

## Surveillance des dangers sanitaires pour les poissons d'élevage et état des lieux de la détection de virus émergents sur les années 2022-2023

Marine Baud<sup>1</sup>, Laurane Pallandre<sup>1</sup>, Joëlle Cabon<sup>1</sup>, Pauline Gripon<sup>1</sup>, Doriana Flores<sup>1</sup>, Alexiane Talbodec<sup>1</sup>, Rodolphe Thomas<sup>2</sup>, Sophie Le Bouquin<sup>2</sup>, Laurent Bigarré<sup>1</sup>, Thierry Morin<sup>1</sup>, Isabelle Guerry<sup>3</sup>, Guillaume Lefebvre<sup>3</sup>, Lénéaig Louboutin<sup>1</sup>

Auteur correspondant : [lnr.poissons@anses.fr](mailto:lnr.poissons@anses.fr)

<sup>1</sup> Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Virologie, immunologie et écotoxicologie des poissons, Laboratoire National de Référence (LNR) pour les maladies réglementées des poissons, Plouzané, France

<sup>2</sup> Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Épidémiologie, Santé et Bien-Etre (EPISABE), Ploufragan, France

<sup>3</sup> Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

### Résumé

Durant les dernières décennies, la généralisation de l'élevage mono-spécifique intensif dans la filière piscicole et l'intensification des échanges de poissons et semences ont complexifié la gestion sanitaire des élevages dans les bassins de production. Les agents pathogènes tels que les rhabdovirus responsables de la septicémie hémorragique virale (SHV) et de la nécrose hématopoïétique infectieuse (NHI) sont désormais répertoriés par la nouvelle Loi de Santé Animale (LSA) en catégorie CDE (maladie soumise à programme d'éradication optionnel par les États Membres). Cette évolution réglementaire ne remet pas en question les statuts sanitaires reconnus précédemment et la surveillance qui permet le maintien des statuts. Le lancement en 2017 d'un Plan National d'Eradication et de Surveillance (PNES) soutenu financièrement par l'Union Européenne, plan dont l'objectif est d'obtenir à moyen terme le statut indemne pour la SHV et la NHI pour l'ensemble du territoire français, a permis de renforcer cette surveillance. Sur la période 2022-2023, les résultats des contrôles sanitaires confirment le maintien d'une situation sanitaire stable sur le territoire vis-à-vis de ces deux maladies mais également de l'herpès virose de la carpe (HVC), détectée régulièrement depuis plus d'une décennie en France et rétrogradée en catégorie E (maladie soumise à surveillance) dans la nouvelle LSA. Les laboratoires nationaux de référence (LNRs) des Etats-Membres de l'Union Européenne assurent, en parallèle, une surveillance active des maladies non réglementées et émergentes circulant sur le territoire européen.

### Mots-clés

Poissons, maladies virales, septicémie hémorragique virale, nécrose hématopoïétique infectieuse, herpès virose de la carpe, anémie infectieuse du saumon, virus émergents

### Abstract

#### Surveillance of health hazards for reared fish and review of emerging virus detection in 2022-2023

In these last decades, generalization of monospecies intensive fish farming as well as the increase of fish trade have complicated sanitary management. Pathogens such as the rhabdoviruses responsible for Viral Haemorrhagic Septicaemia (VHS) and Infectious Hematopoietic Necrosis (IHN) have recently been listed in the new Animal Health Law (AHL) within category CDE (listed diseases of importance to some Member States and for which measures are required to prevent their spread to parts of the Union that are officially disease-free or have eradication programs). This evolution does not change the previously recognized health statuses. The national plan for the eradication and surveillance of VHS and IHN, launched in 2017, coordinated by the French general directorate of food (DGAI) and financially supported by the European Union, with the aim of obtaining a free disease status for VHS and IHN for the entire metropolitan territory, enabled to reinforce this surveillance. Within the years 2022-2023, surveillance result analyses confirmed a stable sanitary situation on the territory regarding those two diseases but also regarding koi herpesvirus disease (KHD), regularly detected since more than ten years in France and down regulated in category E (listed disease for which there is a need for surveillance) within the Union by the new AHL. Member state NRL are in charge, in parallel, of an active monitoring of non-regulated as well as emerging diseases in Europe.

### Keywords

Fish, Viral diseases, VHS, IHN, KHV, ISA, emerging viruses

Chez les poissons d'élevage, cinq maladies virales sont réglementées au niveau européen (règlement (UE) 2016/429). La nécrose hématoïétique épizootique (NHE) n'est actuellement pas présente en UE mais le cadre réglementaire est prévu pour une lutte immédiate si elle venait à être introduite. La septicémie hémorragique virale (SHV), la nécrose hématoïétique infectieuse (NHI), et l'herpès virose de la carpe (HVC) sont des maladies pour lesquelles certaines parties de l'UE sont indemnes et qui sont occasionnellement mises en évidence sur le territoire métropolitain. Enfin, l'anémie infectieuse du saumon (AIS) est présente en Europe, mais absente dans les états membres de l'UE. De ce fait, la France est considérée comme indemne de cette maladie. En parallèle de ces virus réglementés, une surveillance événementielle des maladies non réglementées et / ou émergentes est réalisée, grâce notamment au réseau des LNRs des Etats-Membres de l'Union Européenne.

## Evolution de la réglementation

Le règlement (UE) 2016/429 dit Loi de Santé Animale (LSA), entré en application le 21 avril 2021, fait évoluer la classification des agents infectieux selon les mesures de gestion attendues (classement de A à E). Les pathogènes vAIS, vSHV et vNHI sont dorénavant classés en CD et E (C – maladies qui concernent certains États membres et à l'égard desquelles des mesures s'imposent en vue d'en empêcher la propagation à des parties de l'Union qui en sont officiellement indemnes ou qui disposent d'un programme d'éradication ; D - maladie pour laquelle des restrictions aux mouvements entre EM s'appliquent et E - maladie soumise à surveillance). Le virus de la HVC, dont l'agent étiologique est le Koï Herpes Virus (KHV) ou Cyprinid Herpes Virus de type 3 (CyHV3), est passé en catégorie E.

Le règlement délégué (UE) 2020/689, définit les modalités de surveillance et de lutte pour les maladies répertoriées en C+D+E avec pour objectifs de protéger les élevages et de faciliter les échanges commerciaux. À noter que les évolutions réglementaires ne remettent pas en cause les statuts sanitaires reconnus précédemment et que les modalités de maintien de statut indemne sont similaires (**Encadré 1**). La France a pour objectif l'obtention du statut sanitaire indemne pour les vSHV et vNHI sur le territoire métropolitain.

