

JOURNÉE AVIAIRE DU 30/01/25

La seconde journée technique organisée par le pôle santé animale de Labocéa s'est déroulée à Ploufragan le 30 janvier 2025. Elle était dédiée à la filière avicole, avec la mise en avant des maladies immunosuppressives aviaires.

Cette session a accueilli une quarantaine de personnes, à la suite de la première journée technique Labocéa de décembre 2023 qui portait sur la filière porcine.

Selon le Dr Vét. Éric Laporte, directeur général, ces journées techniques représentent une opportunité, pour les vétérinaires des différentes filières, de bénéficier des compétences, des connaissances et de l'expertise des spécialistes de Labocéa. En effet, les prestations de Labocéa vont au-delà de l'analyse : elles s'étendent aux audits, à la formation et à la réalisation d'études, souvent menées en partenariat. C'est aussi pour accompagner les évolutions des prestations et de la R&D de Labocéa qu'une nouvelle organisation a été mise en place depuis septembre 2024. La structure par chef d'établissement (un par site de Labocéa) fait à présent place à des pôles : « Santé animale » (dirigé par la Dre Vét. Mouna Abed, depuis septembre 2024), « Agro-alimentaire et eau/environnement », ainsi que « Conseil-ingénierie ».

« Chaque pôle propose des services analytiques et gère ses propres supports techniques, son administration des ventes et les aspects commerciaux », a détaillé la Dre Abed.

« Cela permet un partage du quotidien et de l'expérience, et un maintien de la continuité de l'expérience ».

Le Dr Éric Laporte rappelle aussi que, « au-delà des analyses, de la production de réactifs et d'autovaccins, Labocéa est aussi acteur du soutien à la filière avicole : en 2024, nous avons reçu, avec le Ministère en charge de l'agriculture, des missions d'inspection des USA, du Canada et du Royaume-Uni, dans le cadre de la vaccination des canards contre l'influenza aviaire ».

Il a également remercié les équipes des différents sites pour la rigueur de leur travail et leur investissement jusque dans les contraintes (influenza, peste porcine africaine, etc.).

QUATRE MALADIES VIRALES IMMUNOSUPPRESSIVES AVIAIRES

« Nous diagnostiquons de nombreuses maladies immunosuppressives en aviculture, mais notre choix s'est porté sur les plus marquantes et/ou les plus fréquentes actuellement », a souligné la Dre Vét Nadia Amenna-Bernard, chef de service d'anatomie pathologique à Labocéa-Ploufragan.

- Grâce à la vaccination contre la **maladie de Gumboro** (ou bursite infectieuse virale), les lésions typiquement observées chez les sujets non immunisés — telles que les suffusions des muscles pectoraux, les néphrites accompagnées de dépôts d'urate et les hypertrophies parfois hémorragiques des bourses de Fabricius — ont pu être largement maîtrisées. « On ne retrouve de telles lésions qu'à l'émergence de nouveaux variants ». Le plus souvent, la salle d'autopsie reçoit des sujets présentant des tailles de BF variables : 1 ou 2 normales et d'autres plus petites. L'histologie de la BF révèle alors « des follicules lymphoïdes complètement vides avec exsudat séreux (nécrose) ». En revanche, dans les cas chroniques, les lobules vont présenter des kystes épithéliaux, sans plus aucun rôle fonctionnel. Ainsi, « il y a des cas où les signes cliniques ne sont pas francs, les animaux ne vont pas bien et à l'histologie, la BF présente une déplétion lymphoïde modérée à marquée, témoin du passage viral ».
- Pour l'**anémie infectieuse** aussi, l'arrivée de la vaccination a limité les cas présentant des lésions typiques. Au plan diagnostique, alors que les manifestations typiques se passent autour de 12 jours, les animaux sont le plus souvent amenés au laboratoire de diagnostic vers quatre semaines d'âge, quand l'hétérogénéité apparaît dans l'élevage. Les hémorragies du gésier ont totalement disparu (vaccin), mais il reste des lésions de suffusion, par exemple du thymus (atrophie de certains à tous les lobules). À l'histologie, la structure du thymus est désorganisée, avec une déplétion lymphoïde et la disparition de la différenciation entre corticale et médullaire. La BF est atrophiée, sans la nécrose qui accompagne la Gumboro, et la moelle osseuse peut totalement disparaître (absence de cellules hématopoïétiques et remplacement par des cellules graisseuses).
- Le **syndrome entéritique mortel du dindonneau** (SEMD) est associé à plusieurs pathogènes (coronavirus, astrovirus, réovirus et présence d'*E. coli*). La moelle osseuse des sujets atteints présente une diminution de la densité des cellules hématopoïétiques. Le thymus est atrophié et la BF est elle aussi atteinte. Originalité parmi les maladies immunosuppressives : il peut aussi y avoir des lésions intestinales (entérite régénérative).
- La **maladie de Marek** est devenue « très rare, grâce à la grande efficacité de la vaccination ». Elle se voit « surtout chez la poule, et peut commencer très tôt, mais aussi en cours de ponte, voire au moment de la mue ». Les signes cliniques (parésie des pattes, grand écart) ne sont plus observés qu'en basse-cour. À l'autopsie, les nerfs ont un diamètre hypertrophié, voire des formes tumorales (nodules et infiltration possible du foie). « Il y a aussi une forme cutanée, nodulaire, ou oculaire (iris déformés, changement de couleur) ». À l'histologie, la lésion caractéristique est une infiltration des nerfs par des cellules lymphoïdes. Mais d'autres organes peuvent être concernés : poumons, reins, intestins, ovaires.

