



**LABOCEA**

**NEWS  
SANTÉ ANIMALE**

N° 12 - 1<sup>er</sup> semestre 2022

*L'équipe de Labocéa-Ploufragan grâce à laquelle plus de 10 000 analyses PCR ont été réalisées dans le cadre de la crise de l'influenza aviaire depuis novembre 2021 (cliché : Labocéa).*

## En direct du labo

### Deux sites de Labocéa impliqués dans les analyses liées à l'épizootie d'influenza aviaire

Le positionnement en influenza aviaire sur le site de Labocéa-Ploufragan résulte d'un choix stratégique. « Nous sommes l'un des deux laboratoires d'analyses français agréés par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) pour l'ensemble des analyses virologiques et sérologiques sur l'influenza aviaire en France », précise la D<sup>e</sup> Mouna Abed, responsable du service immunologie virologie PCR du site.

#### Quimper agréé

La nouveauté, c'est qu'un second site, celui de Labocéa-Quimper, a obtenu en urgence mi-avril 2022 la reconnaissance de la DGAI pour les RT-PCR sur ce même virus. « Cette reconnaissance lui permet de recevoir les prélèvements de la filière réalisés dans le cadre des autocontrôles, pour la surveillance (désinfection des véhicules et cages, autocontrôles bimensuels en élevages reproducteurs...), à l'exception des analyses qui entrent dans le cadre de la police sanitaire ». Cette reconnaissance visait à conforter les capacités en proximité, suite à la dégradation épidémiologique qu'a connu le Grand Ouest de la France. Elle vient en appui du site de Ploufragan en cas de besoin, pour faire face à de fortes demandes en situation de gestion de crise.

#### 10 000 PCR en 6 mois

Toutes les analyses liées à la maladie, de la suspicion à celles issues des zones réglementées (oiseaux domestiques) et à l'avifaune, sont traitées en laboratoire agréé, en l'occurrence Labocéa-Ploufragan. « Depuis le 1<sup>er</sup> novembre 2021, début de la saison d'influenza aviaire qui se prolonge de manière inhabituelle ce printemps, notre site a réalisé environ 10 000 tests de RT-PCR », estime la D<sup>e</sup> Mouna Abed. Ce chiffre englobe les analyses de surveillance en zones réglementées, de suspicions en élevage et en faune sauvage, en semaine, mais aussi au cours des 11 weekends d'astreinte pour la gestion des suspicions de Bretagne et hors Bretagne (investigations liées à 29 élevages).

#### Et le P3

Ce nombre d'analyses ne recouvre pas le nombre de prélèvements car, pour une RT-PCR sur le gène M (recherche du génome d'un virus influenza A), les échantillons sont regroupés par 3 à 5. Si cette première PCR est positive, alors une seconde RT-PCR permet de détecter s'il s'agit d'un virus H5 ou H7. Le sous-typage précis du virus a lieu a posteriori, par le Laboratoire national de référence (LNR) de l'Anses Ploufragan-Plouzané. Enfin, Labocéa-Ploufragan dispose aussi d'un laboratoire protégé (niveau P3), qui lui a permis de

manipuler sans danger, pour l'environnement et l'humain, des virus de l'influenza aviaire (voir l'encadré en page 2). L'activité PCR de Labocéa sur la recherche du virus de la Covid-19 s'est également poursuivie durant la période, à un rythme moins soutenu que le second semestre 2020.

### Un chiffre, des analyses

**34 %**

C'est la proportion de l'activité laverie de Labocéa-Ploufragan en lien avec la santé animale. Ce site de Labocéa est l'un des rares en France à encore disposer d'une importante équipe de laverie pour le matériel de laboratoire en verre. L'activité de la laverie est évaluée par le volume de travail : la santé animale (autovaccins inclus) en représente un peu plus du tiers (34 %), devant la chimie (alimentaire et eaux), à 31 % et la microbiologie alimentaire (18 %).

## Un partenariat tripartite

Labocéa-Ploufragan a participé en ce début d'année à un projet tripartite alliant le laboratoire national de référence (LNR) sur l'influenza aviaire de l'Anses-Ploufragan et BioX-Diagnostics, tous trois installé au Zoopôle. Selon la norme U47-600-2, préalablement à la mise en place en "routine" d'une méthode de diagnostic moléculaire, le laboratoire d'analyses utilisateur doit démontrer sa capacité à mettre en œuvre l'essai concerné en vérifiant qu'il obtienne les performances annoncées par le fabricant et/ou le LNR. Cette confirmation des performances est en France qualifiée d'« adoption de méthode ». Cette adoption doit être réalisée à l'aide d'un réactif témoin fourni par le fabricant et/ou le LNR. Ce témoin doit être idéalement constitué d'un échantillon naturellement positif (ou, à défaut, de matrice dopée). Le niveau d'infection de ce témoin est fixé entre 1 et 10 fois la limite de détection de la méthode. Dans ce cadre, Labocéa a participé à la mise au point du témoin "AIV & H5-H7 Extraction Positive Control (IV EPC)" de Bio X-Diagnostics, qui est constitué à partir de cultures de souches virales d'influenza aviaire faiblement pathogènes *H5N2 A/duck/France/05057b/2005\_3.5* et *H7N7 A/mallard/France/090213c/2009\_2.1*. Ces souches ont été fournies par le LNR dans ce but. Labocéa-Ploufragan les a cultivées dans son installation protégée P3, puis a inactivé les virions de manière ménagée (sans altération des acides nucléiques) et a effectué des contrôles microbiologiques afin de s'assurer de l'absence de contaminants. Ces témoins ont ensuite été calibrés et lyophilisés. Ils sont à présent commercialisés par Bio X-Diagnostics (AIV & H5-H7 Extraction Positive Control (IV EPC), référence ADI283-531-8), pour l'adoption des méthodes et la mise en place d'une carte de contrôle pour les kits ADIAVET® AIV REAL TIME (ADI283) et ADIAVET® AIV H5-H7 REAL TIME (ADI531).

