

ESTIMATION DE LA PÉRIODE D'INTRODUCTION DU VIRUS SCHMALLEMBERG DANS DEUX DÉPARTEMENTS FRANÇAIS

LIKELY INTRODUCTION DATE OF SCHMALLEMBERG VIRUS IN TWO FRENCH DEPARTMENTS USING SEROLOGICAL STUDIES IN CATTLE

Par Charlotte RABALLAND¹, Emmanuel Bréard², Corinne Sailleau², Stephan ZIENTARA², Gina ZANELLA³
(Communication présentée le 11 juin 2015)

RÉSUMÉ

Une enquête de séroprévalence individuelle vis-à-vis du virus Schmallenberg (SBV) est menée entre les mois d'août 2011 et avril 2012 dans la population bovine des départements de la Manche et de la Meurthe-et-Moselle. Une séropositivité est observée à partir du mois d'octobre 2011 dans les deux départements, avec des prévalences respectives de 12,7 et 55,6%.

Ces taux augmentent rapidement les mois suivants pour atteindre des prévalences élevées. Compte-tenu de la position géographique de ces départements et des connaissances actuelles sur le SBV, l'introduction présumée du virus en France est située vers la fin septembre-début octobre 2011.

Mots-clés : virus Schmallenberg, séroprévalence, bovins, introduction.

SUMMARY

Monthly serological surveys between August 2011 and April 2012 were performed among cattle population from Manche and Meurthe-et-Moselle departments. First positive results were observed in October 2011 for both departments, with respectively 12,7 and 55,6% SBV serological prevalences. Those rates increased quickly to reach very high levels from the end of 2011. Likely introduction date of SBV in France may be situated in the second half of September or during the first days of October 2011.

Key words : Schmallenberg virus, serological prevalence, cattle, introduction date.

INTRODUCTION

Lors de l'été 2011 un syndrome fébrile d'étiologie inconnue s'est manifesté chez les bovins en Allemagne et aux Pays-Bas, caractérisé principalement par de l'hyperthermie, des diarrhées et une baisse de la production laitière (Muskens *et al.* 2012; Hoffmann *et al.* 2012). L'Institut Friedrich Loeffler (Allemagne) révèle chez ces bovins la présence d'un Orthobunyavirus jusqu'ici inconnu, le virus Schmallenberg (SBV) (Hoffmann *et al.* 2012). Durant l'hiver 2011-2012, des cas de malformations chez des agneaux nouveau-nés, imputables au SBV, sont aussi observés en Allemagne, en Belgique et aux Pays-Bas (Hoffmann *et al.* 2012 ; Garigliani *et al.* 2012).

Les premiers départements français touchés sont la Meurthe-et-Moselle et la Moselle (Dominguez *et al.* 2012). Outre le syndrome fébrile observé pendant les phases de virémie chez les adultes, le virus est responsable d'avortements tardifs, de mortinatalité ou d'un syndrome d'arthrogrypose-hydranencéphalie chez les produits des trois espèces de ruminants domestiques (Van der Brom, 2012).

Face à l'impact de cette maladie émergente dans les élevages de ruminants, aux pertes financières qu'elle provoque et aux questions qu'elle soulève auprès des éleveurs, l'étude du SBV se révèle une nécessité pour mieux connaître ses modalités de transmission et l'évolution de l'épizootie.

(1) Docteur Vétérinaire, 2 rue Suffren 44000 Nantes : Correspondance à charlotte.raballand@live.fr

(2) ANSES Alfort, UMR 1161 ANSES/INRA/ENVA, Maisons-Alfort Cedex, France. szientara@vet-alfort.fr

(3) ANSES Alfort, Unité EPI, Maisons-Alfort Cédex, France. gina.zanella@anses.fr

Connaissant le mode de transmission des autres Orthobunyavirus, il est supposé que le SBV se propage par l'intermédiaire d'un vecteur et son ARN est effectivement isolé de différentes espèces de culicoïdes (De Regge *et al.* 2012; Elbers *et al.* 2012). Une transmission verticale de la mère au fœtus est également mise en évidence (Garigliany *et al.* 2012; Van der Brom, 2012). Aucune autre voie de transmission n'est prouvée pour le moment.