Le statut indemne de la France en vAIS est reconnu historiquement, et ce malgré l'absence d'analyses ciblant spécifiquement ce virus. Une surveillance événementielle est toutefois menée par les vétérinaires spécialisés. En 2022, le LNR a engagé

des travaux de validation d'une méthode de PCR temps réel ciblant le vAIS, méthode désormais opérationnelle qui pourrait à terme être transférée aux laboratoires agréés du réseau en charge des analyses de première intention ciblant jusqu'à présent les seuls vSHV et vNHI.

## Matériels et méthodes

Les analyses ciblant les virus réglementés de la SHV et de la NHI sont réalisées par les sept laboratoires agréés du réseau. Les méthodes mises en œuvre consistent en l'isolement sur cellules puis l'identification par immunofluorescence selon les normes françaises NF U47-220 (« Isolement sur culture cellulaire et identification par immunofluorescence du virus de la septicémie hémorragique virale des poissons ») et NF U47-221 (« Isolement sur culture cellulaire et identification par immunofluorescence du virus de la nécrose hématoïétique infectieuse des poissons ») et / ou en l'amplification du génome viral par RT-PCR en temps réel selon des méthodes développées et validées par le LNR (ANSES/PLOU/MA/4 et ANSES/PPN/MA/7 « Détection du virus de la Septicémie Hémorragique Virale (vSHV) par RT-PCR en temps réel » et « Détection du virus de la Nécrose Hématoïétique Infectieuse (vNHI) par RT-PCR en temps réel ») ou des kits commerciaux AdiaVet vSHV (ADI581) ou vNHI (ADI571). Le LNR intervient en seconde intention afin de caractériser génétiquement les virus détectés par séquençage à des fins épidémiologiques et d'isoler les virus pour les conserver en souche.

Le virus de la HVC est recherché par PCR en temps réel, selon des méthodes internes ou décrite par Gilad *et al.*, 2004. Cette dernière méthode est mise en œuvre par deux des sept laboratoires du réseau et par le LNR.

Un processus de validation de la méthode de RT-qPCR vAIS recommandée par le LRUE (Snow *et al.*, 2006) a été mené au LNR selon la norme NF U47-600 « Méthode d'analyse en santé animale – PCR ». Les répétabilité, fidélité intermédiaire, efficacité de la méthode ont été éprouvées. Un panel de 29 échantillons positifs de terrain, gracieusement fournis par le Norwegian Veterinary Institute (As, Norvège) a permis d'évaluer la spécificité de la méthode. Une sensibilité de la méthode équivalente à la méthode de PCR conventionnelle précédemment en place au LNR (Primers 6HPRf / 6HPRr, WHOA Reference lab. (OIE 2014) a également été observée.

Enfin, la recherche de virus non réglementés ou émergents est réalisée par le LNR en inoculant diverses lignées cellulaires de poissons et / ou en utilisant des méthodes de détection des acides nucléiques, spécifiques et non-spécifiques (NGS) à partir des surnageants de culture ou directement sur les extraits de tissus.

## Résultats

Sur les années 2022 et 2023 respectivement, 1896 et 1856 analyses ciblant les deux virus réglementés vSHV et vNHI (analyses réalisées dans le cadre du PNES) ainsi que 19 et 22 analyses ciblant le HVC ont été réalisées par les laboratoires du réseau. Quatre des sept laboratoires ont abandonné la culture cellulaire au profit des méthodes de biologie moléculaire (Figure 1).

### Surveillance de la SHV

Sur la période 2022-2023, seul un foyer a été reporté, en 2023, dans l'Est de la France. Le virus a été détecté par un laboratoire agréé sur des Truites Arc-en-Ciel (TACs) lors d'analyses réalisées dans le cadre du programme de qualification sur un élevage du Bas-Rhin. La détection par RTqPCR du virus était tardive et, au vu de la faible charge en particules virales, le virus n'a pu être isolé sur lignées cellulaires sensibles et seul un fragment du gène de la glycoprotéine d'enveloppe G a pu être séquencé (325 paires de bases). La séquence obtenue, comparée aux séquences disponibles dans les banques de données internationales ainsi qu'à la banque de données interne au LNR, a présenté une identité nucléotidique de 99,4 % (soit 2 mutations ponctuelles ou Single-Nucleotide Polymorphisms SNPs / 325 nt) avec des souches suisses et allemandes, et 99,1 % (3 SNPs) avec des isolats de l'Est de la France séquencés en 2013 et 2014.

### Surveillance de la NHI

Deux foyers de NHI ont été mis en évidence en France sur l'année 2022, l'un dans le département du Nord, l'autre dans les Alpes-Maritimes.

Le premier foyer faisait suite à la détection préalable de ce virus en fin d'année 2020. Le foyer n'avait pas été confirmé à l'époque et aucune mesure sanitaire n'avait été mise en place. Des prises de sang réalisées en février 2022 avaient permis de mettre en évidence des taux de séropositivité de 10 et 23 % sur deux populations de truites arc-en-ciel dans l'élevage touché, sachant qu'on estime significatif une positivité supérieure à 5 % dans une population de poissons. La présence de taux non négligeables d'individus séropositifs avait conduit le propriétaire à demander des analyses en virologie le mois suivant. Les lots analysés en virologie cellulaire et moléculaire par un laboratoire agréé s'étaient avérés négatifs en vNHI. Le virus a ensuite été détecté sur site au mois d'août, suite à l'apparition de signes cliniques évocateurs. Le génome du vNHI a été séquencé partiellement (gène de la glycoprotéine d'enveloppe G, séquence de 693 paires de bases), et cette séquence comparée aux banques de données internationales (Genbank) et interne. Le virus mis en évidence présentait 99,3 % d'identité nucléotidique avec le virus détecté dans cette même pisciculture en décembre 2020 (cinq différences / 693 nucléotides).

Le second foyer a été détecté dans un élevage nouvellement suivi. Le séquençage des isolats a permis d'identifier plus précisément les souches détectées, sans pour autant mettre en évidence d'identité nucléotidique forte avec d'autres isolats terrains répertoriés sur le territoire français (Figure 2). Ces résultats seraient plutôt en faveur d'une persistance du virus dans un réservoir et d'une résurgence à l'occasion de modification de divers paramètres environnementaux ou zootechniques.

