

# LABOCEA

## NEWS

### SANTÉ ANIMALE

La technique de MALDI-TOF permet d'identifier l'espèce d'une bactérie en quelques minutes à partir du dépôt d'une fraction de colonie sur un support. Elle est rapide et fiable, mais représente un investissement de départ important.

## En direct du labo

### Identification des bactéries pathogènes : le recours à la technique MALDI-TOF améliore précision et délais

« Le recours à la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) pour l'identification des bactéries date d'il y a presque 10 ans, à LABOCEA Ploufragan. Sa facilité d'usage, sa précision et la rapidité d'obtention du résultat ont durablement changé le fonctionnement du laboratoire de bactériologie », explique le D<sup>r</sup> vét. Hervé Morvan, en charge de la bactériologie animale à LABOCEA Ploufragan.

#### Spectrométrie de masse

Le terme MALDI-TOF est issu de l'anglais : « Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight ». La machine (voir l'illustration ci-dessus) est un spectromètre de masse, couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur à temps de vol des molécules ionisées vaporisées. Elle a d'abord été développée pour la chimie des protéines, puis adaptée à la bactériologie il y a une dizaine d'années : la mesure porte alors essentiellement sur les empreintes de masse des protéines ribosomales des germes (le ribosome est très spécifique de l'espèce bactérienne). Aujourd'hui, plusieurs fabricants de spectromètres de masse proposent des machines pour les analyses de laboratoire, mais toutes ont le même mode de fonctionnement. Chaque machine est fournie

avec une banque de spectres, en lien avec des espèces bactériennes de référence, et un programme qui les compare à ceux obtenus pour chaque analyse.

#### Chronologie

A partir du prélèvement (écouvillon, fiente, autopsie...), la bactériologie est toujours nécessaire car l'identification se fera par dépôt sur une cible métallique (réutilisable chez certains fabricants) d'une fraction de colonie, prélevée sur gélose. Le choix des milieux sélectifs et non sélectifs est toujours la base, ainsi que l'observation de la morphologie des colonies. « L'une des différences par rapport à la bactériologie classique, est de pouvoir identifier de nombreuses colonies, le coût réactif étant faible si les plaques ne sont pas à usage unique. C'est particulièrement utile lorsque l'on travaille sur des prélèvements polymicrobiens, comme les brossages d'amygdales ou les écouvillons de cavités nasales », précise Hervé Morvan. La spectrométrie identifie la masse des différentes protéines d'intérêt, et fournit à l'écran un spectre (voir ci-dessous).

#### Comparaisons

C'est la comparaison de ce spectre à ceux de la bibliothèque de la machine, qui permet d'identifier le genre et l'espèce dans la

colonie analysée. Le programme de la machine classe le spectre obtenu avec une note (score) issue de la comparaison aux spectres de référence, avec 10 propositions d'espèce, classées par note décroissante. Si cette note est supérieure ou égale à 2, l'identification est fiable. Jusqu'à 1,6, la note est indicatrice de la présence d'une bactérie du même genre, mais pas de l'espèce. En-dessous, il s'agit soit d'un artefact, soit d'une espèce non représentée dans la base de données de référence. Il est ainsi possible de mettre en évidence de nouvelles espèces bactériennes, ou de confirmer l'identification de souches non typables.

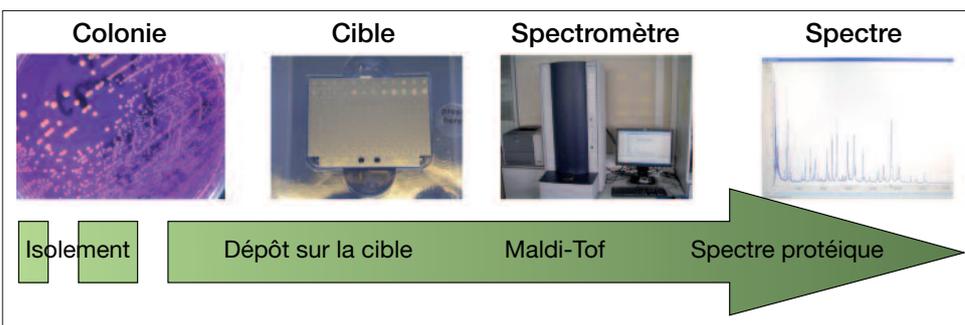
#### Avantages

« L'un des avantages majeurs de la technologie MALDI-TOF est bien sûr sa rapidité : l'identification peut être réalisée dès l'isolement, puisque le fonctionnement de la machine est de quelques minutes - contre 2 à 3 jours par les méthodes classiques d'identification, par exemple par galeries

