



LABOCEA

**NEWS
SANTÉ ANIMALE**

FÉVRIER 2024
NEWSLETTER HORS-SÉRIE
Journée Porcine

Succès pour la première journée technique santé porcine de Labocéa

La tenue de la première journée technique santé porcine, organisée par Labocéa à Ploufragan le 12 décembre, marquait aussi le 10^e anniversaire du rapprochement des quatre laboratoires d'analyses bretons (Finistère, Brest Métropole, Côtes-d'Armor et Ille-et-Vilaine). Le Dr vét. Éric Laporte, directeur général de Labocéa, a rappelé que cet établissement regroupe 600 personnes sur 5 sites, dont 140 impliquées en santé animale. Il a souligné que l'initiative de l'organisation de cette journée revient aux équipes du site de Labocéa-Ploufragan. La réunion technique a été l'occasion de présenter les différents pôles d'expertise en santé animale du site, en autopsie et histologie, microbiologie, immunologie-virologie-PCR et séquençage, production d'autovaccins, ainsi que la direction commerciale. Ensemble, ces équipes « illustrent un engagement commun d'indépendance, équité, réactivité et pertinence ».

Les diarrhées néonatales porcines, sous l'angle des rotavirus



Présenté par la Dre vét. **Nadia Amenna-Bernard**, cheffe du service autopsie-histologie. Les diarrhées néonatales (DNN) sont souvent le fruit d'infections mixtes, mais si un rotavirus est présent, la maladie peut être sévère ; elle concerne alors surtout les portées de cochettes, en première

semaine de vie. Sur ces cas, l'histologie ne sera pas un examen spécifique, et la mise en évidence du virus pourra être effectuée en Elisa sur fèces (rotavirus A), en immunofluorescence ou immunohistochimie, sur bandelette (immunochromatographie, rotavirus A) ou en RT-PCR (rotavirus A et C).

- Il y a d'autant plus de chances de mettre le virus en évidence que les prélèvements ont été réalisés sur les 24 premières heures. Sur les 168 analyses réalisées pour des DNN en 2022 et durant le premier semestre de 2023, la comparaison des résultats de RT-PCR et d'histologie montre que chaque technique a une sensibilité de l'ordre de 60 à 70 % ; lorsque les deux techniques sont réalisées ensemble, la sensibilité augmente à 91 %.

- Le prélèvement de choix est le porcelet entier et vivant, en début de phase clinique. À la question du nombre de porcelets, deux fournissant plus de chances d'identifier le virus, la Dre Amenna-Bernard répond qu'en prendre un asymptomatique revient à faire un pari (pas toujours gagnant).

- Si le prélèvement est fait en exploitation (autopsie), il faut prélever les intestins là où se situent les lésions macroscopiques. Prélever le côlon reste intéressant, même s'il n'y a que rarement des lésions macroscopiques. En particulier, *Clostridioides difficile* peut provoquer un œdème du côlon, mais il reste rarement mis en évidence lors de DNN en Bretagne. Au point qu'il n'est pas inclus dans le "pack DNN" de Labocéa : pour qu'il soit recherché, il faut le demander spécifiquement (analyse faite sur prélèvement de contenu du colon).

Les diarrhées néonatales porcines, sous l'angle de la bactériologie

Présenté par le Dr vét. **Mustapha Fellag**, chef du service bactériologie.

Lorsqu'un porcelet est autopsié pour un diagnostic bactériologique des diarrhées néonatales porcines (DNN), plus d'une dizaine de géloses sont ensemencées par animal. Cela est lié aux différentes espèces bactériennes recherchées (*E. coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium perfringens*), mais également aux différents fragments intestinaux et ganglions ensemencés. Si les cultures sont positives, les colonies bactériennes sont identifiées par MALDI-TOF. Pour les *E. coli*, un typage est réalisé avec des réactifs produits et commercialisés par Labocéa. À la demande des prescripteurs, des antibiogrammes, des PCR sur *E. coli* pour la recherche des facteurs de virulence, et la conservation de souches d'intérêt pour les autovaccins sont réalisés.

Sur deux ans (du 15 novembre 2021 au 15 novembre 2023), il y a eu 1 008 soumissions à Labocéa-Ploufragan pour recherche bactériologique de DNN. Elles proviennent en majorité de Bretagne (81 %). L'essentiel des cas concerne des porcelets jusqu'à 6 jours d'âge, mais un tiers des