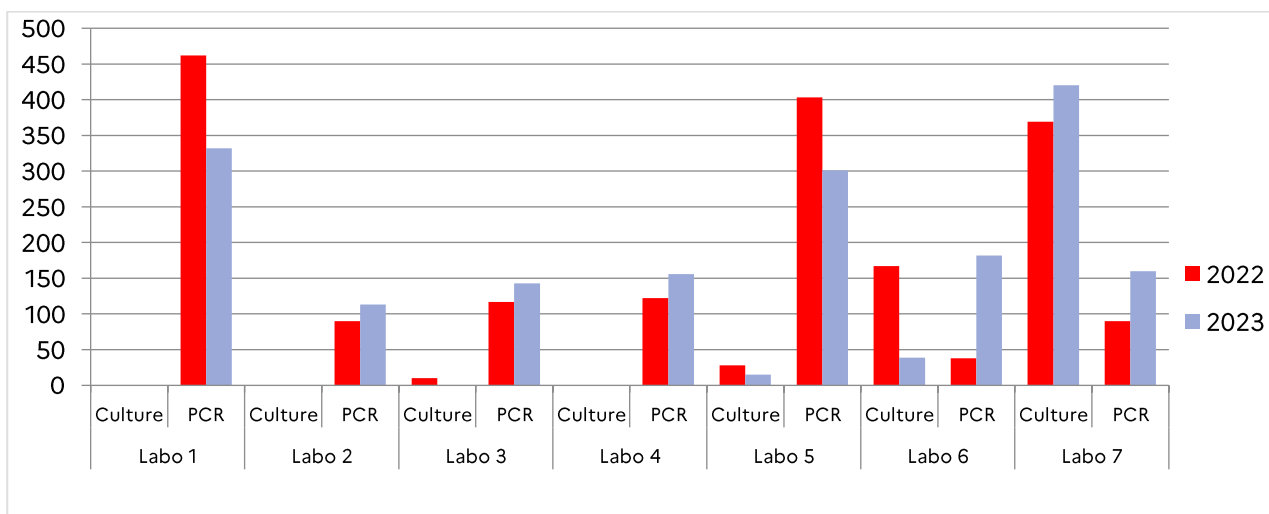
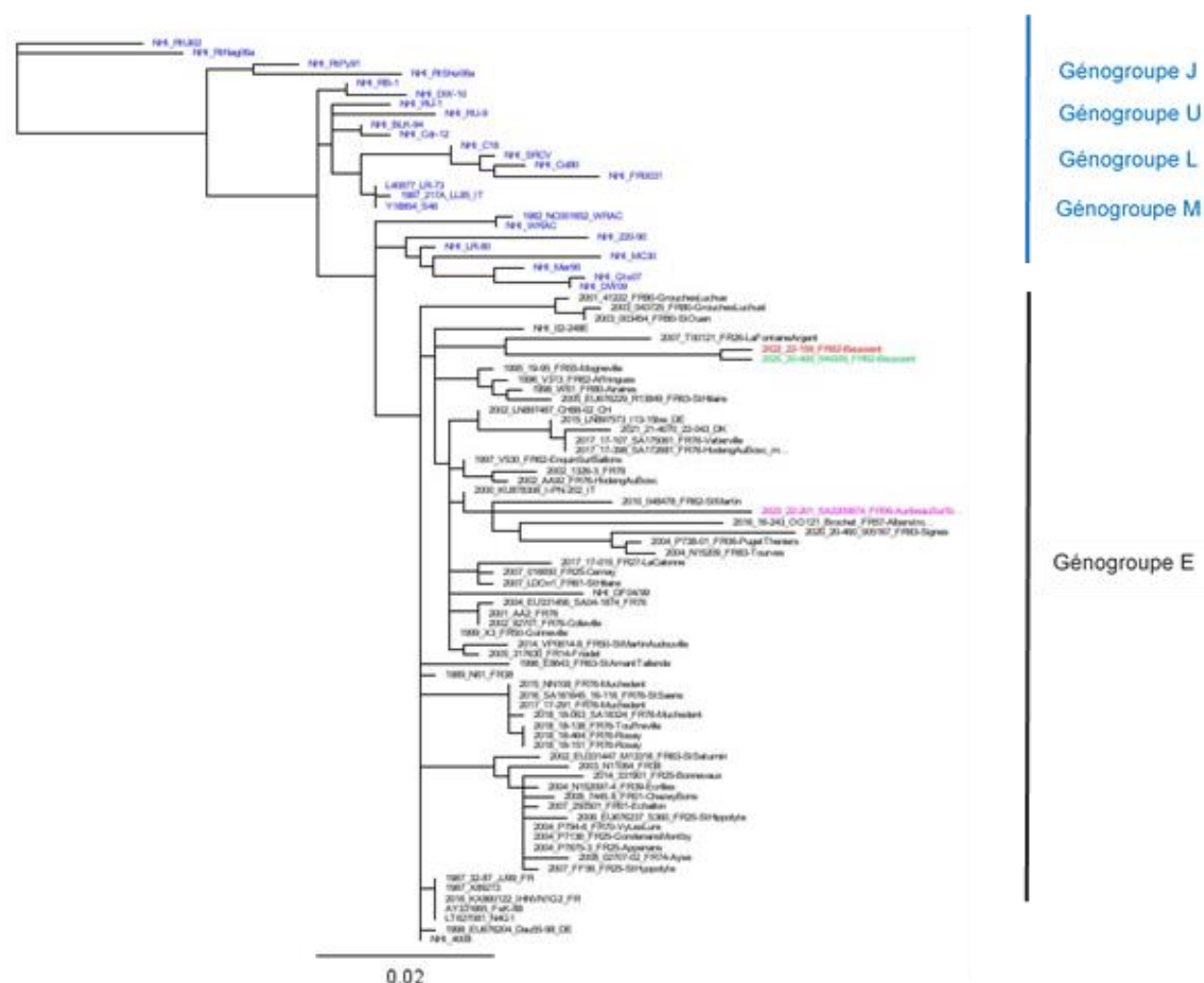


Figure 1. Répartition du nombre d'analyses ciblant les virus réglementés vSHV et vNHI réalisées par les sept laboratoires agréés (méthodes de culture cellulaire ou méthodes PCR) sur les années 2022 et 2023.



**Figure 2.** Analyse phylogénétique en PhyML, (logiciel Geneious) réalisée après séquençage d'une partie du gène G (693 nt) (Emmenegger *et al.* 2000). Comparaison avec des souches de référence de la littérature (en bleu) et des isolats français ou européen (en noir). L'isolat des Alpes Maritimes est représenté en fuchsia et celui du Nord en rouge ; en vert, la séquence du virus détecté dans le même site en 2020

À noter que plusieurs foyers de NHI ont été reportés en 2023 en Belgique. Les enquêtes épidémiologiques ont pu mettre en évidence des liens commerciaux avec plusieurs élevages français, sans pour autant que du virus ne soit détecté en France métropolitaine.

