

ETUDE SURVRECI : MAÎTRISER LES RÉCIDIVES DE VHD DANS LES ÉLEVAGES CUNICOLES FRANÇAIS

Huneau-Salaün A.^{1*}, Ketavong S.¹, Chan P.¹, Thomas R.¹, Dusseux J.¹, Poulain G.¹, Guillou-Cloarec C.¹, Chastagner A.², Gillet E.³, Le Gall-Reculé G.¹, Le Bouquin S.¹

¹ Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, BP 53, 22440 Ploufragan, France

² ITAVI, 41 rue de Beaucemaine, 22440 Ploufragan, France

³ CLIPP, Interprofession du lapin, 75009 Paris, France

* correspondant : adeline.huneau@anses.fr

Résumé - La situation épidémiologique des élevages cynicoles français vis-à-vis de la maladie hémorragique virale du lapin (VHD, ou Rabbit Haemorrhagic Disease, RHD) s'est améliorée considérablement depuis la mise en place du plan de lutte collective en 2018, avec une diminution de 70 % des foyers recensés entre 2018 et 2023. Cependant, deux tiers des foyers de VHD comptabilisés en 2023 sont survenus dans des élevages ayant déjà été atteints par la maladie, montrant la difficulté de maîtriser la VHD dans certaines exploitations. L'étude SURVRECI, associant l'Anses, l'ITAVI, le CLIPP et les groupements cynicoles, a été menée pour comprendre les foyers récurrents de VHD en élevage. Quatorze foyers de VHD survenus entre décembre 2021 et octobre 2023 dans des élevages ayant connu plusieurs épisodes de VHD ont été investigués. La présence de génome viral de RHDV2 a été détectée sur des écouvillons rectaux de femelles dans 4 élevages sur 14, montrant que des lapines vaccinées sans signe clinique peuvent tout de même excréter du virus. Ce résultat souligne la nécessité d'assurer une stricte application des mesures de biosécurité interne pour éviter la transmission de matériel potentiel infectieux entre les différents stades d'élevage ou secteurs de l'élevage. Des traces de génome viral ont également été retrouvées après décontamination sur des surfaces à l'intérieur des bâtiments cynicoles dans 5 élevages sur 14, montrant un nettoyage et une désinfection insuffisants. De même, le bac d'équarrissage et / ou le congélateur à cadavres étaient encore positifs vis-à-vis du génome viral après décontamination dans 7 élevages. Les mesures de prévention et de vaccination contre la VHD ont été comparées entre les 14 élevages en situation de récurrence et 8 élevages atteints de VHD avant 2018 mais demeurés indemnes depuis. Les analyses sérologiques pour la recherche d'anticorps anti-RHDV2 chez les femelles ont montré que dans 5 élevages, dont 2 atteints plusieurs fois par la maladie, une absence d'anticorps signant un niveau de protection insuffisant des lapines du pré-cheptel. Des améliorations semblent donc encore possibles dans les pratiques vaccinales et la sérologie apparaît comme un outil intéressant pour évaluer la qualité de la prise vaccinale. Le séquençage de virus RHDV2 isolés en élevage, en récurrence de VHD ou non, et dans la faune sauvage a montré qu'il n'existait pas de souche de RHDV2 spécifique aux élevages, et notamment ceux en récurrence. Chaque récurrence correspondrait à l'introduction d'un nouveau virus dans l'élevage. L'étude SURVRECI a ainsi montré que des progrès sont encore possibles, notamment dans la décontamination, pour prévenir le risque de récurrence de la maladie et qu'il est nécessaire, en plus de la biosécurité, de maintenir une vigilance particulière sur la vaccination des jeunes femelles contre la VHD dans tous les élevages.

Mots clé : épidémiologie / maladie hémorragique virale / lapin / décontamination / vaccination

Abstract – Recurrence of Rabbit haemorrhagic disease outbreaks in French rabbit farms.