soumissions ne renseignent pas l'âge. Dans 91 % des cas, des *E. coli* sont identifiées, et dans trois cas sur quatre, la souche est non-typable. Lorsque le typage est possible, F4 et O101 sont dominants (25 et 24 %, respectivement), devant O9 (13 %) ou d'autres sérotypes. En PCR multiplex pour les facteurs de virulence, un quart des souches sont associées à la détection d'un ou plusieurs gènes codant pour des entérotoxines. Le STb est le facteur dominant (devant F4 et STa-STb). Les antibiogrammes sur *E. coli* sont cohérents avec les données nationales publiées par le Résapath concernant la filière porcine. Dans 58 % des cas, un entérocoque est présent. Dans la majorité des cas (65 %), *E. hirae* est mis en évidence (c'est une spécificité française), alors qu'*E. faecalis* représente une souche sur cinq (19 %). Dans 87 % des cas, *C. perfringens* peut être identifié. La PCR fournit alors un résultat positif pour le type A (pas d'autre type mis en évidence). *Clostridioides difficile* est plus rarement recherché, et à chaque fois qu'un test rapide pour la toxine B a été réalisé, il a fourni un résultat négatif.

- À la question de savoir si une PCR spécifique d'une bactérie est intéressante à réaliser directement à partir d'un écouvillon sec, la réponse est négative. Car cela entraînerait une perte de spécificité ; de plus la culture permet de faire un antibiogramme plus rapidement, et une conservation de souche.

L'apport du séquençage (partiel ou intégral) du génome au diagnostic vétérinaire



Présenté par la Dre vét. **Mouna Abed**, cheffe du service immunologie-virologie-PCR et **Marie-Agnès Baudouard**, cadre technique de l'unité. Le séquenceur actuellement en service à Labocéa-Ploufragan est de la troisième génération de ces outils (technologie Nanopore Oxford), a indiqué Marie-Agnès Baudouard. Il est capable de séquencer un

milliard de nucléotides à l'heure. L'appareil est à peine plus grand qu'un livre de poche. Il permet un séquençage en temps réel et génère un volume important de données qui doivent être traitées par un bio-informaticien. Pour cette analyse, la qualité du prélèvement prime. Pour des bactéries, l'extraction d'ADN à partir d'une colonie fournira des données de séquençage plus précises que si l'extraction est faite à partir d'un prélèvement sur tissu ou fluide biologique. Pour un virus, la valeur du Ct de la PCR (ou RT-PCR) n'est pas parfaitement prédictive de la capacité à réussir un séquençage, et les ARN sont très fragiles dans leur matrice de prélèvement. Dans tous les cas, une étape de vérification de la qualité des acides nucléiques qui auront été extraits du prélèvement permettra de juger de leur état (intact ou dégradé), et dans ce dernier cas de ne pas lancer un séquençage.

La Dre vét. Mouna Abed a illustré l'utilité de cette analyse par deux exemples, l'un sur les parvovirus porcins et l'autre sur les rotavirus porcins.

- Pour les parvovirus, avant 2021, le nombre de PCR spécifiques de ce virus à être positives était très faible (< 4 %) au regard des soumissions pour troubles de la reproduction. Mais cette proportion est passée à environ 20 % de résultats positifs en 2021/2022 et même sur le premier semestre de 2023. Il convenait donc d'évaluer s'il y avait ou non émergence d'un nouveau parvovirus. Le séquençage intégral du génome de plusieurs souches a permis de disposer des séquences du gène de la protéine VP2 de ces virus. Leur caractérisation a montré qu'il y a bien émergence d'un nouveau type génétique de parvovirus porcine, avec des souches dites "27a-like", qui représentent la totalité des cas positifs depuis 2022.

- Pour les rotavirus, le génome comporte 11 segments, et il est intéressant de séquencer les gènes des VP7 (qui indique le type G du virus) et VP4 (qui indique le type P du virus). Ensemble (par exemple G5P7), ces éléments renseignent sur la structure du virus et permettent d'en tracer l'origine (plusieurs virus différents peuvent circuler simultanément dans un élevage), voire d'obtenir des informations sur leur devenir (réassortants...), en plus du type A, B, C ou autre. L'exemple présenté était un cas de 2023, où plusieurs virus ont été identifiés : des G5P7, G9P23 et G9P6.

Pour les perspectives de développement du séquençage parmi les prestations de Labocéa, figure la réalisation d'analyses de métagénomique (séquençage de l'ensemble des acides nucléiques d'un prélèvement), avec une méthodologie semi-quantitative. Cela permettrait par exemple d'indiquer s'il y

a un pathogène dominant dans un élevage. La mise à disposition du séquençage du génome complet du virus SDRP est également prévue.

- Sur la question du délai de rendu des résultats de séquençage, il est actuellement de trois semaines, mais pourrait être raccourci à une semaine. Dans la mesure du possible, le laboratoire effectuant un run par semaine.

- Le coût pourra être réduit si le nombre de séquençages prescrits augmente.

La place des autovaccins en filière porcine



Présenté par la Dre vét. Ingrid Messenger (responsable médico-marketing) et Florence Hérault (responsable de production du service autovaccins).