### Surveillance de l'HVC

Un seul foyer de HVC a été reporté en 2023 (analyse de première intention réalisée par un des laboratoires du réseau). L'échantillon positif a été génotypé par le LNR comme présentant un profil U/I (USA / Israël). Il s'agit en règle générale de cas de mortalité observés suite à l'introduction de poissons infectés inapparent dans un milieu aquatique contenant une population de carpes naïves. À noter que le LNR a participé à la rédaction du nouveau manuel de diagnostic pour l'HVC mis

en ligne sur le site du LRUE<sup>1</sup>. Des précisions sur l'échantillonnage ont été apportées, en distinguant les situations de surveillance (pas de pool autorisé) du diagnostic dans le cadre d'une suspicion (pools autorisés jusqu'à cinq individus).

### Surveillance de l'AIS

Entre 2022 et 2023, les quatre demandes d'analyses ciblant le vAIS sur saumons sauvages ou d'élevage réalisées dans le cadre de la surveillance événementielle se sont révélées négatives (méthode RT-PCR conventionnelle). Concernant la validation de la méthode de détection par PCR temps réel adaptée de l'article de Snow *et al.*, 2006, les critères de performance technique exigés ont été atteints, avec notamment une sensibilité comparable à la RT-PCR conventionnelle. Cette méthode est donc validée dans le cadre du

<sup>1</sup> <https://www.eur-fish-crustacean.eu/-/media/sites/eur-fish-crustacean/fish/diagnostic-manuals/khv/khv-diagnostic-manual-2024.pdf>

diagnostic moléculaire au sein du LNR et opérationnelle. Après publication sur le site de l'Anses (méthode Anses/PPN/MA/8), cette méthode sera transférable aux laboratoires du réseau à leur demande. Pour l'instant, l'administration n'a pas évoqué la possibilité d'une ouverture d'un réseau et d'un agrément pour ce virus.

### Tendances

Globalement, le nombre de foyers de SHV, NHI et HVC reste stable dans le temps (Figure 3), et ce malgré l'augmentation significative du nombre d'établissements entrant dans le PNES (Instruction technique DGAL/SDSPA/2019-665 19/09/2019) afin d'acquiescer le statut indemne en SHV / NHI. Ces résultats reflètent le bon niveau sanitaire des poissons d'élevage en France métropolitaine. La vigilance reste cependant de mise car le classement en catégorie C+D+E n'oblige pas les Etats-Membres à mettre en œuvre une surveillance active. L'acquisition du statut indemne pour tout le territoire français sécuriserait et faciliterait les échanges commerciaux.

### Circulation des virus non réglementés et émergents en France et en Europe

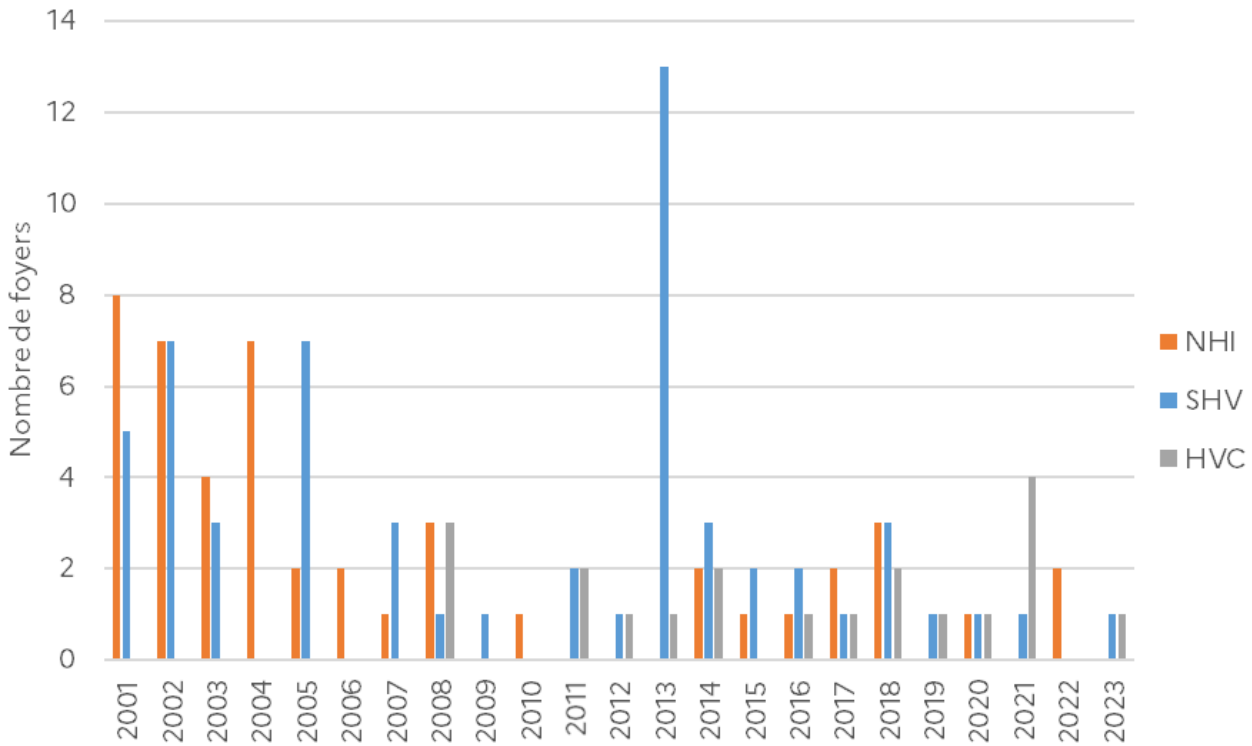
En complément des virus responsables de maladies réglementées, le LNR et son réseau de laboratoires ont détecté divers autres virus sur la période 2022 - 2023.

Un pathogène émergent, le piscine réovirus (PRV), est devenu ces dernières années un sujet d'inquiétude pour les éleveurs de truites et de saumons (Bigarré et al., 2018). Ce virus est responsable du syndrome HSMI (Heart and Skeletal Muscle Inflammation). La présence de ce virus ne semble pas systématiquement associée à des phénomènes de fortes mortalités mais sa prévalence reste préoccupante pour les éleveurs, le portage même asymptomatique de ce virus pouvant entraîner une altération de l'état sanitaire global des poissons atteints. Au cours des années 2022-2023, un site d'élevage de saumon Atlantique (*Salmo salar*), un prélèvement réalisé sur saumon sauvage, et une quinzaine de sites de truites Arc-En-Ciel se sont avérés positifs en PRV de génotype 1 ou 3 respectivement.