L'objectif de notre étude est d'estimer la période d'introduction du SBV en France, à l'aide d'une enquête de séroprévalence individuelle s'étendant d'août 2011 à avril 2012 dans deux départements, la Meurthe-et-Moselle et la Manche. La Meurthe-et-Moselle est le premier département français où des cas ont été confirmés et la Manche, un des départements les plus atteints par l'épizootie.

L'ÉTUDE

Matériels et méthodes

Les prélèvements sont réalisés chez des bovins âgés de plus de deux ans en Meurthe-et-Moselle et dans la Manche. Ce sont des sérums de prophylaxie récoltés par les vétérinaires de terrain lors de la saison 2011-2012 et transmis aux laboratoires vétérinaires départementaux (LVD).

En Meurthe-et-Moselle, le LVD sélectionne 200 prélèvements par mois entre août 2011 et avril 2012, recueillis dans au moins 20 cheptels différents chaque mois. Dans la Manche, les sérums sont sélectionnés par le LVD de sorte à représenter le plus de communes possibles. Ces sérums sont envoyés à l'ANSES de Maisons-Alfort (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail), sous la forme de microtubes individuels (Meurthe et Moselle) ou de plaques de sérums à raison de 96 puits par plaque (Manche) sous froid négatif. Ces variations départementales sont liées à des différences d'organisation (stockage, classification) entre les deux laboratoires d'analyse impliqués.

Nous avons réalisé l'analyse des sérums à l'aide d'un test ELISA (Enzym Like Immuno Sorbant Assay) permettant la détection d'anticorps dirigés contre la nucléoprotéine (NP) du virus de Schmallenberg (ELISA indirect SBV, Id-Vet, France). La lecture du test se fait à 450 nm par un spectrophotomètre. Les données sont ensuite transférées sur une feuille de calcul Excel validée par l'ANSES permettant de visualiser la moyenne des densités optiques (DO) des deux contrôles négatifs (CN), la moyenne des DO des deux contrôles positifs (CP), et la densité optique de chaque échantillon testé et leur pourcentage S/P $\{[(\text{DO}_{\text{échantillon}} - \text{DO}_{\text{CN}}) / (\text{DO}_{\text{CP}} - \text{DO}_{\text{CN}})]\}$. La positivité du résultat dépend du rapport S/P : le test est considéré comme négatif si S/P est inférieur ou égal à 60%, positif si S/P est supérieur à 70% et douteux s'il est compris entre ces deux bornes. La méthode a été évaluée ; sa sensibilité et sa spécificité sont respectivement de 97,2 et 99,8% (Bréard *et al.* 2013). Les sérums douteux sont traités par

séroneutralisation, afin d'être classés positifs ou négatifs. Au vu de la spécificité du test, lorsque trois résultats positifs ou moins sont obtenus chaque mois, ils sont confirmés ou infirmés par séroneutralisation. Les titres en anticorps sont exprimés en log₁₀ de la dernière dilution présentant un effet neutralisant du virus, avec un seuil à 0,9 (titre < 0,9 : négatif; titre \geq 0,9 : positif).

Une étude préalable portant sur le virus de la fièvre catarrhale ovine montre que les animaux séropositifs sont dispersés dans les zones infectées plutôt qu'agregés par élevage (Durand *et al.* 2010). Le SBV se transmettant également par les culicoïdes, nous avons supposé l'existence d'une dispersion similaire afin de déterminer le nombre de prélèvements à analyser par mois. En utilisant un test diagnostic imparfait, il s'est avéré nécessaire de tester 42 animaux par département et par mois pour détecter une séroprévalence du SBV de 40%, avec un niveau de confiance de 95% et une précision relative de 15%. De même, pour les mois où aucun séropositif n'est détecté, il nous faut un échantillon de 200 animaux par département, pour détecter une prévalence de 3% avec un niveau de confiance à 95%. Lorsque des résultats négatifs sont obtenus pendant deux mois consécutifs, il est décidé de ne pas tester les échantillons des mois précédents. La taille des échantillons et les prévalences réelles sont calculées par le logiciel Epitools (Sergeant, 2013) afin d'obtenir des courbes de prévalences par département.

Le mois d'octobre est choisi comme point de départ de l'enquête sérologique, pour l'étendre ensuite de proche en proche, antérieurement jusqu'à avoir au moins deux mois sans aucune séroconversion et ultérieurement jusqu'en avril 2012. Le choix du mois d'octobre relève de l'hypothèse que le SBV est déjà présent à cette période, afin de débiter l'étude en période de séroprévalence élevée.