La production des autovaccins en France est très encadrée sur le plan réglementaire. C'est une activité historique du site de Labocéa-Ploufragan, qui remonte à plus de 25 ans. L'unité de production actuelle a été mise en activité en 2016. Elle est certifiée BPPA (bonnes pratiques de préparations des autovaccins à usage vétérinaire) avec un arrêté d'autorisation délivré par l'Agence nationale du médicament vétérinaire. À l'échelle de la France, la production d'autovaccins a triplé entre 2010 et 2018, montrant l'intérêt de cette solution alternative. C'est un outil intéressant face à des pathologies bactériennes sans solution satisfaisante avec l'arsenal thérapeutique traditionnel, et qui s'inscrit parfaitement dans la lutte contre l'antibiorésistance. La majorité des autovaccins (57 % des doses produites en 2018) concerne l'aquaculture, loin devant le porc (1,5 % des volumes). À Labocéa-Ploufragan, le porc est l'espèce ciblée par la majorité des ordonnances reçues, même si, rapporté au nombre de doses produites, il représente 20 % de l'activité (en volailles, une ordonnance concerne un nombre de têtes nettement plus élevé). Labocéa-Ploufragan est le seul établissement pharmaceutique producteur d'autovaccins en France, qui présente des plateaux techniques multicentriques en matière d'autopsie, de diagnostic bactériologique, d'immunologie, de génomique, de production et de distribution d'autovaccins. Comme

les autovaccins ne sont pas soumis à des essais d'innocuité et d'efficacité, la pharmacovigilance prend une importance particulière, et tous les formulaires correspondants sont en libre accès sur la page "autovaccins" du site internet de Labocéa, précise Florence Hérault. Elle souligne également qu'un délai de 5 à 6 semaines est nécessaire pour les autovaccins porcins, afin que l'ensemble du processus (de la prescription à la livraison à l'élevage) soit réalisé.

Les tests d'activité biocide des désinfectants

Présenté par Ana Cepeda Hontecillas

(ingénieure biologiste). Labocéa-Ploufragan dispose d'une accréditation Cofrac pour les essais d'activité virucide (norme NF EN 14675, accréditation obtenue en 2008), et plus d'un millier d'essais ont été réalisés depuis leur démarrage en 1997, a indiqué Ana Cepeda Hontecillas. Les virus concernés sont l'entérovirus bovin, plusieurs virus aviaires (maladie de Newcastle, bronchite infectieuse, bursite infectieuse) et porcins (virus grippal H1N1 porcine, maladie d'Aujeszky, peste porcine classique, encéphalomyocardite et virus de la diarrhée épidémique porcine). Pour qu'une substance ait une activité virucide caractérisée, il lui faut démontrer un abattement de 4 logs du titre viral (il faut 5 logs pour la bactéricidie et 3 logs pour une activité biocide sur les surfaces). Ana Cepeda Hontecillas a aussi souligné que, depuis le 1^{er} janvier 2024, les professionnels conseillant, vendant et utilisant des biocides sont concernés par la certification Certibiocide : ils ont un délai d'un an pour obtenir leur "certibiocide désinfectants". Cette certification est délivrée à une personne physique (et non morale). Il s'agit de l'ensemble des professionnels qui seraient amenés à utiliser les produits concernés par cette obligation. À ce titre, les vétérinaires praticiens (surtout ceux exerçant en productions animales) en font partie, mais aussi les éleveurs (seulement le donneur d'ordre de l'achat, pas forcément la personne effectuant la commande). Les experts de Labocéa de ce domaine sont amenés à intervenir dans des formations sur le sujet (une journée).

Concernant les perspectives de développement, la mise en place d'essais d'activité bactéricide et fongicide est possible au sein de Labocéa •



En bref



• **AUTOVACCINS** : la Dre vét. Ingrid Messenger a intégré Labocéa-Ploufragan en octobre dernier, en tant que responsable médico-marketing des autovaccins. Elle possède une expérience professionnelle dans l'industrie pharmaceutique, en R&D et comme support technique pour une gamme de vaccins porcins. Ses missions principales consistent à conseiller et accompagner les vétérinaires dans la mise en place des solutions auto-vaccinales destinées essentiellement aux porcs, volailles et ruminants (bovins, ovins et caprins).

• **ONE HEALTH** : Labocéa fait partie du comité d'organisation et du comité scientifique de la conférence internationale sur le One Health, qui se tiendra au Palais des congrès et des expositions de Saint-Brieuc du 12 au 14 juin 2024 inclus.

L'Anses et Innozh font aussi partie des organisateurs. Plus d'informations sur <https://www.oneh2024.fr/>



THE ONE HEALTH CHALLENGES TO TACKLE INFECTIOUS DISEASES
St-Brieuc | 12-13-14 Juin 2024
PALAIS DES CONGRÈS ET DES EXPOSITIONS

LABOCÉA, 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@laboce.fr