Des mortalités particulièrement élevées d'esturgeon (> 50 % d'un stade d'élevage) sont survenues dans un élevage de Nouvelle Aquitaine suite à des épisodes chroniques de mimivirose causés par le mimivirus Européen d'esturgeon, un virus avec un génome géant particulièrement complexe. D'autres élevages sont affectés par cette maladie mais avec des impacts *a priori* plus faibles, même si non chiffrés. Si les conditions d'élevage sont identifiées comme un facteur important de la

sévérité de la maladie, la diversité génétique du virus est suspectée comme un second facteur. Les analyses génétiques ont montré la présence de plusieurs variants en co-infection dans les animaux. Ces variants sont retrouvés également dans l'environnement, l'eau et les biofilms par exemple. Néanmoins, la complexité du modèle biologique reste un obstacle à la compréhension des facteurs de virulence de ce virus et des rôles de ces variants dans la pathologie. Afin de faciliter le diagnostic, des travaux de recherche sont engagés par le LNR, par exemple en réduisant à 30 min. le temps d'analyse par PCR, grâce à une nouvelle technologie, ainsi qu'en facilitant les conditions de prélèvement et d'extraction d'acides nucléiques.

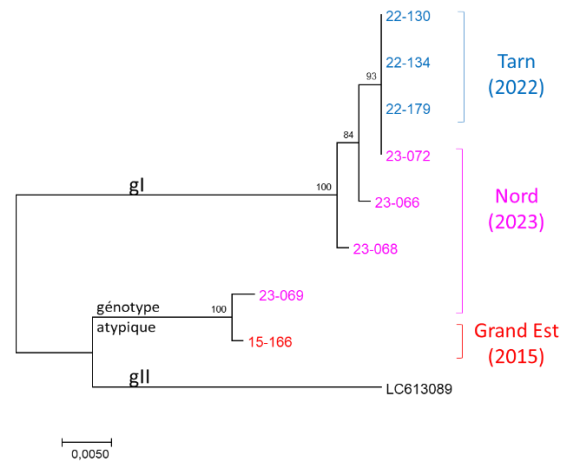
Concernant la filière étang, le *Carp Edema Virus* (CEV) est devenu un agent pathogène très prévalent affectant les carpes communes et koï. Il est responsable de la maladie du sommeil qui se caractérise par des états léthargiques, avec des poissons se couchant sur le flanc et pouvant reprendre, après *stimuli*, une activité transitoire. Des épisodes de très forte mortalité, pouvant aller jusqu'à 100 % d'une population, ont déjà été décrits (Abdelsalam et al., 2023). Un projet de recherche de 18 mois (janvier 2022 à juin 2023) porté par l'ITAVI et regroupant divers partenaires et prestataires (ITAVI, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Anses, LDA34, LPL et LDA39) a permis de réaliser un premier état des lieux de la maladie et d'apporter des informations concernant sa répartition sur le territoire et la diversité génétique des souches virales (projet CEVIRAL financé par le FEAMP). Les laboratoires agréés ont eu pour mission de réaliser les analyses de première intention par PCR en temps réel (Matras et al., 2016). Les échantillons positifs en CEV ont ensuite été caractérisés génétiquement au LNR (Baud et al., 2021). Au total, 96 échantillons positifs en CEV ont été analysés, issus de carpes communes ou de koï, provenant de 37 départements français, ou directement de koï importées du Japon et d'Israël. Les résultats de séquençage d'une partie du gène P4A de ces échantillons ont confirmé les spécificités respectives du génogroupe I et du génogroupe II vis-à-vis des carpes communes et des koï, sans passage prouvé de la barrière d'hôte. Outre les multiples foyers recensés sur tout le territoire, deux épizooties remarquables, localisées dans deux régions distinctes, ont pu être investiguées. Pour la première, il a été mis en évidence des liens épidémiologiques forts entre quatre épisodes de mortalités de carpes communes survenus successivement dans quatre sites naturels du Tarn, pourtant sans connexion hydrique (Flores et al., 2023).



**Figure 3.** Évolution du nombre de foyers de SHV, NHI, et HVC identifiés en France de 2001 à 2023

Pour la deuxième épizootie qui s'est produite dans le Nord de la France au printemps 2023 (décembre 2022 à avril 2023) et qui a touché des carpes communes, aucune connexion hydrique entre les étangs ne pouvait expliquer la dissémination passive du virus. Cependant, l'enquête épidémiologique a mis en évidence des introductions systématiques de poissons antérieurement aux mortalités (cyprinidés et / ou gardons), ce qui pourrait expliquer l'introduction du CEV dans ces étangs. Par ailleurs, le génotypage des échantillons récoltés lors des épisodes de mortalité a fait apparaître des différences génétiques notables entre les multiples séquences virales obtenues sur les quatre sites. Il a été trouvé entre 93,8 et 99,7 % d'homologie entre les séquences virales. À l'inverse de l'épizootie du Tarn, plusieurs souches virales sont donc liées aux mortalités dans le Nord, ce qui pourrait s'expliquer par la multiplicité des fournisseurs de poisson (**Figure 4**). Étonnamment, l'une des souches du Nord présente un profil tout à fait « atypique », très similaire à celui d'un échantillon datant de 2015 et identifié alors sur un site du Grand Est (Baud *et al.*, 2021). Le fait de retrouver cette séquence huit ans après sa détection initiale prouve que ce virus atypique circule encore en France de manière très discrète. Ce virus est d'autant plus intéressant qu'il semble dérivé d'un CEV du gII ayant subi une recombinaison génétique et qu'il est capable de provoquer une mortalité sur la carpe commune ce qui est exceptionnel pour un variant du gII le mode d'évolution de ce poxvirus. Dans le cadre du

programme de repeuplement de l'anguille, des civelles, récoltées dans divers estuaires des côtes françaises sont stockées le temps d'évaluer le statut sanitaire des individus pêchés avant d'être relâchées dans des cours d'eau à la topologie compatible avec le cycle de vie de l'anguille.



**Figure 4.** Arbre phylogénétique des séquences de CEV issus de foyers du Tarn et du Nord. Les séquences de P4a du Nord sont en fuchsia, celles du Tarn en bleu (années de collecte indiquées). La séquence d'un échantillon atypique de 2015 apparaît en rouge, et une séquence de référence représentant un virus du génogroupe II est représentée en noir (origine, Koï du Japon). Arbre créé avec MEGA7 (maximum de vraisemblance, 1000 répliquats). L'échelle indique le nombre de substitutions par site nucléotidique.

