



## Rapport annuel d'activité, année 2021

### 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

**Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Sans objet

**Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Sans objet

## **Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 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**

Le 21 avril 2021 est entrée en application une nouvelle réglementation européenne relative à la santé des animaux, le règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil du 9 mars 2016 relatif aux maladies animales, appelé la « LOI SANTE ANIMALE », LSA. Elle établit entre autre une catégorisation des maladies en définissant pour chacune les modalités de gestion associées.

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.

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.

En 2021, la saison de transmission de la fièvre du West Nile a été moins intense que les deux précédentes années. 37 foyers équine ont été comptabilisés dans l'Union européenne en 2021, foyers qui se concentrent principalement en Allemagne (16 foyers), Espagne (11 foyers), Portugal (4 foyers), Hongrie (3 foyers), France (2 foyers) et Grèce (1 foyer). Les 2 foyers français se localisent sur le bassin méditerranéen dans les départements du Var et Haute-Corse.

L'année 2021 a également montré une faible activité du virus Usutu sur le territoire français. Le virus Usutu n'a en effet été détecté que sur un moineau domestique et un merle dans les départements de l'Aube, et le Bas-Rhin respectivement. L'activité du virus Usutu était également faible en 2019 et 2020 avec un seul cas et quatre cas reportés respectivement.

Le LNR a été sollicité début décembre par la DGAL, suite à 2 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 2022.

Nouveauté scientifique :

Les données générées par le LNR sur les investigations dans l'élevage de chèvres incriminé dans le premier foyer de contamination humaine de TBEV par voie alimentaire dans l'Ain en région Auvergne Rhône-Alpes sont en cours de valorisation sous forme de publication scientifique. Cet article a été déposé sur medRxiv (Gonzalez et al, medRxiv 2021.12.16.21267910).

### **Abréviations**

LSA : loi de santé animale, UE : Union Européenne, 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, LIV : Looping ill virus

RT-PCR : PCR Transcriptase inverse

## **1. Méthodes développées ou révisées**

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

2 méthode(s)

### **Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes**

- Méthode de détection du génome du virus West Nile (WN) par PCR transcriptase inverse (RT-PCR) en temps réel à partir de prélèvements équins ou aviaires. Cette méthode de biologie moléculaire permet la détection du génome du virus WN à partir d'encéphale ou de sang sur anticoagulant (EDTA). Cette méthode est accréditée Cofrac depuis Mai 2021.

- Méthode de détection du génome du virus de l'encéphalite équine du Venezuela (VEEV) par PCR transcriptase inverse (RT-PCR) en temps réel à partir de prélèvements équins artificiellement contaminés. Cette méthode de biologie moléculaire permet la détection du génome du virus VEEV à partir d'encéphale ou de sang sur anticoagulant (EDTA). Cette méthode est mandatée par la LSA.

### **Informations complémentaires**

Sans objet

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 (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

193 analyse(s)

#### Détail par type d'analyse de première intention

Les analyses de première intention consistent en :

- des analyses par séroneutralisation (98 au total comprenant 17 analyses pour l'encéphalite équine de l'Est, 17 pour l'encéphalite de l'Ouest, 17 pour l'encéphalite du Venezuela, 16 pour le West Nile, 13 pour l'encéphalite japonaise, 7 pour Usutu et 11 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), caprins et bovins (encéphalite à tiques).
- des analyses moléculaires sur broyat d'encéphales, de rates ou de foies : 95 analyses comprenant 86 analyses par RT-PCR temps réel West Nile réalisées sur oiseaux dans le cadre du diagnostic différentiel entre virus Usutu (USUV) et WNV, 2 analyses par RT-PCR temps réel TBEV, LIV et Borna réalisées sur caprins, 3 analyses par RT-PCR temps réel Bagaza réalisées sur oiseaux.

Le nombre d'analyses officielles de première intention est stable au cours des 5 dernières années.

### 3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

14 analyse(s)

### **Détail par type d'analyse de confirmation**

Les analyses officielles de confirmation consistent en des ELISA IgM et WNcompétition de confirmation sur des résultats positifs ou douteux obtenus par les laboratoires agréés du réseau.

Le nombre d'analyses officielles de confirmation est stable au cours des 5 dernières années.

### **3.3 Autres analyses**

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

2296 analyse(s)

#### **Détail par type d'autres analyses**

Les analyses réalisées : Luminex flavivirus, séroneutralisation avec différents flavivirus comme le virus West Nile (WNV), Usutu (USUV) et le virus de l'encéphalite à tique (TBEV).

