



Le séquençage à haut débit du génome ne peut se faire qu'avec une étape de traitement bio-informatique des données de séquences obtenues (source : Labocéa).

En direct du labo

Labocéa s'investit dans le séquençage intégral du génome, en commençant par celui des salmonelles

« Labocéa effectue le séquençage partiel du génome de plusieurs virus porcins depuis déjà plusieurs années, à partir des prélèvements adressés par les praticiens porcins au site de Labocéa-Ploufragan », indiquent Marie-Agnès Baudouard, responsable technique du service PCR et la D^e Mouna Abed, responsable du service immunologie virologie PCR de Labocéa-Ploufragan. « Cela a commencé avec le virus SDRP (séquençage des ORF5 et ORF7), puis avec le PCV2 (séquençage de l'ORF2), et plus récemment avec le parvovirus porcine de type 1 (PPV1) ». Le séquençage partiel est principalement utilisé pour le typage des souches (PCV2 par exemple), leur différenciation des souches vaccinales (SDRPV) et l'évaluation de la couverture vaccinale au regard des souches du terrain (PCV2, PPV1).

Machine et traitement des données

« Les acteurs de terrain demandent de plus en plus d'informations, au-delà du séquençage partiel déjà pratiqué, qui pourraient être fournies par le séquençage intégral du génome, également nommé séquençage de nouvelle génération (NGS) ». Cette technique permet d'avoir accès à l'identité précise des souches, d'en réaliser la phylogénie ainsi que la traçabilité si une base de données est accessible, et aussi d'identifier des événements de recombinaison, de réassortiment, ou encore, pour les bactéries, de disposer de leur profil de gènes de virulence et/ou d'antibiorésistance.

« Labocéa propose désormais le séquençage intégral du génome ». Plusieurs techniques et appareils sont disponibles sur ce marché. « Le séquenceur retenu a été le MinION[®] d'Oxford Nanopore Technologies, accompagné de son ordinateur MK1-C ». Les séquenceurs sont de peu d'utilité sans l'expertise d'un bio-informaticien pour trier et ordonner les séquences obtenues (pour ce séquenceur, ce sont de longs brins de près de 30 000 nucléotides qui sont obtenus) et reconstruire la séquence intégrale du génome. « Labocéa a donc créé un poste de bio-informaticien », ce qui a permis « de mettre en place la technologie et l'expertise sur cette nouvelle technique, arrivée à Labocéa-Ploufragan en décembre 2020 ».

Validation et LNR

Les premiers mois de 2021 ont été consacrés à la validation de son utilisation. « Les équipes impliquées, réparties sur les différents sites de Labocéa, ont convenu de valider la technique sur Salmonella, pour laquelle une base de données de séquences intégrales est disponible ». Le NGS permet aussi de typer les sérovars (et apportera des réponses pour des souches non-typables par la technique classique de microbiologie). Il permet également de mettre en évidence des liens épidémiologiques (traçage de contamination) ou de réaliser des suivis de décontamination en élevage. Ce travail a été réalisé sur des souches de collection (ATCC) et a porté à la fois

sur la préparation des échantillons (extraction de l'ADN à partir des colonies), le séquençage et le travail de bio-informatique sur le réalignement des séquences obtenues. « Cette validation est achevée et la prestation NGS est à présent disponible, dans un premier temps pour les salmonelles (la technique permet de séquencer 12 isolats en même temps, ce qui limite les coûts). Chaque site de Labocéa travaille désormais sur une liste d'autres pathogènes d'intérêt », permettant à terme d'élargir cette offre. •

Un chiffre, une analyse

8 599

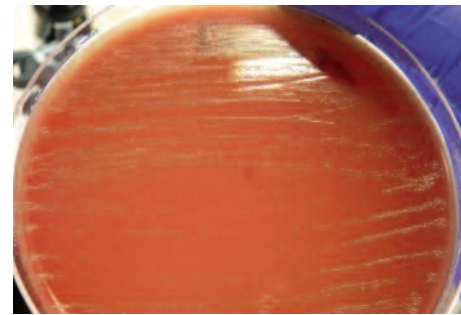
C'est le nombre d'autopsies d'animaux réalisées en 2020 à Labocéa-Ploufragan. Les principales espèces autopsiées sont les volailles (76,4 %), loin devant les avortons porcins (12,9 %) et les porcs (7,6 %). Les autres espèces autopsiées sont les lapins, devant les bovins (veaux et adultes) et les animaux de la faune sauvage. Outre les prélèvements réalisés dans le cadre de ces autopsies, 1 825 analyses parasitologiques ont été réalisées. •

Ça bouge à LABOCEA

Première description en France de pathologies de ruminants à *Streptococcus ruminantium*