A sharp decrease (-70%) in the number of RHD outbreaks in commercial rabbit farms has been observed in France since 2018. Nevertheless, two thirds of the outbreaks observed in 2023 occurred in farms that had been already infected during the last five years. Managing RHD outbreaks and preventing new outbreaks remains a challenge. Our study was carried out in 14 rabbit farms, with an historic of RHD, which faced a new outbreak of the disease. Detection of RHDV2 genome was observed in rectal swabs of rabbit does in 4 farms out of 14, showing that vaccinated females could excrete virus. Strict biosecurity measures have to be taken to prevent the spread of the virus from the contaminated areas to the non-contaminated ones in the farm. Detection of RHDV2 genome was also observed after cleaning and disinfection in surface swabs in 7 farms, mostly on carcass freezers and rendering containers. Improvements of the cleaning and disinfection protocol are still needed on those farms. Similarly, improvements of vaccination protocols for young does are also needed in 5 farms, where no antibodies against RHDV2 virus were detected by serological testing in young vaccinated females. Serological testing proved its interest as a monitoring tool to assess the quality of the vaccination. RHDV2 virus sequencing of viruses isolated from the recurrent outbreaks on farms and from outbreaks in wild rabbits showed that there was no virus strain specific to wild rabbits or to farmed rabbits.

Introduction

La maladie hémorragique virale du lapin (VHD, ou Rabbit Haemorrhagic Disease, RHD) est un problème sanitaire majeur pour la filière cunicole française depuis l'apparition d'un nouveau génotype de lagovirus, nommé RHDV2, en 2010 (Le Gall-Reculé et al., 2011). La mise en place d'un plan de lutte contre la maladie par la filière cunicole en 2018 a permis une forte amélioration de la situation sanitaire avec une diminution de 70 % des foyers recensés entre 2018 et 2023. Cependant, deux tiers des foyers de VHD comptabilisés en 2023 sont survenus dans des élevages ayant déjà été atteints par la maladie, montrant la difficulté de maîtriser de manière durable la VHD dans certaines exploitations. L'étude SURVRECI, associant l'Anses, l'ITAVI, le CLIPP et les groupements cunicoles, vise à réduire le nombre de récurrences de VHD en renforçant les mesures de gestion des foyers et en améliorant les connaissances sur l'épidémiologie de la maladie. Le présent article propose une synthèse des résultats issus d'une enquête épidémiologique de terrain dans les élevages en récurrence de VHD et de l'analyse phylogénétique des souches virales isolées dans ces élevages.

1. L'étude épidémiologique dans les élevages récidivistes

1.1. Méthodologie d'étude

L'étude épidémiologique s'est déroulée entre décembre 2021 et mai 2024. Elle se découpait en deux actions. La première reposait sur le suivi de la gestion de foyers de VHD dans des élevages ayant été atteints plusieurs fois par la maladie depuis 2018. Ces élevages, en situation de récurrence, étaient signalés par les vétérinaires et groupements cunicoles participant à l'étude lorsqu'un nouveau foyer de VHD s'y déclarait. Deux visites ont été réalisées pour récolter des informations sur les pratiques de biosécurité, la manifestation de la VHD et les mesures mises en place pour prévenir la maladie. La première visite, conduite dans les deux semaines suivant l'apparition de VHD, permettait de réaliser un bilan sérologique par le dosage des anticorps totaux contre le RHDV2 (réalisé selon une méthode adaptée du test ELISA de diagnostic sérologique du RHDV2 développé par le laboratoire de référence WOAHP pour la VHD, l'IZSLER, kit IZSLER Code 78751) afin d'évaluer la qualité de la prise vaccinale. Le bilan sérologique était réalisé sur 14 femelles (sept femelles en première mise-bas et sept femelles multipares), permettant de détecter une absence d'anticorps chez au moins 20% des animaux dans un troupeau de 100 lapines ou plus, avec un niveau de certitude de 95%. L'excrétion de virus était recherchée au moyen d'écouvillons rectaux pris sur ces femelles. Des prélèvements d'environnement par chiffonnage étaient aussi réalisés afin d'identifier les surfaces positives vis-à-vis du génome de RHDV2 (Huneau-Salaün et al., 2021). Les mêmes prélèvements étaient répétés lors de la seconde visite, après décontamination de l'élevage, pour évaluer la qualité du nettoyage et de la désinfection. La décontamination était réalisée selon le protocole décidé par l'éleveur et son encadrement technique. Elle comprenait une phase de nettoyage humide, avec détergence dans 9 élevages sur

14, suivi d'une (6 élevages) à deux désinfections (8 élevages) des bâtiments.

La recherche de génome viral sur les écouvillons rectaux et les prélèvements environnementaux était réalisée à l'aide d'une RT-PCR temps réel spécifique du RHDV2 (Le Gall-Reculé et al., 2017) à partir de 10 µL d'ARN totaux utilisés au pur et dilués au 1/10 dans de l'eau sans RNase pour chaque échantillon. Les ARN ont été préalablement extraits à partir de 200 µL de surnageant d'éluat de reprise de chiffonnette ou d'écouvillon à l'aide du kit NucleoMag Vet kit (Macherey-Nagel) dans un automate KingFisher Flex™ (Thermo Fisher Scientific).

