

Courbes de la RT-PCR de détection du virus de la bronchite infectieuse aviaire (source : LABOCEA).

En direct du labo

Une « offre complète » pour le diagnostic et le développement sur le virus de la bronchite infectieuse aviaire

Le diagnostic de la bronchite infectieuse aviaire est effectué en routine à LABOCEA-Ploufragan. Mais l'éventail des prestations disponibles au regard de ce virus ne se limite pas à ce seul aspect. « Nous maîtrisons et pouvons mettre à disposition de nos clients de nombreux outils diagnostiques complémentaires de la RT-PCR ou de l'isolement viral, que nous venons de rassembler dans une offre plus étendue » indique le Dr Frédéric Bernard, chef du service virologie-PCR sur ce site.

Le virus de la bronchite infectieuse (BI) fut l'un des premiers virus mis en culture sur des œufs embryonnés de poule... Et l'œuf embryonné demeure le premier choix pour l'isolement du virus de la BI, comme pour la technique de référence, qu'est la séroneutralisation.

La confirmation de la présence du virus BI est habituellement obtenue par le test d'immunodiffusion en milieu gélosé (IDG), en utilisant l'homogénat de membranes chorio-allantoïdiennes et le sérum de poulet précipitant (anticorps visant la nucléocapside).

Plus avancée et plus sensible, l'immunofluorescence (spécifique de sérotype) est réalisée sur des cellules allantoïdiennes d'embryons de poulets infectés, mais cette technique est plus lourde car réalisée en laboratoire protégé (P3).

La RT-PCR est désormais utilisée en routine sur écouvillons trachéaux et cloacaux, ou sur organes cibles pour détection des gamma coronavirus

aviaires. « L'ensemble de ces techniques est disponible à LABOCEA-Ploufragan, complété par des RT-PCR spécifiques qui permettent d'identifier les principaux variants circulants ».

Le coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire mute rapidement, même pour un virus à ARN – comme l'émergence régulière de variants l'a démontré aux vétérinaires avicoles depuis plusieurs décennies. Cela a comme autre conséquence de rendre délicate la classification de ces virus. Ils sont actuellement typés à partir de la séquence de leur gène S1, qui distingue 6 génotypes comprenant au total 32 lignées.

Dans les pays européens, les types du virus BI sont essentiellement du sérotype Massachusetts, comme les virus variants relativement anciens D274 et 1466, et les variants arrivés plus récemment (793 B, B 1648 et QX).

Le catalogue LABOCEA-Ploufragan proposait déjà la recherche d'anticorps anti-coronavirus aviaires par les méthodes suivantes IDG (tous sérotypes), ELISA (identification de passage du virus BI sans plus d'information) et séroneutralisation (en cinétique, sur les souches Massachusetts, D1466, D274, D3128, D3896, CR 88121, CR 84084 ou CR 84221).

Fin 2019, LABOCEA a mis en place une RT-PCR de détection de la BI puis la recherche des principaux variants connus (une RT-PCR Massachusetts et d'autres pour chaque variant décrit en France : Italian 02, QX, D274 et 793B/CR 88). « D'autres variants non

présents en France peuvent également être recherché sur demande. Compte tenu de l'évolution rapide des coronavirus le séquençage est une

Un chiffre,
une analyse
2 000

Tel est le nombre d'analyses histologiques effectuées à LABOCEA-Ploufragan, à partir des quelques 800 soumissions annuelles dans le cadre de la police sanitaire de la tuberculose bovine.

LABOCEA est la seule structure en France à disposer de la totalité des agréments pour les analyses lors de suspicion d'infection à *Mycobacterium bovis* : culture et PCR (LABOCEA-Fougères), histologie et stimulation par l'interféron gamma (LABOCEA-Ploufragan). Environ un tiers de cette activité est liée à la surveillance de ce danger sanitaire de première catégorie : inspection des carcasses sur la chaîne d'abattage et suspicion clinique. Les deux tiers restants sont liés aux activités de police sanitaire : abattage en cas de foyers ou de suspicion de foyers.

Comme le diagnostic de confirmation confronte les résultats de la PCR, de la culture et de l'histologie, qu'il s'agit d'une maladie réglementée et qu'en élevage laitier la collecte est suspendue pendant l'arrêté préfectoral de suspicion, le délai de réponse recommandé est de 5 à 7 jours, ce qui est faible pour une histologie. D'une manière générale, le taux de confirmation de tuberculose bovine par histologie est faible, mais elle permet souvent d'identifier la cause lésionnelle ayant conduit au prélèvement à l'abattoir. •

approche prometteuse, mais encore coûteuse pour une approche de diagnostic de première intention ».

L'importante condition préalable pour le succès d'un programme de vaccination est une connaissance

fiable des sérotypes impliqués dans les foyers à l'échelle d'une région ou d'un flux de production.

Une telle surveillance des sérotypes et pathotypes du virus est constante et réalisée sur le long terme. L'évolution

de l'offre diagnostique BI de LABOCEA-Ploufragan va donc bien dans ce sens, mais s'étend aussi à l'industrie pharmaceutique avec l'outil séroneutralisation en laboratoire protégé, unique en France. •

Ça bouge à LABOCEA

Retour d'informations vers le terrain : étiologie des mammites et focus sur *Streptococcus uberis*

Avec une intervention aux journées nationales des groupements techniques vétérinaires (JNGTV), deux publications dans le *Bulletin des GTV* et une présentation à la demande de la commission "qualité du lait" de cet organisme, lors de sa réunion annuelle, l'année 2019 du service de bactériologie vétérinaire à LABOCEA-Fougères a pu effectuer plusieurs retours d'information vers les praticiens vétérinaires impliqués dans les élevages laitiers.