Elles s'inscrivent dans différents projets européens et nationaux:

- enquêtes épidémiologiques WN et Usutu réalisées en 2021 sur des chevaux à Mayotte, en Allemagne et en Espagne,
- enquêtes épidémiologiques sur des animaux sauvages, des caprins et des bovins afin d'étudier la prévalence du TBEV en France,
- enquêtes épidémiologiques sur les oiseaux des parcs zoologiques Français afin de déterminer la prévalence d'USUV en France et le spectre d'hôte de ce virus.
- enquêtes épidémiologiques en Equateur sur des chevaux afin de déterminer la prévalence du WNV, des virus des encéphalites exotiques de l'Est, de l'Ouest et du Venezuela et la co-circulation de ces virus.

Le nombre d'analyses non officielles est stable au cours des 5 dernières années.

### **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 2021.

#### 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)

Contrôle positif et ARN

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

- 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.

Nombre de lots produits dans l'année

0

Nombre d'unités distribuées au plan national

0

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)**

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, etc..) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR**

**Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année**

1 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)

**Détail des demandes d'AST, le cas échéant numéro de saisine pour les demandes de portée nationale ayant fait l'objet d'un traitement en Comité de Traitement des Saisines, et noms des mandataires de ces demandes**

- DDPP de l'Ain : appui scientifique sur l'enquête des animaux d'élevage contaminés par le virus de l'encéphalite à tiques, suite à l'identification de foyers humains d'infection en France en 2020.

## 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.

## 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 ou de conseil aux autorités ou aux professionnels

Les activités de conseil font suite à des contacts téléphoniques ou e-mails provenant de cabinets vétérinaires, de LDA, (environ 2-5 par semaine, de 30 minutes à 1h/mois). 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

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

1 journée(s) : ) : 27 mai 2021, co-organisée par la Direction de la Stratégie et des Programmes et les LNR Anses en santé animale

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

Non

### 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:

2 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 ?	terminé
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
SAVE Satellite	Stratégies Antivirales contre trois Virus Equins : AVE, WNV et HVE-1 : étude pharmaco-toxicologique sur 4 molécules candidates chez le cheval	en cours
AFVPZ	Prévalence d'USUV en France sur les oiseaux des parcs zoologiques Français	terminé
COVETLAB	Development of isothermal amplification methods for select arthropod-borne diseases of livestock	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**

Soumission d'articles scientifiques suite à l'infection des ruminants domestiques par le virus de l'encéphalite à tiques et la transmission du virus à l'homme par voie alimentaire

**Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant**

Sans objet

**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 2021 dans le cadre du mandat de LNR Encéphalites virales des équidés : encéphalite West-Nile