La seconde action de l'étude épidémiologique reposait sur un dispositif cas-témoin comparant les pratiques de biosécurité et de gestion des foyers de VHD entre ces élevages en récurrence de VHD et des élevages n'ayant connu qu'un seul foyer avant 2018 et demeurés indemnes depuis (témoins). Dans les 8 élevages témoins, une visite a été réalisée comprenant le questionnaire de biosécurité et de prévention de la VHD, les prélèvements environnementaux et sur les femelles.

1.2. Elevages en situation de récurrence de VHD

Quatorze élevages en situation de récurrence de VHD ont été suivis. Ils étaient localisés dans les principaux bassins de production cunicole : le Grand-Ouest (8), les Hauts-de-France (4) et le Sud-Est (2). Ces élevages avaient connu deux à cinq épisodes de VHD entre 2016 et 2022. Lors des foyers suivis dans l'enquête, la VHD s'est manifestée en engraissement (14/14 foyers), sur des lapereaux âgés de 15 jours à plus de 70 jours. La mortalité a varié de 1 % à 30 %. Les femelles ont également été touchées dans trois élevages, ainsi que les petits sous la mère (3 élevages). Dans tous les foyers, les femelles étaient vaccinées contre la VHD et dans deux, les lapins d'engraissement avaient reçu une injection vaccinale à demi dose. Les schémas vaccinaux étaient spécifiques à chaque élevage et utilisaient l'un des deux vaccins commerciaux disponibles au moment de l'étude.

1.3. Efficacité de la décontamination

Dans les 14 foyers de VHD suivis, la présence de génome de virus RHDV2 était détectable avant décontamination essentiellement aux niveaux du bac d'équarrissage (11 élevages), du congélateur de stockage des cadavres (8 élevages) du sol de la salle d'engraissement (8 élevages) et du sas sanitaire (5 élevages) (Tableau 1). Après décontamination, aucune trace résiduelle de génome viral n'a été retrouvée dans quatre des quatorze élevages. Des prélèvements positifs vis-à-vis du génome de RHDV2 ont été retrouvés dans le bac d'équarrissage et le congélateur de stockage des cadavres insuffisamment décontaminés dans 7 élevages. Ce point critique dans la décontamination avait déjà été relevé dans une étude précédente, qui a montré que du génome viral pouvait être encore détecté sur le bac d'équarrissage plus de 6 mois après un foyer de VHD (Huneau-Salaün et al. 2021). Dans quatre élevages, du génome viral était détectable après décontamination sur des surfaces à l'intérieur des bâtiments d'élevage : système d'aération, salle d'engraissement et sas sanitaire. Il

s'agissait d'élevages avec des bâtiments anciens (antérieurs à 2000) présentant des surfaces difficilement nettoyables. Dans un élevage, seule une décontamination partielle de la salle d'engraissement avait été réalisée car des lapins vendus à un poids plus élevé étaient encore présents au moment du nettoyage et désinfection. Cette pratique et l'absence de vide sanitaire qui en découle pose question vis-à-vis du risque de maintien de la maladie dans l'élevage (cf. 2.1).

Tableau 1 : Détection de génome de RHDV2 dans des élevages atteints de VHD avant et après nettoyage et désinfection N&D (Nombre de prélèvements, 14 élevages)

	Avant N&D	Après N&D	Commentaires
Aération			
Non détecté	26	30	4 élevages contaminés avant N&D
Détecté	5	2	2 élevages contaminés après N&D
Sas sanitaire			
Non détecté	18	28	5 élevages contaminés avant N&D
Détecté	7	1	1 élevage contaminé après N&D
Salle engraissement			
Non détecté	11	22	8 élevages contaminés avant N&D
Détecté	9	2	2 élevages contaminés après N&D
Equarrissage			
Non détecté	2	16	11 élevages contaminés avant N&D
Détecté	19	8	7 élevages contaminés après N&D
Racleur / fosse			
Non détecté	8	15	6 élevages contaminés avant N&D
Détecté	6	2	2 élevages contaminés après N&D
Abords			
Non détecté	14	16	1 élevage contaminé avant N&D
Détecté	1	0	