## Un chiffre, des analyses

# 76

Sur 2017 pour ses seuls services de santé animale, LABOCEA a participé à 76 essais inter-laboratoires (EIL). Ces EIL sont organisés par le laboratoire de référence de chaque type de pathologie réglementée, et permettent de s'assurer de la fiabilité des résultats rendus, ainsi que de la comparabilité entre laboratoires d'analyses ; ils participent ainsi au maintien des agréments officiels. Pour les autres maladies, ils peuvent être organisés en interne à partir d'échantillons caractérisés. A l'échelle de LABOCEA, cela a représenté le traitement d'environ 500 échantillons analysés sur l'année. •



Flux d'événements nécessaires à la réalisation d'une identification bactérienne en MALDI-TOF. La bactériologie prend encore 24 à 48 h, mais la séquence suivante ne dure que quelques minutes. Le spectre obtenu va être comparé aux spectres de référence de la banque de données de l'appareil.

API®. Il est également facile d'enrichir la base de données des spectres » et de l'adapter aux spécificités de l'utilisateur. Autres intérêts et non des moindres : une réduction des consommables et des déchets

biologiques et plastiques. « C'est un modèle économique différent, avec un coût d'investissement élevé et un coût de maintenance associé ». A Ploufragan, un mois après l'arrivée de la machine, ses identi-

fications étaient toutes conformes à celles de la bactériologie classique, et cette dernière étape a été abandonnée. « C'est un changement de paradigme pour le biologiste clinique », résume Hervé Morvan. •

## Ça bouge à LABOCEA

### Nouvelle répartition des analyses : autopsies et bactériologie maintenues sur tous les sites de LABOCEA et spécialisation par filière en immunologie-virologie -PCR

L'extension de LABOCEA aux sites d'Ille-et-Vilaine a entraîné une réorganisation des services d'analyses en santé animale. Ont été privilégiées les notions de proximité et de rapidité, pour toutes les espèces de rente.

#### Ce qui est maintenu

La réorganisation de la répartition des analyses de santé animale sur le réseau de LABOCEA s'est achevée au cours du premier semestre 2018. Elle est le fruit d'une prise en compte du besoin de proximité et de rapidité de rendu des résultats aux prescripteurs d'analyses. « C'est la raison pour laquelle les services d'autopsie et de bactériologie sont maintenus sur chacun des trois sites » de Quimper, Ploufragan et Fougères (voir l'illustration), explique le Dr vétér. Eric Le Dréan, responsable du pôle Santé Animale de LABOCEA. Chaque site est d'ailleurs équipé d'un spectromètre de masse (MALDI-TOF) pour une identification bactérienne dans les meilleurs délais (voir l'article ci-dessus). De la même façon, les analyses relatives à la prophylaxie sanitaire et aux contrôles à l'introduction des bovins (brucellose, leucose bovine enzootique, IBR et BVD) sont maintenues sur ces trois sites. « La spécificité de chaque site a également été conservée : l'histologie et la virologie aviaire restent centralisées à Ploufragan, la biochimie clinique à Combours et la virologie bovine à Fougères ». De la même façon, l'ensemble des analyses relatives à la paratuberculose de toutes les espèces de ruminants sont localisées à Quimper, où à la fois les outils et l'expertise relatifs à

cette mycobactériose étaient déjà présents.

Cette réorganisation « préserve aussi la capacité de réaliser de grandes séries d'analyses immunologiques en cas de crise sanitaire ». Dans le même objectif, la conservation des deux sites sécurisés P3, à Ploufragan et à Fougères « permet elle aussi de faire face en cas de crise sanitaire (pestes porcines) ».