La période d'introduction est estimée en considérant un délai d'une quinzaine de jours entre l'infection et la détection d'anticorps par la méthode ELISA (Bréard, comm. personnelle).

Résultats

L'évolution des séroprévalences réelles du SBV en Meurthe-et-Moselle est présentée dans la **figure 1** et dans le **tableau 1**.

Un des 200 sérums du mois de septembre 2011 est reconnu positif, mais le résultat est infirmé par séroneutralisation. Les premières séroconversions sont observées à partir d'octobre 2011, de manière déjà intense avec un taux de prévalence de 54,2%, et précoce, puisque le premier résultat positif date de la semaine 41 (début octobre). Un plateau est rapidement atteint dès le mois de novembre 2011.

L'évolution dans la Manche est présentée dans la **figure 2** et le **tableau 2**.

Trois sérums sur 300 sont révélés positifs en septembre. La séroneutralisation, réalisée pour chacun d'eux, a infirmé le résultat. Les premières séroconversions sont détectées en octobre 2011, avec un premier résultat positif pendant la semaine 42. Le taux de prévalence, de 12,5% en octobre, augmente jusqu'à atteindre un plateau en janvier-février 2012.

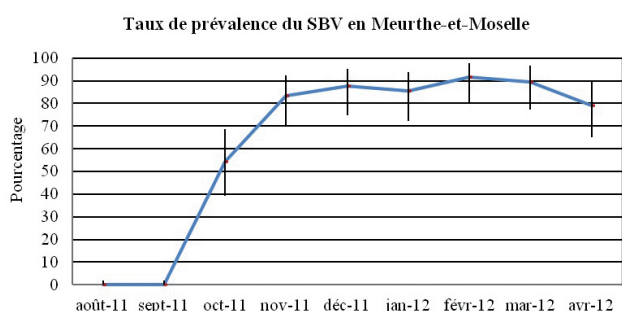


Figure 1 : Taux de prévalence réelle du SBV par mois dans le département de la Meurthe-et-Moselle.

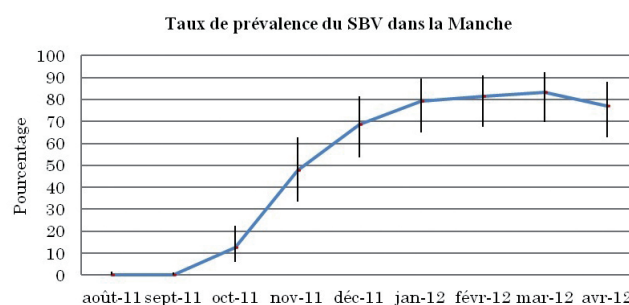


Figure 2 : Taux de prévalence réelle du SBV par mois dans le département de la Manche à partir des sérums de prophylaxie.

Mois	Année 2011					Année 2012			
	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars	Avril
Prévalence (Effectif)	0 (200)	0 (200)	54,2 (48)	83,3 (48)	87,5 (48)	85,4 (48)	91,7 (48)	89,6 (48)	79,2 (48)

Tableau 1 : Taux de prévalence réelle et effectif par mois dans le département de la Meurthe-et-Moselle, à partir des sérums de prophylaxie.

Mois	Année 2011					Année 2012			
	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars	Avril
Prévalence (Effectif)	0 (200)	0 (300)	12,5 (72)	47,9 (48)	68,8 (48)	79,2 (48)	81,3 (48)	83,3 (48)	77,1 (48)

Tableau 2 : Taux de prévalence réelle et effectif par mois dans le département de la Manche, à partir des sérums de prophylaxie.

Discussion

À partir du délai nécessaire pour observer une séroconversion il est possible d'estimer la période d'introduction du SBV dans les deux départements. Celle-ci aurait probablement eu lieu dans la deuxième moitié de septembre 2011. Il reste cependant possible que le SBV ait commencé à circuler plus tôt en septembre 2011, à des taux non détectables (< 3%).

