



Rapport annuel d'activité, année 2023

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.

Les faits marquants de l'année

En 2023, la saison de transmission de la fièvre du West Nile a été d'une intensité élevée en Europe. Les Etats Membres ont rapporté 157 foyers équine concentrés principalement en France (49 foyers), Espagne (37 foyers), Hongrie (26 foyers), Italie (25 foyers), Allemagne (14 foyers), Portugal (5 foyers) et en Autriche (1 foyer). Des foyers infectieux dans l'avifaune ont été signalés en Italie (196), en Allemagne (19), en Espagne (19), en Bulgarie (6), en Hongrie (3), en France (3), en Autriche (1) et en Grèce (1). La France a fait face à une année exceptionnelle de circulation de WNV sur la côte Ouest avec 31 foyers équine localisés en région Nouvelle Aquitaine plus spécifiquement en Gironde (24 foyers), Charente Maritime (6 foyers) et Charente (1 foyer). Un foyer a été également diagnostiqué dans le Gers. Les autres foyers ont été rapportés sur le bassin méditerranéen dans les départements des Bouches du Rhône (11 foyers) et en Haute-Corse (6 foyers). Des cas d'infection dans l'avifaune sauvage (un autour des palombes et un pigeon ramier) et captive (5 flamants du Chili du Zoo de la Palmyre) ont également été mis en évidence en Charente Maritime. L'été 2023 a également été le témoin d'une forte circulation du virus Usutu (USUV) en France. Ce virus a été détecté par méthode RT-qPCR par notre laboratoire dans 15 départements touchant en majorité les merles noirs (*Turdus merula*) prélevés sur le terrain par le réseau SAGIR (29 cas), un hibou grand-duc, un harfang des neiges, deux grives musiciennes et un étourneau.

Abréviations

EEEV : Virus de l'encéphalite équine de l'Est,
LCR : liquide Céphalorachidien,
RT-PCR : PCR Transcriptase inverse,
TBEV : Virus de l'encéphalite à tique,
USUV : Virus Usutu,
VEEV : virus de l'encéphalite équine du Venezuela,
WEEV : virus de l'encéphalite équine de l'Ouest,
WNV : Virus West Nile.

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 a fait l'objet d'une audit interne le 14 et 15 Novembre 2023 et sera présentée à l'accréditation COFRAC en 2024. Le LNR a également développé une ELISA indirect maison pour le sérodiagnostic du VEEV. Cette méthode spécifique permet de détecter la présence d'anticorps neutralisants VEEV dans les sérums de chevaux et de les discriminer des anticorps dirigés contre EEEV et WEEV. Le LNR poursuit la mise au point de la méthode d'inhibition de l'hémagglutination pour détecter le VEEV. Cette

méthode complémentaire permet également 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

1313 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Les analyses de première intention consistent en : - Des analyses sérologiques par ELISA (327 ELISA dont 138 ELISA de capture IgM et 189 ELISA de compétition IgG) et par séroneutralisation (380 au total comprenant 34 analyses pour l'encéphalite équine de l'Est, 33 pour l'encéphalite de l'Ouest, 93 pour l'encéphalite du Venezuela, 92 pour le West Nile, 39 pour l'encéphalite japonaise, 71 pour Usutu et 18 pour l'encéphalite à tiques TBEV) sur des sérums équins (uniquement pour les encéphalites équines de l'Est, de l'Ouest, vénézuélienne, japonaise et l'encéphalite à tiques), équins et aviaire (uniquement pour le West Nile et Usutu). - des analyses moléculaires sur broyat d'encéphales, de foies, de rates ou sur sangs : 600 analyses comprenant 547 analyses par RT-PCR temps réel West Nile et Usutu réalisées sur oiseaux dans le cadre du diagnostic différentiel entre USUV et WNV, 23 analyses par RT-PCR temps réel West Nile et USUV réalisées sur sang ou liquide céphalorachidien (LCR) , 2 analyses par RT-PCR temps réel TBEV réalisées sur sang et LCR de cheval, 4 analyses par RT-PCR temps réel EEEV, JEV, VEEV et WEEV sur sang de cheval. Le nombre d'analyses de première intention est en augmentation du fait de la circulation intense des virus West Nile et Usutu en 2023 et d'une volonté de renforcement de la surveillance WNV et USUV sur le territoire métropolitain.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

60 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Les analyses officielles de confirmation consistent en des ELISA IgM (30) et WNcompétition (30) de confirmation sur des résultats positifs obtenus par les laboratoires agréés du réseau. Le nombre d'analyses reste stable au cours de ces 5 dernières années avec une légère augmentation observée depuis 2022.

3.3 Autres analyses

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

564 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- 515 analyses sérologiques dont 107 ELISA WNcompetition, 28 ELISA de capture IgM, 380 seroneutralisations (181 JEV, 20 TBEV, 34 USUV, 26 WNV),
- 49 analyses moléculaires (dont 27 analyses par RT-PCR temps réel USUV et 22 analyses par RT-PCR temps réel WNV réalisées sur broyats d'organes aviaires)

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 a participé à 2 EILA au niveau européen organisés par le LRUE:

- "Serological diagnostic of equine infection by West Nile virus and exotic equine encephalitis virus (JEV, EEEV, VEEV, WEEV)"
- "Molecular detection (RT-PCR) of equine infections by arthropod-borne encephalitis viruses (WNV, JEV, EEEV, WEEV and VEEV)". Un panel sérologique constitué de 16 échantillons ainsi qu'un panel pour détection moléculaire par RT-PCR de 17 échantillons ont été analysés.

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 pour 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

Nombre de lots produits dans l'année

0

Nombre d'unités distribuées au plan national

6

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Stabilité de l'activité sur les 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)
contrôles initiaux

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

2

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'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 ...).

Un des membres du LNR participe à la constitution du rapport EFSA sur les données zoonoses 2022 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. Deux membres du LNR font parties du GT- "Sécurité des éléments et produits du corps humain" (GTP Secproch). Un membre 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.

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

7 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

1 EILA

Nom de l'EILA

Diagnostic sérologique de l'infection équine à virus West Nile

L'EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Non

Nombre de laboratoires participants

7 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

7 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoires) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Stable

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

(**) Au sens de la norme 17043

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"

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
Co-WESUV	Cartographie à haut débit des Interactions virus-hôte dans le cadre de co-infections West Nile et Usutu chez l'hôte aviaire: identification de facteurs de pathogénicité et de virulence impliqués dans la transmissibilité et le saut de barrière d'espèces	en cours
VecNile	Identification des éléments génétiques du virus West Nile, impliqués dans la transmission vectorielle, et dans la virulence chez l'hôte.	terminé
SAVE Satelite	Stratégies Antivirales contre trois Virus Equins : étude pharmaco-toxicologique de 4 molécules candidates chez le cheval / SAVE	terminé
WiLiManID	Ecology of Wildlife, Livestock, huMan and Infectious Diseases in changing environments	en cours
TBEV-Alim	Vers une meilleure compréhension du risque de transmission de TBEV à l'Homme par voie alimentaire en France	terminé
WESUV-NA	Situation exceptionnelle de circulation des arbovirus West Nile et Usutu en Nouvelle-Aquitaine	en cours
EcoPATHS	Approche éco-épidémiologique de la circulation d'agents infectieux dans les terres australes	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

INSERM

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Non

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Participation commune au GT "Sécurité des éléments et produits du corps humain" (GTP Secproch)

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Collaborateur dans le projet WESUV-NA.

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