wedemeyer, Jordan J Feld

	HCV RNA+/ HCV core antigen+	HCV RNA-/ HCV core antigen-	HCV RNA+/ HCV core antigen-	HCV RNA-/ HCV core antigen+	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Positive likelihood ratio (95% CI)	Negative likelihood ratio (95% CI)	Positive predictive value (95% CI)	Negative predictive value (95% CI)
Baseline (n=202)	200 (99%)	..	2 (1%)	..	99.0% (96.5-99.9)	..	..	..	..	..
Week 4 on treatment (n=153)	9 (6%)	110 (72%)	17 (11%)	17 (11%)	34.6% (17.2-55.7)	86.6% (79.4-92.0)	2.6 (1.3-5.2)	0.8 (0.6-1.0)	34.6% (21.0-51.3)	86.6% (82.9-89.6)
End of treatment (n=164)	2 (1%)	156 (95%)	2 (1%)	4 (2%)	50.0% (6.8-93.2)	97.5% (93.7-99.3)	20.0 (5.1-79.3)	0.5 (0.2-1.4)	33.3% (11.2-66.5)	98.7% (96.7-99.5)
Follow up week 12 (n=185)	53 (29%)	128 (69%)	1 (<1%)	3 (2%)	98.2% (90.1-100)	97.7% (93.5-99.5)	42.7 (14.0-131.3)	0.02 (0.00-0.13)	94.6% (85.2-98.2)	99.2% (94.8-99.9)
Follow up week 24 (n=57)	20 (35%)	37 (65%)	0	0	100% (83.2-100)	100% (90.5-100)	..	0	100% (83.2-100)	100% (90.5-100)

+ indicates detected. - indicates not detected.

**Table 2: Diagnostic test parameters of core antigen (clinical cohort)**

# Revue de littérature (7)

---



C.H.U. de Charleroi



AABC asbl

## HCV core antigen as an alternative to HCV RNA testing in the era of direct-acting antivirals: retrospective screening and diagnostic cohort studies



*Marjolein van Tilborg\*, Saeed H Al Marzooqi\*, William WL Wong, Rael Maan, Johannes Vermehren, Benjamin Maasoumy, Tony Mazzulli, Shelly Bolotin, Gary Garber, Fiona Guerra, Christopher R Flud, Matthew Kowgier, Harry L Janssen, Robert J de Knecht, Jean-Michel Pawlotsky, Gavin A Cloherty, Andres Duarte-Rojo, Christoph Sarrazin, Heiner Wedemeyer, Jordan J Feld*

- ❑ Outil fiable pour le diagnostic.
- ❑ Moins performant pour la détermination de la RVS.

# Conclusion (1)

---



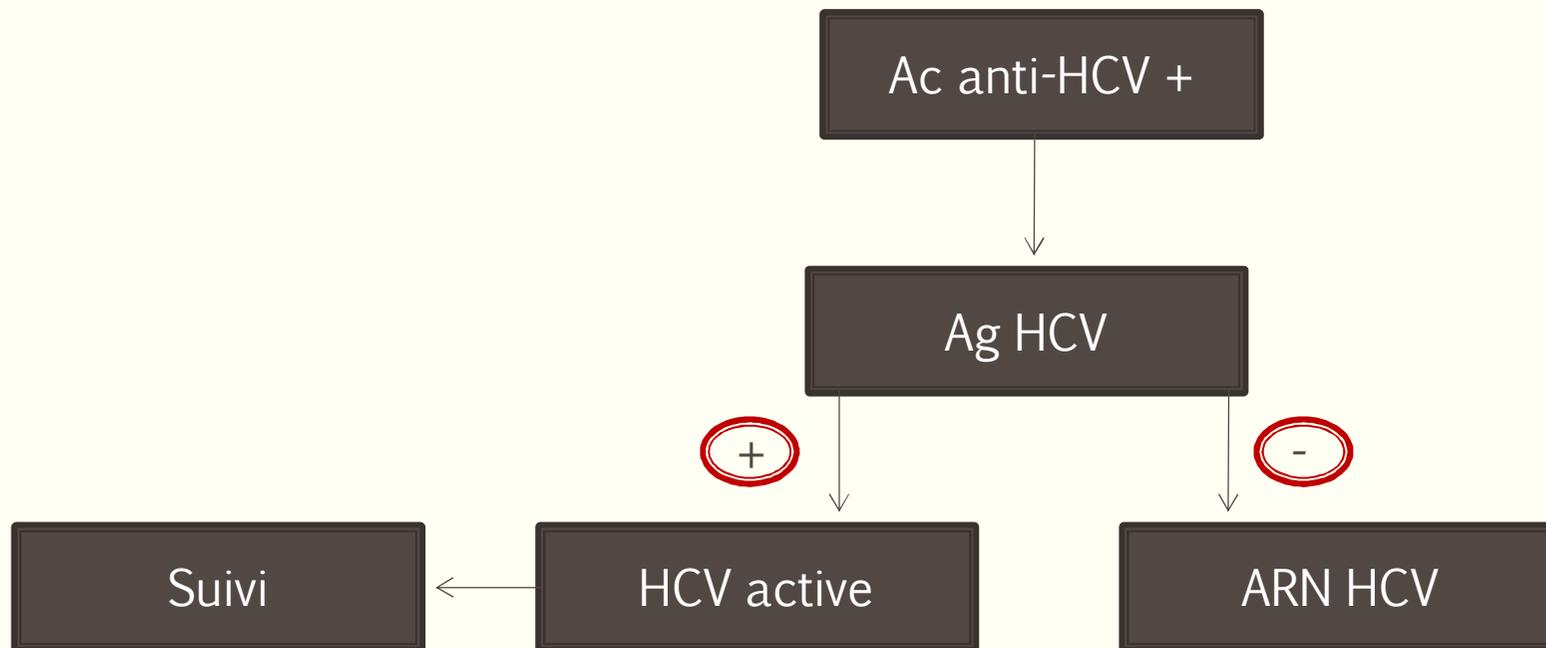
C.H.U. de Charleroi



- La technique permettant la détection et la quantification de l' Ag d'HCV présente de nombreux avantages:
  - Peut être réalisée en routine immédiatement après la réactivité d' Ac anti-HCV
    - ✓ Gain de temps → prise en charge plus rapide
    - ✓ Réduit le nombre de consultations médicales → meilleure compliance.
  - Rapide ( 36 min pour la première analyse vs.4h).
  - Facile et ne nécessite pas d'équipements ni des locaux spécifiques.
  - Coût moins élevé.

## Conclusion (2)

- La technique permettant la détection et la quantification d'ARN de l'HCV demeure le test de choix pour le diagnostic de part leur excellente sensibilité et spécificité.
- La recherche de l' Ag pourrait cependant être une alternative à condition de rechercher l'ARN de l'HCV si l'Ag est non détectable.



Merci pour votre attention.



Laboratoire du CHU de Charleroi :  
Dr Defourny Lydwine  
Ph.Biol Lali Salah  
Mme Marchetti Barbara  
Ph.Biol Tamigniau Anne