1.4. Excrétion virale chez les femelles vaccinées

Aucune excrétion virale n'a été détectée chez les femelles testées dans neuf élevages en récurrence de VHD (1 élevage non prélevé). Dans quatre élevages, une excrétion virale a été détectée sur les femelles prélevées au moment du foyer de VHD (1^{ère} visite). Dans deux de ces élevages, les femelles bien que vaccinées avaient présenté des

signes cliniques lors du foyer de VHD. Dans les deux autres cas, les femelles excrétrices, vaccinées, n'avaient présenté aucun symptôme. Dans un de ces élevages, un suivi temporel a montré que l'excrétion était encore détectable trois semaines après la fin du foyer. La détection de génome viral sur les écouvillons rectaux ne signe pas nécessairement l'excrétion de virus infectieux (Calvete et al., 2021). Cependant, les observations dans ces deux foyers montrent que des femelles vaccinées et sans symptôme peuvent produire des fèces potentiellement infectantes sur plusieurs semaines, alors qu'elles sont hébergées dans une autre salle que les lapins malades. Un respect strict des barrières sanitaires est donc nécessaire entre les différents stades physiologiques de l'élevage pour éviter une circulation virale depuis les femelles en production vers les femelles de pré-cheptel ou les lapereaux en engraissement.

2. Etude comparative « cas-témoin »

2.1. Mesures de maîtrise de la VHD

L'étude comparative des pratiques de prévention et de maîtrise de la VHD a été menée sur les 14 élevages en récurrence de VHD et huit élevages dits « témoins ». Ces derniers ont tous connu un foyer de VHD entre 2016 et 2019, sans récurrence de la maladie. L'objectif initial de l'étude était d'intégrer au moins autant d'élevages témoins que d'élevages en récurrence. Il n'a pas été atteint du fait d'un manque de moyen humain pour le suivi des élevages témoins. Cependant, une comparaison, purement qualitative, a été menée entre les pratiques de ces deux groupes d'élevage. Certaines pratiques mises en œuvre dans les élevages suite à leur premier foyer de VHD semblent plus fréquemment associées à l'absence de récurrence de la maladie : arrêt de production de lapins lourds afin d'assurer un vide sanitaire complet de l'engraissement (2 élevages, aucune récurrence), clôture complète du site d'élevages (3 élevages, 1 seule récurrence), renforcement des barrières sanitaires à l'entrée des bâtiments (4 élevages, 2 récurrences) et vaccination plus fréquente des femelles contre la VHD (3 élevages, 1 récurrence) : passage à une fréquence supérieure à 3 fois par an. La mise en place de ces mesures est donc à étudier au cas par cas dans les élevages soumis à un problème récurrent de VHD.

2.2. Qualité de la vaccination contre la VHD

Les bilans sérologiques sur les femelles sont disponibles dans douze élevages en récurrence de VHD et huit élevages témoins. Des taux d'anticorps anti-RHDV-2 élevés et homogènes ont été observés dans quinze élevages (neuf en récurrence et six témoins), montrant une couverture vaccinale satisfaisante. Dans cinq élevages (deux en récurrence et trois témoins), plus de 3 femelles sur 14 (20%) ne présentaient pas d'anticorps anti-RDV2 détectables en sérologie. Il s'agissait systématiquement de femelles primipares, qui n'avaient jamais eu de rappel vaccinal après le schéma initial d'immunisation. L'absence d'anticorps chez ces jeunes femelles pourrait s'expliquer par un défaut d'application de la vaccination initiale, impossible à identifier a posteriori. Cette observation montre une possibilité de progrès concernant le protocole initial de vaccination et son application dans

un quart des élevages. Le test sérologique est à ce niveau intéressant pour évaluer la qualité de la vaccination. Il est d'autant plus important de proposer un bilan sérologique que les schémas vaccinaux appliqués sont spécifiques à chaque élevage, résultant de la prise en compte de nombreux paramètres tels que la pratique de vaccination groupée avec la myxomatose, la pratique d'une vaccination par rang de portée ou non ou le coût de la vaccination.