La présentation orale effectuée à l'occasion des JNGTV par le D^r Guillaume Lequeux (LABOCEA-Fougères) portait sur la sensibilité aux antibiotiques des staphylocoques coagulase négatif isolés de mammites entre 2014 et 2019.

« Les praticiens bovins constatent parfois qu'il y a une grande variété du pouvoir pathogène de ces germes selon les espèces, ce qui a été bien décrit par ailleurs. Il en va de même pour la sensibilité aux antibiotiques, avec une constante : c'est *Staphylococcus epidermidis* qui présente les taux de résistance les plus élevés, notamment vis-à-vis de la pénicilline, ce qui a des conséquences pour les traitements de première intention ». Cette espèce est déjà considérée par certains comme un pathogène majeur en Europe du Nord, « ce n'est pas le cas en France, mais la vigilance est de mise vis-à-vis

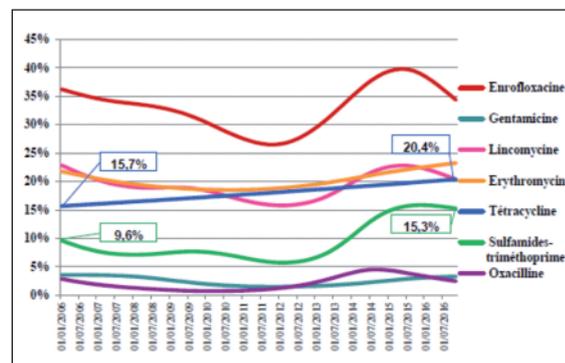
de sa sensibilité aux antibiotiques » prévient-il, car l'espèce a été signalée comme source d'infections nosocomiales en France en 2016-2017.

En septembre 2019, la mise à jour de données âgées de 10 ans a été publiée, « cosignée avec le Pr Dominique Bergonnier, de l'ENV de Toulouse, dans le dossier "mammites" du n° 95 du Bulletin des GTV ». Ces deux publications agrègent les données récentes sur la bactériologie et la PCR réalisées au laboratoire de diagnostic pour le diagnostic étiologique des mammites.

Enfin, la synthèse de l'évolution de la résistance vis-à-vis de la pénicilline (traitement recommandé en première intention) des *Streptococcus uberis* isolés de mammites a été présentée à l'automne à la commission "qualité du lait" des GTV. De nombreuses questions restent encore en suspens (impacts cliniques ou en



termes de recommandations thérapeutiques), face au constat de ce qui semble être une émergence (même très restreinte à l'heure actuelle) de souches de "sensibilité diminuée à la pénicilline" (voir le graphique ci-dessous). Ce travail devrait donner lieu à une présentation aux prochaines JNGTV, en mai 2020, avec le D^r Olivier Salat (SNGTV). •



La D^{re} Clémence Bourély (Anses Lyon) a présenté aux journées annuelles du RESAPATH, en novembre 2018, l'évolution de 2006 à 2016 de la résistance des souches de *Streptococcus uberis*. La résistance à la tétracycline augmente de manière linéaire et toutes les résistances augmentent à partir de 2012. Ce qui soulève des interrogations sur la thérapeutique de ces infections mammaires, sujet d'une présentation à venir aux JNGTV 2020.

Lequeux G., Bergonnier D. Diagnostic bactériologique des mammites bovines au laboratoire. Partie 1 : diagnostic par culture bactérienne. Bulletin des GTV. 2019 ; 95 : 23-33.
Lequeux G., Bergonnier D. Diagnostic bactériologique des mammites bovines au laboratoire. Partie 2 : diagnostic par PCR. Bulletin des GTV. 2019 ; 95 : 35-44.

En bref

La D^{re} **Nathalie Vassallo**, "personne qualifiée pour les autovaccins" à LABOCEA-Ploufragan, est depuis l'automne 2019 affectée à cette seule activité.

Les analyses pour hémoparasitoses bovines sont transférées, à compter de début mars 2020, du site de LABOCEA-Ploufragan à celui de LABOCEA-Quimper. Il s'agit des recherches diagnostiques d'*Anaplasma phagocytophilum* (ehrlichiose granulocytaire) par PCR ou sérologie, d'*A. marginale* par sérologie et de *Mycoplasma wenyonii* par PCR. Ces analyses seront réalisées une fois par semaine. Pour les prélèvements enlevés par notre offre de collecte (navettes LABOCEA ou transporteurs prestataires), il n'y a pas de changement. Pour les vétérinaires qui envoient leurs échantillons et leurs demandes par courrier postal, il convient donc de changer l'adresse du site de destination.

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 Combourg (35) : 02 99 73 02 29, site de Fougères (35) : 02 99 94 74 10
site de Ploufragan (22) : 02 96 01 37 22, site de Quimper (29) : 02 98 10 28 88.

Contact santé animale : Mathieu Couteau mathieu.couteau@laboce.fr