Ce témoin est à reconstituer et à ajouter à une matrice exempte d'influenza aviaire pour atteindre un niveau de concentration entre 1 et 10 fois la limite de détection de la méthode et confirmer les performances des méthodes d'extraction en billes magnétiques et colonne de silice. Lors des essais en routine, ce témoin peut également être utilisé comme témoin positif cible d'extraction (parfois nommé sentinelle). Il est alors introduit dans chaque série d'extraction afin de valider les étapes analytiques et constituer la carte de contrôle.

## Ça bouge à LABOCÉA

### Bilan : *E. coli* O78K80 domine les septicémies du jeune veau ; le sérotypage a son utilité

Après une étude bibliographique, Labocéa-Fougères vient de boucler une étude visant à caractériser les souches d'*E. coli* isolées au laboratoire à partir de cas de septicémies de veaux de moins de 6 mois. Ce sont 143 souches isolées à la suite d'analyses réalisées entre 2016 et 2020 qui ont été décongelées depuis la souchothèque. Un sérotypage par agglutination sur lame a été réalisé avec les sérums testés en routine pour les souches de diarrhées néonatales : F5 (K99), F17 (FY), F41, CS31A et O78K80), avec en complément des sérums contre des sérotypes décrits dans la littérature comme pouvant être associés aux septicémies de veaux : O8, O9, O15, O26, O55, O64, O86, et O101. Pour plus de la moitié des souches (55 %), aucun sérotype n'a pu être déterminé, indiquant qu'il s'agit probablement d'infections opportunistes (ce serait à confirmer sur un plus grand nombre de souches, par exemple à l'échelon national). Lorsque le sérotypage était positif, les sérotypes les plus fréquents étaient O78:K80 (18 % des souches), F17 (FY, à 12 %) et CS31A (8 %). Sans surprise, il s'agit surtout de sérotypes rencontrés lors de diarrhées néonatales (origine intestinale des souches septicémiques). Les autres sérotypes occasionnellement identifiés étaient O86 (3 %), F41 (2 %), O55 (1,5 %) et F5 (K99, à 1 %).

La présence discrète des F41 et F5 (K99) pourrait s'expliquer par l'échantillonnage, qui comprend des veaux âgés jusqu'à 6 mois et non les seuls nouveau-nés.

Les gènes des facteurs de virulence de 50 de ces souches ont été recherchés en PCR quantitative, en ciblant les gènes des toxines *Sta*, *STb* et *LT* (toxine thermolabile). Seul le gène *Sta* a été identifié, dans 2 % des souches. Ce résultat est cohérent avec les données publiées pour les *E. coli* des diarrhées néonatales. Il n'y a pas de facteurs de virulence connus qui soient spécifiques des souches septicémiques. Ce qui confirme qu'il s'agit essentiellement d'infections opportunistes causées par une multitude de types d'*E. coli*. De nombreux facteurs d'élevage interviennent ainsi également dans le processus de colisepticémie chez le veau : défaut de transfert colostrale, hygiène des soins (ombilic, par exemple) et hygiène du logement.

Un antibiogramme a été réalisé sur les 143 souches (méthode EUCAST) qui a fourni des résultats proches de ceux du Résapath (réseau de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les germes pathogènes, d'ampleur nationale). Les principales différences portent sur les taux de résistance aux sulfamides potentialisés (62 %, contre 40 % dans le Résapath), à la colistine (10 %, contre

<5 %) et aux fluoroquinolones (20 %, contre 10 %). À l'échelle du laboratoire, ce travail « a permis d'inclure trois sérums supplémentaires (O8, O55, O86) pour la caractérisation des souches isolées en septicémie chez les veaux, reprenant les sérotypes trouvés dominants dans l'étude. Cela permet, en cas de positivité, d'indiquer au praticien que l'imputabilité de la septicémie à la souche correspondante est élevée. Cela lui est utile en particulier lorsque le délai entre le décès du veau et le prélèvement est important ou lorsque les lésions macroscopiques ne sont pas évocatrices », précise le Dr vétér. Guillaume Lequeux, chef de service anatomie pathologique microbiologie vétérinaire à Labocéa-Fougères. Bien que, sur le terrain, le cas le plus fréquent soit de retrouver des souches différentes dans un même élevage, « il peut aussi arriver – moins souvent – qu'un épisode de septicémie soit lié à un même sérotype. Nous avons eu le cas récemment avec un *E. coli* O78:K80, pour lequel la caractérisation a permis de conseiller au praticien de prescrire une vaccination (vaccin du commerce ou auto-vaccin). Dans les autres cas, la caractérisation débouchant sur plusieurs sérotypes est un indicateur pour le praticien d'orienter le travail sur les facteurs de risque des septicémies (hygiène, prise colostrale, etc.) ».

## En bref

• **SERVICES : l'édition 2022 du catalogue d'analyses pour animaux de compagnie de Labocéa a été publiée et est disponible sur** l'extranet (espace sécurisé client pour la consultation des résultats et du catalogue) du laboratoire. La demande d'analyses est quant à elle librement disponible en téléchargement sur le site web de Labocéa (<https://www.labocea.fr/wp-content/uploads/2021/12/DA-animaux-compagnie.pdf>).

Ce catalogue concerne les animaux de compagnie, y compris les NAC, mais aussi les animaux de basse-cours. Les tarifs des analyses d'hématologie-cytologie, de parasitologie, bactériologie, l'autopsie et l'histologie y figurent.



**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@labocea.fr](mailto:sante.animale@labocea.fr)