3. L'analyse phylogénétique des virus RHDV2

3.1. Méthodologie

Les ARN totaux ont été extraits à partir de 100 µL d'exsudat de foie comme décrit précédemment. Une partie du génome viral (2.387 pb) incluant le gène codant la protéine de capsid VP60, a été amplifié par RT-PCR (kit SuperScript™ III One-Step Platinum Taq HiFi, Invitrogen) à l'aide de deux amorces spécifiques des lagovirus pathogènes et non pathogènes : 4860F (5'-CATGACTCCGATGATGGTNAG, position 4839-4859) et 7255R (Le Gall-Reculé et al., 2017). L'ADN purifié et quantifié des produits PCR a été séquencé comme décrit dans Le Gall-Reculé et al. (2017). Les séquences du gène VP60 obtenues ont été alignées avec celles des RHDV et RHDV2 français obtenues à l'Anses depuis l'apparition de la VHD (virus issus de la faune sauvage et d'élevages cynicoles). Les relations phylogéniques entre les séquences ont été estimées à l'aide de la méthode de Neighbor-Joining avec le logiciel MEGA 5.05.

3.2. Introductions multiples de virus sur plusieurs années

L'analyse phylogénique des souches de RHDV2 de 10 élevages en récurrence pour lesquels le génome viral a pu être séquencé montre que les virus ne diffèrent pas de ceux retrouvés dans d'autres élevages ou dans la faune sauvage. Ce résultat confirme l'absence d'une lignée de RHDV2 spécifique aux élevages incluant les élevages en récurrence.

Il a par ailleurs été possible pour trois élevages suivis de séquencer les virus d'un ou de plusieurs foyers antérieurs ou postérieurs au foyer enquêté. Dans tous les cas, les analyses phylogéniques montrent que les séquences virales sont toutes différentes, révélant des liens de parentés parfois distants entre les virus. Ces résultats ont été retrouvés dans trois autres élevages non enquêtés et confirment que les foyers de VHD qui se sont succédés pendant quelques années sont tous dus à de nouvelles introductions virales et non à la persistance d'un virus dans l'élevage. Cependant, ces réintroductions ont pu se faire depuis une exposition à un réservoir environnemental proche, comme des populations de lapins ou de lièvres sauvages.

Perspectives

Depuis 2022 et le début de l'étude, la situation épidémiologique des élevages cynicoles vis-à-vis de la

VHD s'est encore améliorée : 20 foyers ont été recensés entre janvier et novembre 2024 alors que le bilan annuel montait à 58 foyers en 2023 et 80 foyers en 2022. Cette amélioration globale cache cependant une disparité importante puisque la part des élevages en récurrence de VHD est toujours plus élevée dans les foyers incidents (18/20 en 2024). L'étude SURVRECI apporte de nouvelles connaissances pour aider à la gestion des foyers dans ces élevages. Les résultats ont été largement diffusés auprès des publics technique et professionnel, dans le souci de fournir des recommandations pratiques. Plus généralement, la piste d'amélioration de la qualité de vaccination du pré-cheptel par la réalisation d'un bilan sérologique post vaccinal est un résultat qui intéresse l'ensemble des élevages.

Remerciements

Les auteurs remercient les éleveurs, les groupements cynicoles, les vétérinaires de la SNGTV et les laboratoires d'analyses vétérinaires qui ont fournis les échantillons de foie de lapins d'élevage (Labofarm, Labovet-conseil), le laboratoire Inovalys-Angers pour l'envoi des échantillons de foie de lapins de garenne et de lièvres pour lesquels le RHDV2 a été diagnostiqué, l'Office Français de la Biodiversité (OFB) qui contribue au financement des travaux de suivi de l'évolution génétique des lagovirus de la faune sauvage (conventions de recherche OFB/Anses CNV-REC-2019-06 et OFB-22-0969). Le projet SURVRECI est financé par le CASDAR dans le cadre de la convention n° 09 21 005056 relative au programme d'expérimentation ou d'élaboration de méthodes et d'outils d'aide à la décision.

Références

- Calvete C., et al., 2021. Infectivity of rabbit haemorrhagic disease virus excreted in rabbit faecal pellets. *Vet. Microb.*, 257: 109079. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109079>
- Le Gall-Reculé G., et al., 2011. Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France. *Vet. Rec.* 168: 137-138.
- Le Gall-Reculé G., et al., 2017. Large-scale lagovirus disease outbreaks in European brown hares (*Lepus europaeus*) in France caused by RHDV2 strains spatially shared with rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet. Res.*, 48:70.
- Huneau-Salaün et al., 2021. Evaluation of cleaning and disinfection procedures in rabbit farms affected by rabbit haemorrhagic disease, in France. In 12th World Rabbit Congress, November 3-5, Nantes, France. C 23.