#### Publications scientifiques nationales et internationales

- Assaid, N., S. Arich, S. Ezzikouri, S. Benjelloun, M. Dia, O. Faye, K. Akarid, C. Beck, S. Lecollinet, A. B. Failloux, and M. Sarih. 2021. "Serological evidence of West Nile virus infection in human populations and domestic birds in the Northwest of Morocco." *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 76: 101646. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101646>.
- Bakhshi, H., C. Beck, S. Lecollinet, M. Monier, L. Mousson, S. Zakeri, A. Raz, K. Arzamani, L. Nourani, N. Dinparast-Djadid, and A. B. Failloux. 2021. "Serological evidence of West Nile virus infection among birds and horses in some geographical locations of Iran." *Vet Med Sci* 7 (1): 204-209. <https://doi.org/10.1002/vms3.342>.
- Blomqvist, G., K. Näslund, L. Svensson, C. Beck, and J. F. Valarcher. 2021. "Mapping geographical areas at risk for tick-borne encephalitis (TBE) by analysing bulk tank milk from Swedish dairy cattle herds for the presence of TBE virus-specific antibodies." *Acta Vet Scand* 63 (1): 16. <https://doi.org/10.1186/s13028-021-00580-4>.
- Clé, M., O. Constant, J. Barthelemy, C. Desmetz, M. F. Martin, L. Lapeyre, D. Cadar, G. Savini, L. Teodori, F. Monaco, J. Schmidt-Chanasit, J. C. Saiz, G. Gonzales, S. Lecollinet, C. Beck, F. Gosselet, P. Van de Perre, V. Foulongne, S. Salinas, and Y. Simonin. 2021. "Correction to: Differential neurovirulence of Usutu viruslineages in mice and neuronal cells." *J Neuroinflammation* 18 (1): 59. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02109-y>.
- Gonzalez G, Bournez L, Amaral Moraes R, M Dumarest, Galon C, Vorimore F, Cochin M, Nougairède A, Hennechart-Colette C, Perelle S, Leparac-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-Latit S, Dheilly NM, Beck C, and Lecollinet S. 2021. "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." *medRxiv*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1101/2021.12.16.21267910>.
- Hébert, L., G. Polledo, F. Lecouturier, M. Giorgi, C. Beck, S. Lowenski, K. Laroucau, P. Büscher, A. Hans, and T. Becù. 2021. "Serological evidence of equine infectious anaemia, West Nile fever, surra and equine piroplasmiasis in a herd of horses in northern Argentina." *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 24: 100566. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100566>.
- Martin, M.-F., H. G. Maarifi, M. Seffals Abiven, N. Mouchet, C. Beck, N. Bodet, N. J. Lévêque, F. P. Arhel, Blanchet, Y. Simonin and, and S. Nisole. 2021. "Usutu virus uses langerin as a receptor to productively infect Langerhans cells more efficiently than West Nile virus." *bioRxiv*. <https://doi.org/2021.2008.2017.456611>.
- Migné CV, Beck C, Gonzalez G, Lecollinet S, and Moutailler S. 2021. "Quels outils pour la surveillance des arbovirus émergents au sein de leurs hôtes mammifères et vecteurs arthropodes ? ." *Virologie* 2.
- Napp, S., F. Llorente, C. Beck, E. Jose-Cunilleras, M. Soler, L. Pailler-García, R. Amaral, P. Aguilera-Sepúlveda, M. Pifarré, R. Molina-López, E. Obón, O. Nicolás, S. Lecollinet, M.Á Jiménez-Clavero, and N. Busquets. 2021. "Widespread Circulation of Flaviviruses in Horses and Birds in Northeastern Spain (Catalonia) between 2010 and 2019." *Viruses* 13 (12). <https://doi.org/10.3390/v13122404>.

Sullivan, E., S. Lecollinet, A. Kerviel, E. Hue, S. Pronost, C. Beck, M. Dumarest, S. Zientara, and P. Roy. 2021. "Entry-competent-replication-abortive African horse sickness virus strains elicit robust immunity in ponies against all serotypes." *Vaccine* 39 (23): 3161-3168. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.04.034>.

## Ouvrages et Chapitres d'ouvrage

Beck, C., R. Hamel, M. Dumarest, G. Gonzalez and, and S. Lecollinet. 2021. "Non-human occurrence of Zika virus infection: implications for control. Zika Virus, Pathology and Control." *Book : Academic Press Elsevier 1*: 453-462.

## Communications nationales

Gaëlle Gonzalez, Laure Bournez, Cécile Beck, Marine Dumarest, Sandra Martin-Latil, Catherine Hennechart-Collette, Rayane Amaral Moraes, Sandrine Lacour, Fabien Vorimore, Sara Moutailler, Sylvie Lecollinet. Premiers cas humains d'infection à TBEV en France suite à la consommation de fromage de chèvre au lait cru. Présentation orale. *Journées Francophones de Virologie, 26-27 avril 2021*.

C. Beck. La lignée 2 du virus West Nile émerge en France en 2018. Poster. *Journées Francophones de virologie, 26-27 avril*.

## Communications internationales

Gaëlle Gonzalez. Overview of West Nile virus and Usutu virus circulation in Europe from 2016 to 2020. (R)e-emerging Arboviruses in the shadow of Covid-19 pandemic symposium. *Visio-conférence. Zagreb. 10 et 11 juin 2021*.

Cécile Beck, Isabelle Leparac Goffart , Florian Franke , Gaëlle Gonzalez , Marine Dumarest , Steeve Lowenski , Yannick Blanchard, Pierrick Lucas, Xavier de Lamballerie, Gilda Grard, Guillaume André Durand, Stéphan Zientara, Jackie Tapprest , Grégory L'Ambert , Benoit Durand , Stéphanie Desvaux et Sylvie Lecollinet. Spatial distribution and infection of West Nile virus lineages 1 and 2 in France from 2015 to 2020. *International Equine Infectious Disease Conference, 30 Septembre 2021. En Visioconférence*

## Conférences sur invitation

Gaëlle Gonzalez. "Emerging alphaviruses : veterinary and zoonotic aspects", EVD-LabNet webinar on emerging alphaviruses, 7 octobre 2021. *En visioconférence*.