#### Ce qui est modifié

Les analyses dont le site de réalisation a été modifié sont du domaine de l'immunologie, virologie et PCR. Cette modification a été faite avec un souci d'équilibre d'activité dans chaque site, mais en gardant comme objectif la rapidité du rendu des résultats. « Le fait de regrouper les mêmes analyses sur un seul site permet de lancer des séries à des intervalles plus proches ». Sont ainsi regroupées :

- sur le site de Ploufragan, les analyses porcines et aviaires (immunologie, virologie, PCR) ;
- sur le site de Quimper, les analyses liées aux poissons, aux coquillages, et à la paratuberculose des ruminants ;
- sur le site de Fougères, toutes les autres analyses relatives aux ruminants (FCO, fièvre Q...)

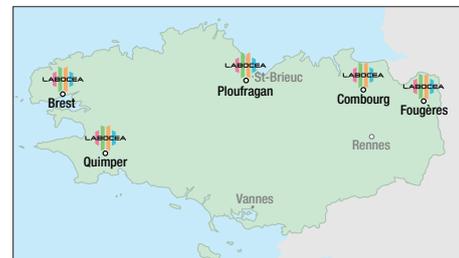


Schéma de l'implantation des 5 sites LABOCEA en Bretagne (Brest, Quimper, Ploufragan, Combours et Fougères).

En lien avec ces répartitions différentes des espèces, les lignées cellulaires destinées à l'isolement viral sont adaptées à chaque site (porcs et volailles à Ploufragan, ruminants à Fougères, poissons à Quimper...). La fabrication des autovaccins est à présent assurée sur le seul site de Ploufragan.

#### Navettes quotidiennes

Pour atteindre l'objectif d'amélioration des délais « ce sont des navettes intersites, quotidiennes, qui permettent de regrouper les échantillons à analyser. Cette logistique permet de réaliser des séries de manière au moins hebdomadaire, alors que le rythme était parfois une fois toutes les deux semaines auparavant. C'est un gain de temps pour la réception des résultats ».

L'ensemble de ce dispositif est en cours de mise en application, et devrait être totalement opérationnel à la fin de 2018. •

## En bref



Trois posters ont été présentés par des membres de LABOCEA au congrès annuel de l'European Society of Porcine Health and Medicine (ESPHM), qui se déroulait à Barcelone (Espagne) du 9 au 11 mai dernier. Deux d'entre eux portaient sur des expérimentations terrain réalisées avec les autovaccins produits par LABOCEA Ploufragan, et a été réalisé par le CTPA, en collaboration avec Hyovet. Leurs titres originaux sont en anglais. Il s'agit de :

Effet de trois adjuvants utilisés pour la production d'autovaccins contre *Actinobacillus pleuropneumoniae* sur des paramètres sérologiques lors d'utilisation terrain ;

Evaluation terrain sur des charcutiers de l'innocuité de trois adjuvants utilisés pour la production d'autovaccins contre *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Le troisième poster a été réalisé par LABOCEA-Ploufragan, en collaboration avec Ceva Santé Animale. Il portait sur une enquête épidémiologique sur les génotypes de PCV2 dans l'Ouest de la France, et confirmait la présence du PCV2d dans cette région.



Une communication orale et deux posters ont été présentés par des membres de LABOCEA aux Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires (JNGTV) 2018, qui se sont déroulées à Nantes du 16 au 18 mai 2018.

La communication orale a été réalisée par le Dr vétér. Guillaume Lequeux (LABOCEA-Fougères), sur « les examens de laboratoire : évolutions et perspectives liées à l'utilisation du MALDI-TOF pour la détection d'agents pathogènes en clientèle ».

Le premier poster a également été présenté par le Guillaume Lequeux et porte sur la « sensibilité de souches d'*Escherichia coli* issues d'infections urinaires chez la truie ».

Le second poster a été présenté par Mme Evelyne Michel (virologie, LABOCEA-Fougères) et était intitulé : « VRSB : Une réponse significative en anticorps séroneutralisants des veaux vaccinés Bovilis® Bovigrip® versus Bovalto® 3 ». Il a été réalisé en collaboration avec MSD.

LABOCEA, Conseil, Expertise et Analyse en Bretagne - ZOOPOLE, 7 rue du sabot, 22440 PLOUFRAGAN

Site de Brest (29) : 02 98 34 11 00, site de Quimper (29) : 02 98 10 28 88, Site de Ploufragan (22) : 02 96 01 37 22  
site de Combours (35) : 02 99 73 02 29, site de Fougères (35) : 02 99 94 74 10.

Contact santé animale : Dr Eric le Dréan, eric.ledrean@labocefa.fr

