



Rapport annuel d'activité, année 2022

Laboratoire National de Référence

Encéphalites virales des équidés : encéphalite West-Nile

Nom du responsable du LNR

Gaëlle Gonzalez

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de santé animale -- site de Maisons-Alfort

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Unité Virologie

Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat

Le mandat du LNR couvre la Fièvre West-Nile (WNV) chez les équidés, danger sanitaire de catégorie 1, ainsi que d'autres maladies virales zoonotiques et émergentes ayant un impact en santé animale : - répertoriées parmi les dangers sanitaires de catégorie 1 : encéphalites équine exotiques avec l'encéphalite japonaise, les encéphalites équine de l'Est, de l'Ouest et du Venezuela, - ou non répertoriées parmi les dangers sanitaires de catégorie 1 : Usutu dans l'avifaune sauvage et captive, virus de l'encéphalite à tique (TBEV) chez les ruminants domestiques et autres virus émergents responsables d'encéphalites chez les équidés. La fièvre West-Nile, l'encéphalite japonaise et les encéphalites équine de l'Est et de l'Ouest font parties des maladies de catégorie E, maladies soumises à surveillance selon la Loi de santé animale appliquée depuis octobre 2021. L'encéphalite équine du Venezuela est désormais une maladie classée dans les catégories D et E, maladie soumise à surveillance pour laquelle des restrictions aux mouvements entre état membre via une certification s'appliquent.

Les faits marquants de l'année

En 2022, la saison de transmission de la fièvre du West Nile a été plus intense que les deux précédentes années. 93 foyers équine ont été comptabilisés dans l'Union européenne en 2022, foyers qui se concentrent principalement en Italie (44 foyers), Allemagne (15 foyers), Grèce (9 foyers), Croatie (8 foyers), Espagne (6 foyers), Portugal (2 foyers), Hongrie (3 foyers), Autriche (2 foyers) et France (8 foyers). Les 8 foyers français se localisent sur le bassin méditerranéen dans les départements du Var, de Haute-Corse et en Gironde. L'année 2022 a été marquée par l'émergence de WNV sur la côte Ouest, zone non endémique du virus. L'année 2022 a également montré une faible activité du virus Usutu sur le territoire français. Le virus Usutu n'a en effet été détecté que sur deux chouettes lapones en Dordogne (24). L'activité du virus Usutu était également faible en 2019, 2020 et 2021 avec un seul cas, quatre cas et deux cas reportés respectivement. Le LNR a été sollicité début septembre par la DGAL, suite à 1 cas humains de contamination du virus de l'encéphalite à tiques par voie alimentaire survenus en avril dans une zone où le virus circule. Il ne s'agit pas de prendre des mesures dans l'élevage mais de collecter des informations pour une compréhension de la transmission de ce virus et prévenir les risques. Une réunion avec les différents acteurs est prévue en début d'année 2023.

Abréviations

WNV: Virus West-Nile, WN : West-Nile, USUV: Virus Usutu, TBEV: Virus de l'encéphalite à tique, VEEV : virus de l'encéphalite équine du Venezuela, RT-PCR : PCR Transcriptase inverse

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Le LNR a développé une méthode de détection simultanée des génomes viraux WNV et USUV par PCR transcriptase inverse (RT-PCR) en temps réel à partir de prélèvements équine ou aviaires (RT-qPCR Triplex WNV/USUV/ β Actine). Cette méthode devrait être présentée à l'accréditation COFRAC en 2023-2024. Le LNR initie également la mise au point de la méthode d'inhibition de l'hémagglutination pour détecter le virus de l'encéphalite équine du Venezuela (VEEV). Cette méthode permet de détecter la présence d'anticorps neutralisants VEEV dans les sérums de chevaux. Cette méthode est mandatée par la loi de santé animale.