GUMBORO : CE QUI CIRCULE EN FRANCE

Plusieurs autres interventions ont porté sur la maladie de Gumboro. La Dre Vét. Mouna Abed a dressé la liste des souches qui circulent en France. Elle précise d'emblée que « aucune souche hypervirulente n'a été détectée récemment au laboratoire (c'est-à-dire avec des segments A et B hypervirulents) ».

Sur le début de la décennie, « en 2021, une communication de l'Anses à la session de l'AMVA a signalé la détection sur le terrain de deux souches vaccinales, qui présentaient des mutations dans la protéine VP2, associées à des cas d'atrophie de la BF. Ces mêmes souches avaient aussi été détectées peu de temps auparavant au Danemark ».

L'année suivante, un virus réassortant A3B1, qui avait déjà été signalé dans sept autres pays européens dès 2020, a été publié par Ceva Santé Animale. « Ce virus provoque une atrophie de la BF sans autres signes cliniques ».

En 2023, une doctorante de l'Anses-Ploufragan a aussi décrit des variants antigéniques dont le génome comporte un segment A

d'origine non déterminée (noté Ax et un segment B1 (souche classique), avec plusieurs mutations dans la VP2 qui ressemblent aux variants observés aux USA.

Enfin, « tout récemment, une souche dont le génome est homologue à celui de souches australiennes classiques a été identifiée. Cette souche est apparentée à une souche vaccinale ». Le cas clinique correspondant ne présentait pas d'originalité : lésions des BF, retard de croissance, et immunodépression.

À Labocéa-Ploufragan, le génome des souches de Gumboro est entièrement séquencé (segments A et B), ce qui permet d'identifier, le cas échéant, la souche A3B1, les souches vaccinales, mais aussi d'autres souches terrain, dont cette surprise récente.

PCR TEMPS RÉEL ET SÉQUENÇAGE GÉNOME COMPLET POUR LA GUMBORO

Lors du diagnostic de Gumboro, la PCR est réalisée « directement à partir de la BF ou à partir d'empreintes de BF sur cartes FTA », précise Marie-Agnès Baudouard (cadre technique PCR – séquençage à Labocéa-Ploufragan).

Cette analyse ne permet pas forcément de différencier une souche vaccinale d'une souche sauvage. Il faut pour cela avoir recours au séquençage du génome. Il se fait :

- soit à partir de petits fragments de l'ADN cible (technique *short read* d'Illumina, ou Ion Torrent), qui est disponible via Labocéa-Quimper depuis 2024 ;
- soit à partir de segments d'ADN conservés (technique *long read*, d'Oxford Nanopore, ou PAC Bio), qui est disponible sur Labocéa-Ploufragan depuis 2021.

« Les résultats des deux techniques sont traités par des outils bio-informatiques, qui fournissent la précision de l'identification de chaque nucléotide de la séquence (un Q-score). Ces séquences sont comparées à une bibliothèque de séquences de souches de références permettant d'établir une caractérisation génétique de la souche virale ».

Toutefois, « même si la génomique est un outil puissant et moderne, les traditionnelles histologie et sérologie sont déterminantes dans une approche complète de suivi et d'étude de la pathogénie de ces maladies », rappelle la Dre Abed.