La prévalence plus élevée en Meurthe-et-Moselle au mois d'octobre suggère une introduction plus précoce dans ce département, conséquence de sa position géographique, car plus proche de pays comme l'Allemagne et la Belgique. Cependant, les séroconversions quasi simultanées dans les deux départements montrent une propagation rapide du virus vers l'ouest de la France, plus rapide que celle du virus de la fièvre catarrhale ovine (BTV-8), observée en 2008 (Durand *et al.* 2010). Pour expliquer la rapidité de cette dissémination, on avance une plus grande compétence vectorielle des culicoïdes pour le SBV que pour le BTV-8, comme cela a été suggéré pour le virus Akabane (Kirkland *et al.* 2012) : la prévalence du SBV dans les populations de culicoïdes est jusqu'à dix fois supérieure à celle du BTV-8, et le nombre d'espèces impliquées est plus grand (Elbers *et al.* 2012). De plus les mouvements d'animaux n'ont pas été restreints, contrairement aux mesures prises pendant l'épizootie de FCO de 2008.

L'infection des brebis entre septembre et octobre 2011 est compatible avec les premières déclarations d'agneaux nouveau-nés malformés de janvier 2012 en Meurthe-et-Moselle et de février 2012 dans la Manche. En effet, d'après les faits connus concernant les autres Orthobunyavirus du séro groupe Simbu, la fenêtre d'infection des fœtus ovins engendrant des malformations se situe entre le 30ème et 70ème de gestation (Parsonson *et al.* 1985). Chez les bovins, la période de vulnérabilité des fœtus est plus longue : après l'infection par le virus Akabane, les malformations sont observées entre le 76ème et le 249ème jour de gestation (Kirkland *et al.* 1988). Une infection par le SBV en octobre 2011 pourrait donc avoir induit des malformations chez des veaux nés dans les premiers mois de l'année 2012.

Des enquêtes sérologiques sont également menées en Belgique et aux Pays-Bas, à partir de sérums prélevés en 2011 et au cours des premiers mois de 2012. En Belgique, la recherche du SBV dans quarante sérums de bovins, prélevés pendant le printemps 2011, s'est révélée négative (Garigliany *et al.* 2012), bien que des prévalences élevées soient enregistrées entre janvier et mars 2012 dans les troupeaux bovins belges (Méroc *et al.* 2013) et entre novembre 2011 et avril 2012, chez les petits ruminants (Méroc *et al.* 2013). De même, les cervidés affichent une séroprévalence de 43,1% entre octobre et décembre 2011 (Linden

et al. 2012). Aux Pays-Bas, des sérums de bovins récoltés entre novembre 2011 et janvier 2012 donnent un taux de prévalence de 72,5% (Elbers et al. 2012).

Ces taux de prévalence ne peuvent être comparés à ceux que nous avons obtenus car ils ne sont pas calculés par mois ; ils indiquent cependant que le SBV circule déjà de manière intense dans ces deux pays en octobre 2011, période à laquelle nous observons les premières séroconversions en Meurthe et Moselle et dans la Manche. Le fait de disposer, pour analyse, d'échantillons de sérums prélevés à l'été 2011 et au mois de septembre est une première parmi les études de séroprévalence déjà publiées et il aurait été intéressant de disposer d'une cinétique similaire dans les pays limitrophes de la France, qui ont vu l'émergence du SBV en Europe.

CONCLUSION

Nous mettons en évidence une période d'introduction probable du SBV dans les départements de la Manche et de la Meurthe-et-Moselle, vers la mi-septembre 2011, avec une propagation d'est en ouest. Cette propagation est suggérée par la prévalence plus élevée et plus précoce du SBV en Meurthe-et-Moselle, mais la diffusion a été très rapide, comparée à celle observée en 2008 lors de la vague d'épizootie de FCO. Notre étude a l'intérêt d'être unique et est la première à établir, à partir de l'évolution des taux de séroprévalence, une cinétique de l'infection des bovins dans les deux départements remontant jusqu'en août 2011, période à laquelle la population bovine se trouvait apparemment encore naïve vis-à-vis du virus.

REMERCIEMENTS

À toute l'Unité EPI et l'UMR Virologie de l'ANSES de Maisons-Alfort, pour avoir permis la réalisation de ce projet.

À Fabienne Benoit et Sabine Pelzer, directrices des LVD 50 et 54, ainsi que leur personnel technique, pour avoir mis à notre disposition les sérums de prophylaxie nécessaires à cette étude.