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

0 méthode(s)

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année

382 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Les analyses de première intention consistent en : - des analyses par séroneutralisation (220 au total comprenant 19 analyses pour l'encéphalite équine de l'Est, 19 pour l'encéphalite de l'Ouest, 19 pour l'encéphalite du Venezuela, 23 pour le West Nile, 19 pour l'encéphalite japonaise, 22 pour Usutu et 99 pour l'encéphalite à tiques TBEV) sur des sérums équins (uniquement pour les encéphalites équines de l'Est, de l'Ouest, vénézuélienne et japonaise), équins et aviaires (uniquement pour le West-Nile et Usutu), et ovins (encéphalite à tiques). - des analyses moléculaires sur broyat d'encéphales: 162 analyses comprenant 142 analyses par RT-PCR temps réel West Nile réalisées sur oiseaux dans le cadre du diagnostic différentiel entre USUV et WNV, 13 analyses par RT-PCR temps réel West-Nile réalisées sur sang ou encéphales de chevaux, 3 analyses par RT-PCR temps réel TBEV et Borna réalisées sur cheval. Le nombre d'analyses de première intention est en augmentation par rapport aux années précédentes du fait d'une volonté de renforcement de la surveillance WNV et USUV sur le territoire. Le LNR a également été sollicité pour participer à l'investigation au sein du troupeau de brebis impliqué dans un nouveau cas d'encéphalite à tique suite à l'ingestion de produits laitiers contaminés.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année

20 analyse(s). Le nombre d'analyses restent constant par rapport aux 5 dernières années.

Détail par type d'analyse de confirmation

Les analyses officielles de confirmation consistent en des ELISA IgM (12) et WNcompétition (8) de confirmation sur des résultats positifs obtenus par les laboratoires agréés du réseau.

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR

3244 analyse(s). Le nombre d'analyses est en augmentation par rapport aux années précédentes au vue des activités de renforcement de surveillance des flavivirus WNV et USUV.

Détail par type d'autres analyses

Les analyses réalisées correspondent à des ELISA WNcompétition et de capture IgM, à des séroneutralisations avec les différents flavivirus WV, USUV et TBEV et à des RT-PCR en temps réel. Elles s'inscrivent dans différents projets européens et nationaux: - enquêtes épidémiologiques sur des animaux sauvages, des ovins et des bovins afin d'étudier la prévalence du TBEV en France, - enquêtes épidémiologiques sur les oiseaux des parcs zoologiques Français et sur les oiseaux entrés en centres de soin afin de déterminer (i) la prévalence d'USUV en France et le spectre d'hôte de ce virus, (ii) renforcer le système de surveillance passive actuel en fonction du contete local et temporel. - développement et la mise au point d'outils de diagnostic moléculaire moins couteux, flexibles et adaptables en fonction du contexte local et temporel mis à disposition des 26 états membres aidant à la surveillance des flavivirus émergents.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année
Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Le LNR n'a pas participé à des essais interlaboratoires d'aptitude en 2022.

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

- Contrôles positifs : ELISA WNV sous forme de sérums lyophilisés - ARN de virus West Nile ou de virus proches extraits de souches virales vivantes ou atténuées.

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Sérums lyophilisés et ARN viral

Nombre de lots produits dans l'année

Aucun

Nombre d'unités distribuées au plan national

2 sérums lyophilisés IgM et IgG et sérums équins contrôle négatifs

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Stabilité de l'activité au cours de ces 5 dernières années.

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

Modalités de contrôle (contrôles initiaux, contrôles aléatoires de lots, contrôles lot par lot)

Contrôle lot par lot. Le LNR réalise les contrôles lot par lot pour les kits ELISA commerciaux utilisés par le réseau agréé.

Nombre de contrôles - ou de lots contrôlés - dans l'année

Le LNR a contrôlé 2 kits dans l'année.

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Stabilité de l'activité sur les 5 dernières années.

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor ...).

Activités d'expertise externes auprès de l'EFSA. Les membres du LNR participent à la constitution du rapport EFSA sur les données zoonoses 2020 sur le virus West-Nile. Un rapport est établi de concert avec nos homologues italiens en santé humaine. Ceci a été réalisé selon un calendrier très serré demandant une réactivité et une exécution optimale des demandes pour respecter les délais demandés par l'EFSA. Un des membres du LNR fait partie du GT-ANSES sur TBEV qui se concentre sur l'identification des facteurs de risque d'émergence de TBEV en France. Deux membres du LNR sont également des membres expert externes de la FEAM 2022 (Federation of European Academies of Medicine) au sein du groupe de travail international "Emerging and Vector-born Diseases".