Une poursuite de ces travaux est indispensable pour mieux caractériser l'épidémiologie de la maladie et l'état de santé global des anguilles sauvages à différents stades de développement (civelle, anguille argentée, anguille dorée) peut être lié au taux d'infection à des virus pathogènes, parmi lesquels l'EVEX (rhabdovirus de l'anguille), l'herpès virus de l'anguille AngHV-1, ou encore le Picornavirus EPV-1. Les anguilles infectées par ces virus peuvent présenter des signes d'hémorragie, d'anémie, et meurent généralement précocement, altérant ainsi la capacité migratoire des individus touchés. En France, le LNR est amené à rechercher le virus de l'EVEX sur pools de civelles, une recherche réalisée par inoculation sur les lignées cellulaires EPC et EK-1 (eel kidney – 1). Afin de limiter les temps de stabulation (conditions de densité très élevée, propices à la propagation d'agents infectieux) chez les mareyeurs entre le moment de la pêche et le déversement dans les cours d'eau français, les laboratoires en charge des analyses sanitaires sur civelles sont depuis quelques années sollicités pour délivrer des rapports plus rapidement après réception des échantillons. Les méthodes basées sur l'isolement sur cellules nécessitant un temps incompréhensible de deux semaines pour rendre un résultat négatif, des méthodes de biologie moléculaire pourraient être développées / validées afin de réduire ce temps. Des homologues allemands ont, depuis peu, validé et mis en œuvre des méthodes de RT-qPCR (Danne et al., 2022a) ciblant les virus EVEX et AngHV-1, permettant d'augmenter la sensibilité de la méthode et de réduire le temps d'analyse. En parallèle du virus EVEX retrouvé au stade civelle, l'AngHV-1 est régulièrement détecté sur anguilles (Danne et al., 2022b) et peut également être responsable d'infections chroniques et de taux de mortalité élevés. Peu de données chiffrées sont disponibles quant à la distribution des virus d'anguilles dans les cours d'eau allemands mais une étude a par exemple mis en évidence un taux d'infection au AngHV-1 de 68 % des anguilles de la rivière Schlei en Allemagne après introduction d'anguilles de statut sanitaire non contrôlé (Kullmann et al., 2017). Le moment auquel sont infectés les individus reste inconnu, mais les conditions de stockage à forte densité contribuent certainement, via un environnement stressant, à augmenter les taux d'infection. L'étude des facteurs de risques associés à cette étape des programmes de repeuplement visant à limiter le déclin de la population d'anguilles en Europe permettra dans le futur d'améliorer le volet sanitaire de ces projets.

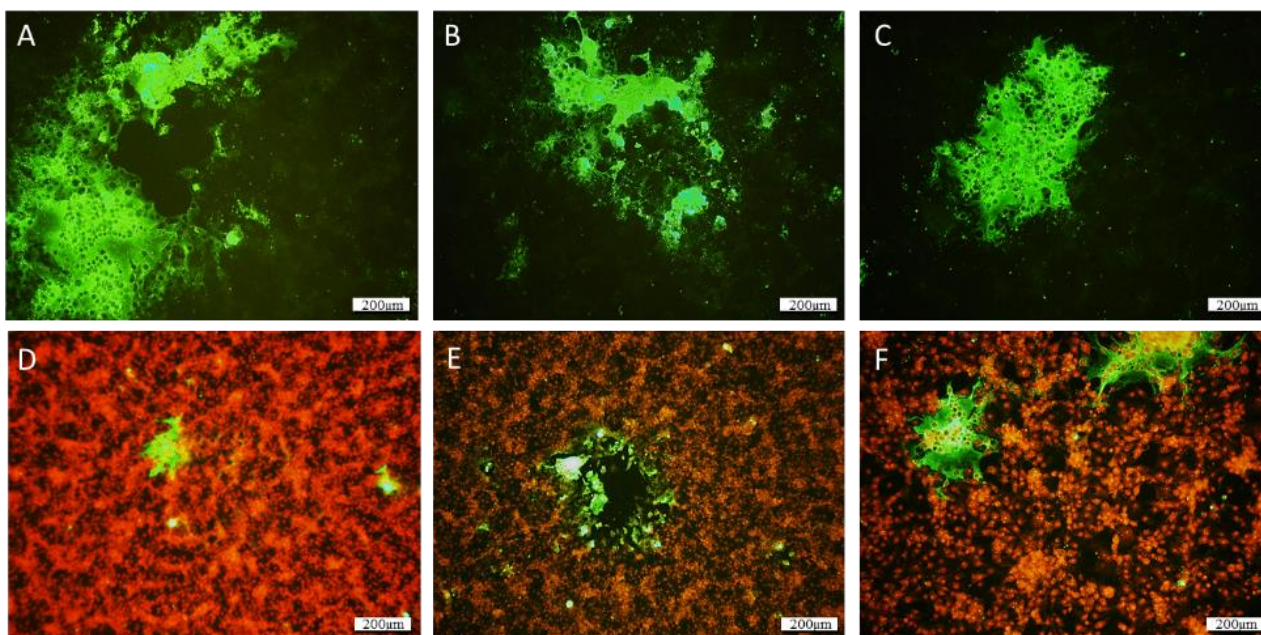
Bien que les méthodes moléculaires, généralement plus sensibles et spécifiques, soient de plus en plus plébiscitées dans le cadre du diagnostic en virologie

des poissons, les méthodes basées sur la culture cellulaire, permettant une approche sans *a priori*, restent essentielles et sont régulièrement à l'origine de l'identification et de la caractérisation de nouveaux virus piscicoles. Ainsi, récemment, un élevage de bars en Méditerranée a dû faire face à une augmentation anormale de la mortalité sur des stades précoces du développement larvaires (entre 20 et 35 jours post-éclosion). Après inoculation d'homogénat de larves sur cellules, un effet cytopathique (ECP) a pu être observé sur trois lignées cellulaires après trois semaines de culture à 14°C, suggérant la présence d'un agent viral, confirmée par une réaction d'immunofluorescence (Figure 5). Le séquençage à haut débit (NGS, Next Generation Sequencing) a révélé un génome d'ARN de 6818 nucléotides de long contenant six cadres de lecture ouverts ORFs (Open Reading Frame), correspondant à l'organisation génomique des virus appartenant à la famille *Totiviridae*. Ce génome semble proche du genre *Pistolvirus*, tout récemment décrit et suggéré, partageant 45,5 % à 37,2 % d'identité nucléotidique avec d'autres toti-like virus de poissons tels que le *Cyclopterus lumpus* toti-like virus (CLuTLV) ou le piscine *myocarditis virus* (PMCV), respectivement. Nous avons proposé de nommer ce nouveau virus sea bass toti-like virus (SBTLV). Un système de RT-PCR temps réel a été développé et a confirmé la présence du génome viral dans des broyats de larves de différents lots de production et dans les surnageants de culture correspondants. Des études complémentaires devront être menées afin de comprendre l'implication exacte de ce virus dans le phénomène de mortalité observé dans l'élevage touché et l'existence potentielle de cofacteurs associés.