À Raphaël Guattéo, Maître de Conférences à l'École vétérinaire de Nantes-Oniris, pour m'avoir encadré dans ce travail et m'avoir accordé sa confiance.

À l'Académie Vétérinaire de France, pour la reconnaissance de ce travail et pour avoir permis sa diffusion à travers la publication dans le bulletin de l'Académie.

BIBLIOGRAPHIE

- Breard E, Lara E, Comtet L, Viarouge C, Doceul V, Desprat A et al. Validation of a commercially available indirect ELISA using a nucleocapsid recombinant protein for detection of Schmallenberg virus antibodies. *PLoS one*. 2013;8(1):e53446.
- De Regge N, Deblauwe I, De Deken R, Vantieghem P, Madder M, Geysen D et al. Detection of Schmallenberg virus in different *Culicoides* spp. by real-time RT-PCR. *Transboundary Emerging Diseases* 2012;doi:10.1111/tbed.12000.
- Dominguez M, Hendrikx P, Zientara S, Calavas D, Jay M, Touratier A et al. Preliminary estimate of Schmallenberg virus infection impact in sheep flocks - France. *The Veterinary record* 2012;171(17):426.
- Durand B, Zanella G, Biteau-Coroller F, Locatelli C, Baurier F, Simon C et al. Anatomy of bluetongue virus serotype 8 epizootic wave, France, 2007-2008. *Emerging infectious diseases* 2010;16(12):1861-8.
- Elbers RW, Meiswinkel R, van Weezep E, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Kooi EA. Schmallenberg virus in *Culicoides* spp. biting midges, the Netherlands, 2011. *Emerg Infect Dis*. 2012; 18(7):1065-71; doi: 10.3201/eid1901.121054.
- Elbers AR, Loeffen WL, Quak S, de Boer-Luijze E, van der Spek AN, Bouwstra R et al. Seroprevalence of Schmallenberg virus antibodies among dairy cattle, the Netherlands, winter 2011-2012. *Emerging infectious diseases* 2012 18(7):1065-71.
- Garigliany M M, Bayrou C, Kleijnen D, Cassart D, Desmecht D. Schmallenberg virus in domestic cattle, Belgium. *Emerging infectious diseases* 2012;18:1512-1514.
- Hoffmann B, Scheuch M, Hoper D, Jungblut R, Holsteg M, Schirmer H et al. Novel orthobunyavirus in Cattle, Europe. *Emerging infectious diseases* 2011; 18: 469-72.
- Kirkland PD. Akabane and other Simbu viruses: epidemiology, pathogenesis and impact. [en ligne]. Disponible sur : <http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/schmallenberg_virus/docs/akabane_other_sbv_en.pdf> 2012.
- Linden A, Desmecht D, Volpe R, Wirtgen M, Gregoire F, Pirson J et al. Epizootic spread of Schmallenberg virus among wild cervids, Belgium, Fall 2011. *Emerging infectious diseases*. 2012;18(12):2006-8.
- Meroc E, Poskin A, Van Loo H, Quinet C, Van Driessche E, Delooz L et al. Large-scale cross-sectional serological survey of schmallenberg virus in Belgian cattle at the end of the first vector season. *Transboundary and emerging diseases* 2013;60(1):4-8.
- Meroc E, De Regge N, Riocreux F, Caij AB, van den Berg T, van der Stede Y. Distribution of Schmallenberg Virus and Seroprevalence in Belgian Sheep and Goats. *Transboundary and emerging diseases* 2014; 61(5):425-31. doi: 10.1111/tbed.12050. Epub 2013 Jan 10.
- Muskens J, Smolenaars AJ, van der Poel WH, Mars MH, van Wuijckhuise L, Holzhauser M et al. Diarrhea and loss of production on Dutch dairy farms caused by the Schmallenberg virus. *Tijdschrift voor diergeneeskunde* 2012; 137: 112-5.
- Parsonson IM & McPhee DA. Bunyavirus pathogenesis. *Advances in virus research* 1985;30:279-316.
- Sergeant E. EpiTools epidemiological calculators. AusVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research Centre for Emerging Infectious Disease. [en ligne]. Disponible sur : <<http://epitools.ausvet.com.au>> 2013.
- Van den Brom R, Lutikholt SJ, Lievaart-Peterson K, Peperkamp NH, Mars MH, van der Poel WH. Epizootic of ovine congenital