Cette histoire commence à Labocéa-Fougères en 2018, avec une souche de streptocoque isolée d'un cas d'arthrite sur une chevrette « que nous avons eu du mal à identifier, malgré sa pousse en culture pure. Elle a été identifiée avec une note élevée en Maldi-Tof comme *Streptococcus suis*, mais son sérotypage échouait systématiquement », se souvient le Dr Guillaume Lequeux, chef de service anatomie pathologique microbiologie vétérinaire à Labocéa-Fougères. En comparant le spectre Maldi-Tof de la souche avec ceux de la banque de données des *S. suis* porcins de Labocéa-Ploufragan, il apparaissait que cette souche était différente. Au vu d'analyses biochimiques et de PCR de typage *S. suis* complémentaires, la présence de *S. ruminantium* était suspectée, « mais la bibliographie ne le signalait, dans des cas pathogènes, que sur le Japon ou le Canada ». Les microbiologistes se sont donc rapprochés du Centre national de référence (CNR) sur les streptocoques, en humaine, qui s'est révélé intéressé. Le séquençage partiel du génome de la souche (méthode de référence) permet

au CNR de confirmer qu'il s'agit de *S. ruminantium*. « C'est le premier cas identifié en France dans un contexte de pathologie sur une espèce de ruminant domestique », souligne le Dr Lequeux. « Nous avons alors enrichi les bases de données internes avec les spectres de Maldi-Tof pour tenir compte de cette nouvelle identification. En parallèle, tous les sites de Labocéa sont allés rechercher dans leurs collections, pour évaluer si d'autres cas attribués à *S. suis* sur des ruminants n'auraient pas été en réalité des cas dus à *S. ruminantium* ». Quinze autres souches ont été retrouvées, dans la majorité des cas issues de troubles respiratoires et concernant majoritairement des bovins (mais aussi un cas de mammite chez une brebis et une pneumonie chez une chevrette). « Toutes ont été confirmées a posteriori comme des *S. ruminantium*, toujours en lien avec le CNR ». Le reste de l'histoire est détaillé dans un article paru à l'automne dernier dans le *Bulletin des GTV*. « À présent, nous n'envoyons plus les souches pour confirmation par le CNR, et l'identification peut être faite en routine sur tous les



Colonies de *Streptococcus ruminantium* sur une gélose au sang (cliché : Labocéa).

sites de Labocéa, dont les microbiologistes des trois sites santé animale cosignent l'article ». Pour les prescripteurs d'analyses, il est intéressant de noter que, pour 2 des 16 cas, *S. ruminantium* apparaît être le pathogène à l'origine exclusive de la pathologie respiratoire observée. En termes de traitement, le fait qu'il s'agisse de *S. ruminantium* et non de *S. suis* n'a pas d'implication particulière au vu des premières données : « les résultats des antibiogrammes ne montrent pas de tendance spécifique, par rapport à *S. suis* ». •

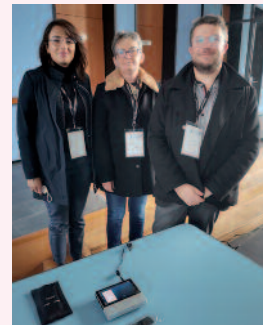
* J.-C. Pegne et coll., "Identification de *Streptococcus ruminantium* chez les ruminants : première description à partir de 16 cas en France." *Bull. GTV*, 2021, n° 103, p. 63-68.

En bref

• **Congrès** : La Dr^e Mouna Abed, responsable du service immunologie virologie PCR du site Labocéa de Ploufragan est premier auteur d'un poster présenté au congrès 2021 de l'Association française de médecine vétérinaire porcine et copublié avec Ceva santé animale*. Ce poster décrit la recrudescence depuis janvier 2021 des cas de parvovirose porcine analysés à Labocéa et met en évidence la circulation en France de souches parvovirus porcine de type 1 apparentées génétiquement aux souches "27a-like". La souche 27a est apparue en Europe de l'Ouest il y a une vingtaine d'années ; elle est devenue depuis dominante dans plusieurs pays. Elle présente une grande variabilité génétique, et est plus virulente que les souches jusque-là dominantes. Ces résultats ont été obtenus par séquençage partiel de la protéine VP2 du génome du PPV-1, qui comporte des domaines antigéniques majeurs et qui est la cible des anticorps neutralisants.

• **Boues** : une étude de la persistance du génome (ARN) du SARS-CoV-2 dans les boues d'épuration a été réalisée pour le Syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne (SIAAP), en collaboration avec l'INRAe, IDvet, l'université Paris-Saclay et le CNRS. Co-pilotés par la Dr^e Camille Levesque, cheffe du service immunologie virologie PCR de Labocéa-Fougères où les RT-PCR ont été réalisées, ces travaux montrent que les ARN de SARS-CoV-2 présents naturellement dans la boue conservée à l'obscurité et à 4° C en anaérobiose sont toujours détectables en RT-PCR quantitative après 250 jours. Ce qui n'implique pas une présence d'infectiosité. Lors de digestion anaérobie thermophile, pour des boues dopées en laboratoire, l'abattement de la charge génomique semble très rapide. Ces résultats seront soumis pour publication.

• **VétoTIC** : Labocéa était présent pour la 4^e édition de VétoTIC, le 18 novembre 2021 à Ploufragan. Il s'agit d'une journée d'information et d'échanges destinée aux professionnels de l'élevage (vétérinaires, groupements, coopératives, entreprises, etc.) qui souhaitent s'informer sur les apports des technologies du numérique face aux enjeux majeurs de la santé animale. L'équipe Immunologie-virologie-PCR du site de Ploufragan, représentée par la Dr^e Mouna Abed, cheffe de service, Marie-Agnès Baudouard, responsable technique, et Antoine Riou, bio-statisticien, présentait le séquenceur du génome MinION®.



* « Circulation en France des souches PPV-1 apparentées génétiquement aux souches 27a-like ». Poster, congrès AFMVP, 2-3 décembre 2021

LABOCEA, Conseil, Expertise et Analyse en Bretagne

Quimper, Ploufragan et Fougères ; un seul numéro pour nous joindre : 02 96 69 02 10.

Contact santé animale : sante.animale@laboceafa.fr