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Les activités de conseil font suite à des contacts téléphoniques ou e-mails provenant de cabinets vétérinaires, de LDA, (environ 2-5 par semaine). Ils font l'objet d'une prise en charge rapide (24 h) : réponse aux questions, aide au diagnostic différentiel et conseils sur le diagnostic de laboratoire, transfert aux personnes compétentes si besoin.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

5 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILA

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Sans objet

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

0 journée(s)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Non

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Oui

Cadre de ces activités

Biotox - Piratox

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de "Biotox - Piratox"

Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de première intention

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

4 fiche(s)

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
FLAVIEST	Bovins, sentinelles du risque acarologique de l'encéphalite à tiques et de la borréliose de Lyme ?	en cours
Thèse FCPR	Vers une meilleure compréhension du risque de transmission de virus de l'encéphalite à tique (TBEV) pour l'homme via la consommation de produits laitiers non pasteurisés en France.	en cours
Surveillance Nationale	Vers un renforcement du système de surveillance des flavivirus émergents en France	en cours
COVETLAB	Development of amplicon based sequencing protocol for JEV detection	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du CNR

CNR Arbovirus

Organisme porteur du CNR

IRBA Marseille

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Non

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Sans objet

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Sans objet

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Bulletin de surveillance épidémiologique de WNV, USUV et TBEV en France.

Transfert de matériel biologique

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

European Union Reference Laboratory for Equine diseases (other than African Horse Sickness)

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun

ANNEXES

Liste des publications et communications 2023 dans le cadre du mandat de LNR Encéphalites virales des équidés : encéphalite West-Nile

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

Publications destinées aux professionnels ou au grand public ('journal article', classement « RPro »)

Migné C.V., M. Dumarest, T. Mariteragi-Helle, N.M. Dheilily, S. Zientara et G. Gonzalez. Premier cas équin d'infection West-Nile identifié dans le département du Var. Site Web du RESPE, Publié le 10 août 2022. (<https://respe.net/premier-cas-equin-dinfection-west-nile-identifie-dans-le-departement-du-var/>)

Dheilily N.M., M. Dumarest, G. Gonzalez, T. Mariteragi-Helle, C.V. Migné et S.Zientara. Premier foyer équin de fièvre West-Nile de la saison 2022 détectée en France dans le Var. [Août 2022. Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale \(plateforme-esa.fr\)](#)

Gonzalez G., N.M. Dheilily, S. Zientara, A. Decors, S. Desvaux, H. Noël, M-C. Paty, S. Gutierrez, J-P. Amat, S. Carles, E. Cardinale, J. Cauchard, C. Dupuy, S. Falala, G. Gerbier, V. Hénaux, R. Lancelot, M-B. Peyrat et C. Trévenec. 2022 Bilan de la saison 2021 de fièvre West Nile en Europe. Veille Sanitaire internationale – Plateforme ESA. ([Bilan de la saison 2021 de fièvre West Nile en Europe | Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale \(plateforme-esa.fr\)](#))

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

Gonzalez G.*, Bournez L.*, Amaral Moraes R., Dumarest M., Galon C., Vorimore F., Cochin M., Nougairède A., Hennechart-Colette C., Perelle S., Leparco-Goffart I., André Durand G., Grard G., Bénét T., Danjou N., Blanchain M., Lacour SA., Boué F., Chenut G., Mainguet C., Simon C., Brémont L., Zientara S., Moutailler S., Martin-Latil S., Dheilily NM.*, Beck C.* et Lecollinet S.*. (2022) A one-health approach to investigating an outbreak of alimentary tick-borne encephalitis in a non-endemic area in France (Ain, Eastern France): a longitudinal serological study in livestock, detection in ticks, and the first TBE virus isolation and molecular characterization *Frontiers in Microbiology*. 13:863725. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35479640/>