## Discussion - Conclusion

Le faible nombre de foyers de SHV et de NHI rapportés sur la période 2022-2023 reflète un état sanitaire très satisfaisant des cours d'eau français. Les quelques investigations menées sur les foyers détectés tendent plutôt à démontrer des résurgences de virus qui se maintiendraient à bas bruit dans un environnement précis et qui, au gré de phénomènes environnementaux défavorables pour leur hôte, parviendraient à l'infecter avec des signes cliniques associés. Aucune enquête épidémiologique n'a pu aboutir à des contaminations de sites en sites par manquement des règles de biosécurité inhérentes à l'élevage piscicole à forte densité, un signal plutôt positif pour la filière.

En parallèle, les virus non-réglementés et les émergents représentent néanmoins un sujet de préoccupation et doivent continuer à faire l'objet d'investigations et d'analyses.



**Figure 5** : réaction d'immunofluorescence sur culture cellulaire présentant un ECP en utilisant un anticorps commercial J2, ciblant les structures d'ARN double-brins, signatures de la présence de particules virales. Les cellules infectées sont caractérisées par la présence de fluorescence verte dans le cytoplasme. De large syncytia sont facilement repérables par la fusion de nombreuses cellules qui forment alors des cellules géantes plurinucléées. (A–C) sans contre-coloration. (D–F) les noyaux ont subi une contre coloration à l'iodure de propidium. Barre d'échelle : 200µm

## Remerciements

Nous tenons à remercier les vétérinaires aquacoles de terrain, les laboratoires agréés du réseau, en charge des analyses de première intention, qui transmettent les échantillons positifs au LNR pour caractérisation et conservation en souchothèque. Ainsi que les différents partenaires du projet CEVIRAL.

## Références bibliographiques

Abdelsalam E. E. E. & Piačková V. 2023. "Carp edema virus: host selection and interaction, and potential factors affecting its introduction to the common carp population, distribution, and survival." *Aquaculture*, 563, 739009.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739009>.

Baud M., Pallandre L., Almeras F., Maillet L., Stone D., and Bigarré L. 2021. "Genetic diversity of the carp oedema virus in France." *J Fish Dis.* doi: 10.1111/jfd.13474.

Bigarré L., Boitard P. M., Labrut S., and Jamin M. 2018. "Point sur la situation épidémiologique du syndrome HSMI chez les salmonidés en France." *Bulletin Epidémiologique, Santé Animale et Alimentation*, n°85 (1) - Juillet 2018.

Danne L., Adamek M., Wonnemann H., Pieper T., Fey D., Hellmann J. 2022. "Identification of virus infections of European eels intended for stocking

measures." *J Fish Dis.* 45(9):1259-1266. doi: 10.1111/jfd.13658. Epub 2022 Jun 1. PMID: 35648620.

Danne L., Horn L., Feldhaus A., Fey D., Emde S., Schütze H., Adamek M., Hellmann J. 2022. "Virus infections of the European Eel in North Rhine Westphalian rivers." *J Fish Dis.* 45(1):69-76. doi: 10.1111/jfd.13536. Epub 2021 Sep 28. PMID: 34585388.

Règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil du 9 mars 2016 relatif aux maladies animales transmissibles et modifiant et abrogeant certains actes dans le domaine de la santé animale (« législation sur la santé animale »)

Emmenegger E. J., Meyers T. R., Burton T. O. and Kurath G. 2000. "Genetic diversity and epidemiology of infectious hematopoietic necrosis virus in Alaska." *Dis Aquat Organ* 40(3): 163-176.

Flores D., Baud M., Pallandre L., Lautraite A., Thomas R., Pozet F., Keck N., Guillermand M-O., Laithier J., Tocqueville A., Prouff B., Le Bouquin-Leneveu S., Bigarré L. 2023. « Premiers foyers de la maladie du sommeil de la carpe dans le Tarn ». *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* n° 98 (1) :1-4.

Gilad O, Yun S, Zagmutt-Vergara FJ, Leutenegger CM, Bercovier H, Hedrick RP. 2004 "Concentrations of a Koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally infected *Cyprinus carpio* koi as assessed by real-time TaqMan PCR." *Dis Aquat Organ.* 2004 Sep 8;60(3):179-87. doi: 10.3354/dao060179. PMID: 15521316.



Instruction technique DGAL/SDSPA/2019-665 19/09/2019. Programme national de prévention, d'éradication et de surveillance (PNES) de la septicémie hémorragique virale (SHV) et la nécrose hématopoïétique infectieuse (NHI).

Kullmann B., Adamek M., Steinhagen D. & Thiel R. 2017. "Anthropogenic spreading of anguillid herpesvirus 1 by stocking of infected farmed European eels, *Anguilla anguilla* (L.), in the Schlei fjord in northern Germany." *Journal of Fish Diseases*. 40, 1695–1706.

<https://doi.org/10.1111/jfd.12637>

Louboutin L., Cabon J., Beven V., Hirchaud E., Blanchard Y., Morin T. 2023. "Characterization of a New Toti-like Virus in Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*." *Viruses*. 15(12):2423. doi:

10.3390/v15122423. PMID: 38140664; PMCID: PMC10748352.

Matras M, Borzym E, Stone D, Way K, Stachnik M, Maj-Paluch J, Palusińska M, Reichert M. 2017. "Carp edema virus in Polish aquaculture - evidence of significant sequence divergence and a new lineage in common carp *Cyprinus carpio* (L.)." *J Fish Dis*. Mar;40(3):319-325. doi: 10.1111/jfd.12518. Epub 2016 Jul 25. PMID: 27453481.

Snow M., McKay P., McBeath, A. J., Black J., Doig F., Kerr R., Cunningham C. O., Nylund A. and Devold M. 2006. "Development, application and validation of a Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*)." *Dev Biol (Basel)* 126: 133-145; discussion 325-136.

### Encadré 1. Surveillance et police sanitaire des maladies réglementées

#### Objectif de la surveillance

- Détecter précocement tout foyer de maladie réglementée.
- Sécuriser les échanges commerciaux en protégeant les élevages déjà indemnes ou engagés dans un programme d'éradication.

#### Population surveillée

Poissons d'aquaculture.

#### Champ de surveillance

Tout établissement détenteur d'espèces piscicoles sensibles aux virus de la SHV ou de la NHI (liste disponible sur <https://agriculture.gouv.fr/liste-des-etablissements-agrees-dans-le-domaine-de-laquaculture>).

#### Modalités de la surveillance

La surveillance repose sur trois acteurs : l'éleveur lui-même, son vétérinaire sanitaire et les inspecteurs en DDecPP.

L'éleveur est tenu de surveiller l'état de santé de ses animaux et de déclarer à son vétérinaire sanitaire tout événement sanitaire (hausse de mortalité inexplicable, signes cliniques évocateurs de maladies réglementées ou émergentes). C'est la surveillance événementielle.

La réglementation européenne prévoit une surveillance basée sur le risque et impose qu'une visite réalisée par le vétérinaire sanitaire de l'exploitation et qu'une inspection réalisée par l'autorité compétente soient menées à un rythme basé sur une analyse de risque. Ce rythme varie entre une fois par an en risque élevé et une fois tous les trois ans en risque faible. C'est l'autorité compétente qui évalue le risque posé par l'établissement. Il s'agit donc d'une surveillance

programmée qui peut être complétée dans les établissements qui suivent un programme d'éradication ou de maintien de statut indemne par la réalisation de prélèvements pour démontrer l'absence de SHV et de NHI.

En cas de détection de hausse de mortalité ou de signes cliniques évocateurs de maladies réglementées en cours de visite vétérinaire ou d'inspection, des prélèvements peuvent être réalisés par le vétérinaire ou l'inspecteur. C'est la surveillance ciblée.

Les prélèvements sont réalisés selon des plans d'échantillonnage définis réglementairement et sont envoyés en 1<sup>ère</sup> intention vers un des sept laboratoires agréés pour les maladies des poissons. En cas de besoin, l'expertise du Laboratoire National de Référence (Anses, site de Plouzané) peut être sollicitée.

Actuellement de très nombreux territoires ont fait reconnaître un statut sanitaire particulier qu'il s'agisse d'un programme d'éradication ou d'un statut indemne de SHV et de NHI.

La liste des zones et compartiments aquacoles mettant en œuvre un programme ou qualifiés indemnes de SHV, NHI et HVC est consultable sur le site internet du MAAF à l'adresse suivante : <http://agriculture.gouv.fr/maladies-des-animaux-aquatiques>.

#### Suivi génétique

Toutes les souches de virus SHV et NHI isolées en France sont collectées par le LNR qui réalise systématiquement le séquençage du gène codant la glycoprotéine d'enveloppe. La comparaison des séquences générées, au travers du calcul des similitudes et du positionnement phylogénétique, apporte des éléments d'intérêt dans le cadre des enquêtes épidémiologiques menées.

**Police sanitaire**

La suspicion peut être clinique ou analytique. Elle donne lieu à une séquestration de l'établissement conformément au règlement délégué (UE) 2020/689.

En cas de confirmation, l'élevage est reconnu infecté. Il est vidé de ses poissons, nettoyé et désinfecté et subi un vide sanitaire de six semaines avant repeuplement. L'environnement hydrographique est pris en compte lors de l'enquête épidémiologique.

**Référence(s) réglementaire(s)**

Lien vers le site UE listant l'ensemble des textes, dont les règlements ci-dessous.  
[https://food.ec.europa.eu/animals/animal-diseases\\_en](https://food.ec.europa.eu/animals/animal-diseases_en)

Règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil du 9 mars 2016 relatif aux maladies animales transmissibles et modifiant et abrogeant certains actes dans le domaine de la santé animale (« législation sur la santé animale »)

Règlement d'exécution (UE) 2018/1882 de la commission du 3 décembre 2018 sur l'application de certaines dispositions en matière de prévention et de lutte contre les maladies à des catégories de maladies répertoriées et établissant une liste des espèces et des groupes d'espèces qui présentent un risque considérable du point de vue de la propagation de ces maladies répertoriées

Règlement délégué (UE) 2020/687 de la commission du 17 décembre 2019 complétant le règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil en ce qui concerne les règles relatives à la prévention de certaines maladies répertoriées et à la lutte contre celles-ci

Règlement délégué (UE) 2020/689 de la commission du 17 décembre 2019 complétant le règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil en ce qui concerne les règles applicables à la surveillance, aux programmes d'éradication et au statut « indemne » de certaines maladies répertoriées et émergentes

Règlement d'exécution (UE) 2020/690 de la commission du 17 décembre 2019 portant modalités d'application du règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil en ce qui concerne les maladies répertoriées faisant l'objet de programmes de surveillance au sein de l'union, la portée géographique de ces programmes et les maladies répertoriées pour lesquelles des compartiments disposant d'un statut « indemne de maladie » peuvent être créés

Règlement d'exécution (UE) 2021/620 de la commission du 15 avril 2021 établissant les modalités d'application du règlement (UE) 2016/429 du parlement européen et du conseil en ce qui concerne l'approbation du statut « indemne de maladie » et du statut de non- vaccination de certains états membres ou de zones ou compartiments de ceux-ci au regard de certaines maladies répertoriées et l'approbation des programmes d'éradication de ces maladies répertoriées

Arrêté du 4 novembre 2008 relatif aux conditions de police sanitaire applicables aux animaux et aux produits d'aquaculture et relatif à la prévention de certaines maladies chez les animaux aquatiques et aux mesures de lutte contre ces maladies

Arrêté du 27 juin 2018 relatif à la préparation et à la mise en œuvre d'un programme national d'éradication et de surveillance de la septicémie hémorragique virale et la nécrose hématopoïétique infectieuse

**Pour citer cet article :**

Baud M., Pallandre L, Cabon J., Gripon P., Flores D., Talbodec A., Thomas R., Le Bouquin S., Bigarré L., Morin T., Guerry I., Lefebvre G., Louboutin L. « Surveillance des dangers sanitaires pour les poissons d'élevage et état des lieux de la détection de virus émergents sur les années 2022-2023 ». Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 103 (9) :1-10.

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est une publication conjointe de la Direction générale de l'alimentation et de l'Anses.

**Directeur de publication :** Benoît Vallet  
**Directeur associé :** Maud Faipoux  
**Directrice de rédaction :** Emilie Gay  
**Rédacteur en chef :** Julien Cauchard  
**Rédacteurs adjoints :** Jean- Philippe Amat, Diane Cuzzucoli, Céline Dupuy, Viviane Hénaux, Renaud Lailler

**Comité de rédaction :** Martine Denis, Benoit Durand, Françoise Gauchard, Guillaume Gerbier, Pauline Kooh, Marion Laurent, Sophie Le Bouquin Leneveu, Céline Richomme, Jackie Tapprest, Sylvain Traynard  
**Secrétaire de rédaction :** Virginie Eymard  
**Responsable d'édition :** Fabrice Coutureau Vicaire  
**Assistante d'édition :** Flore Mathurin

**Anses - www.anses.fr**  
14 rue Pierre et Marie Curie  
94701 Maisons-Alfort Cedex

**Courriel :** bulletin.epidemiolo@anses.fr

**Sous dépôt légal :** CC BY-NC-ND  
**ISSN :** 1769-7166