Constant O. , Gil P., Barthelemy J., Bolloré K., Foulongne V., Desmetz C., OPIUM authors, Van de Perre P., Salinas S., Amaral Moraes R., Beck C., Gutierrez S., and Simonin Y.. "One Health" surveillance of the circulation of the West Nile and Usutu viruses in the South of France from 2016 to 2020. **2022 Eurosurveillance** 27 (25): 23 <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.25.2200068>

Communications nationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Dheilily NM., Matthews-Martin L., Amaral Moraes R., Bournez L., Dumarest M., Hennechart-Colette C., Martin-Latil S., Perelle S., Vorimore F., Beck C. et Gonzalez G. « Méthodes diagnostiques vers une surveillance accrue du virus de l'encéphalite à tiques en France métropolitaine. » Rencontres Nationales de Santé Publique Vétérinaire, Bourges, 13 – 14 Octobre 2022.

Gonzalez G., Migné CV., Dumarest M., T. Mariteragi-Helle et Dheilily NM. « Développement de méthodes de diagnostic pour une surveillance renforcée des virus West-Nile et Usutu en France ». Rencontres Nationales de Santé Publique Vétérinaire, Bourges, 13 – 14 Octobre 2022.

Gonzalez G. et Zientara S.. Updates on two zoonotic vector-borne diseases in Europe: West Nile and Usutu – Re-emergence of Bluetongue serotype 8, Association Vétérinaire Equine Française (AVEF), 6 octobre 2022, Reims.

Gonzalez G. et Zientara S. . Changements globaux et émergence de maladies virales vectorielles émergentes : exemple West Nile et Usutu. Groupe de recherche et d'étude des maladies Infectieuses, 22 avril 2022.

Communications internationales (‘conference proceedings ou ‘conference paper’)

L. Fiacre, S. Lowenski, C. Bahuon, M. Bayet, M. Dridi, E. Albina, N. Pages, B. Lambrecht, N. Pardigon, S. Lecollinet, G. Gonzalez (2022). Genetic determinants of the virulence of mediterranean WNV isolates. Joint International Tropical Medicine Meeting, 7-9 Décembre 2022, Bangkok, Thaïlande.

Pature N, L. Fiacre, C. Hermant, O. Gros, E. Albina, G. Gonzalez, N. Pages, S. Lecollinet (2022). Dynamics of WNV infection in Culex mosquitoes. Joint International Tropical Medicine Meeting, 7-9 Décembre 2022, Bangkok, Thaïlande.

Gonzalez G., Dumarest M., Amaral-Moraes R., Migné CV., Decors A., Tritz P., Beck C., Zientara S., Lecollinet S., and Dheilily NM. « Towards the development of an active surveillance system of WNV and USUV in France». Congress of the European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Séville (Espagne), 23 au 26 octobre 2022. (Prix de la 2^{de} meilleure présentation orale)

Migné CV., Dumarest M., Hohl G., Zientara S., Gonzalez G., and Dheilily NM. “Molecular diagnostic tools for enhanced surveillance of West Nile and Usutu virus”, Congress of the European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Séville (Espagne), 23 au 26 octobre 2022.

Conférences sur invitation

Dheilily NM. ”Towards a better surveillance and prevention of tick-borne encephalitis virus alimentary infections”. Joint International Tropical medicine Meeting, 8 décembre, Bangkok, Thaïlande.

Gonzalez G. Investigation des cas de TBEV dans l’Ain. Réunion ArboFrance, 6 avril 2022.

Autres (thèses, rapports de projets, d’expertise, et documents d’appui scientifique et technique)

Thèse

Alejandra Wu, ANSES, Maisons-Alfort. *Functional role of keystone bacteria in host microbiota: implications for the control of vector-borne diseases* (Examinatrice: Dheilily NM.) (Directeur: Alejandro Cabezas-Cruz))

Orianne Constant, INSERM, Montpellier: *Infection de la barrière hémato-encéphalique par des virus émergents, neuroinflammation, et contexte de circulation.* (Rapportrice : Dheilily NM) (Directeur: Yannick Simonin)