SÉROLOGIE ET DATE DE VACCINATION GUMBORO

Pour la gestion de la maladie de Gumboro en élevage, « la sérologie permet de surveiller les reproducteurs vaccinés (protection des poussins par immunité maternelle) », indique Elvis Le Bon (adjoint chef de service immunologie-virologie-PCR à Labocéa Ploufragan).

Cette protection maternelle impose de calculer la date de vaccination à venir de ces jeunes animaux : vacciner trop tôt (en présence de niveaux élevés d'anticorps d'origine maternelle) risque d'inhiber la prise vaccinale (vaccins vivants). D'un autre côté, « repousser inconsidérément la date de vaccination crée une fenêtre de réceptivité au virus sauvage » représentant un risque élevé pour la bande.

Les prélèvements peuvent être réalisés sur les poussins d'un jour (entre 1 et 3 jours d'âge, c'est le cas de figure le plus fréquent sur le terrain) pour connaître le statut immunitaire des poussins, ou plus tard (> 3 jours d'âge) pour suivre ce statut immunitaire.

Toutefois, les formules de calcul de l'âge à la vaccination à partir des titres en anticorps neutralisants sont alors différentes.

- Sur des poussins d'un jour, le titre obtenu est entré dans la formule « dite française », adaptée au calcul de date de vaccination par la méthode de Kouwenhoven.
- Au-delà de 3 jours d'âge, le titre sera entré dans la formule dite « classique », qui sera plus adaptée pour un calcul par la méthode dite de Deventer.

Elvis Le Bon souligne que dans leur calcul de la date de vaccination, « les vétérinaires doivent donc sélectionner la formule correspondant bien à l'âge des poussins au prélèvement ».



L'APPROCHE PATHOSENSE

Autre analyse reposant sur le séquençage, la technologie de la plateforme diagnostique PathoSense, nouvellement disponible à Labocéa via un partenariat, a été détaillée par le Dr Vét. Sebastiaan Theuns (université de Gand, Belgique).

Il s'agit de « séquençer sans *a priori* les segments d'acides nucléiques présents dans un prélèvement clinique ». En clair, tous les acides nucléiques présents dans le prélèvement, qu'ils soient bactériens, viraux ou eucaryotes, sont séquençés.

Les séquences sont ensuite comparées et, dans une certaine mesure, quantifiées (outil semi-quantitatif), ce qui permet de fournir un résultat chiffré de proportion d'un ou plusieurs germes, selon un classement du plus au moins fortement présent dans le prélèvement.

Le séquençage est effectué par Labocéa, tandis que l'analyse des données est prise en charge par PathoSense à partir des fichiers partagés via un cloud sécurisé. Ce système permet à Labocéa de récupérer les résultats d'analyse afin de les transmettre au demandeur.

Du côté du demandeur, « l'élément essentiel est d'utiliser le kit de prélèvement approprié – avec la possibilité de regrouper

jusqu'à cinq sujets par kit – afin de permettre l'extraction des acides nucléiques, précédée d'une prépurification rapide réalisée sur place (une minute) », souligne le Dr Theuns.

Les cinq écouvillons peuvent être prélevés sur le terrain, auprès de sujets malades, ou en salle d'autopsie. Ils peuvent également provenir de différentes matrices d'un même animal, comme des écouvillons nasaux, conjonctivaux ou cloacaux, par exemple.

« *Le plus important est de sélectionner des sujets présentant les signes les plus aigus* » et évidemment « *ce n'est pas à utiliser en cas de suspicion d'une maladie réglementée* ». La Dre Abed illustre le recours à PathoSense par deux exemples récents : un cas de Gumboro où les séquences intégrales du génome viral ont été obtenues, mais aussi une présentation atypique d'un cas d'influenza avec lésions articulaire, où dans ce cas le seul génome d'un virus H5HP a été identifié dans le liquide synovial (là aussi, la souche a été transmise au LNR).

LES MYCOPLASMES PRENNENT DU TEMPS

Marie-Hélène Bâyon-Auboyer (cadre technique microbiologie vétérinaire à Labocéa-Ploufragan) a expliqué la raison du délai de certains résultats d'analyses – imputables aux mycoplasmes aviaires.

« *Bien que n'étant pas sur le devant de la scène sanitaire, elles persistent à poser des problèmes en élevage, malgré une prophylaxie sanitaire, des vaccinations et des traitements antibiotiques. Et leur diagnostic est une nécessité réglementaire, en plus du risque économique et sanitaire pour l'élevage et ses voisins, ainsi que l'organisation de production* ».

La culture bactérienne reste de mise car les lésions sont peu spécifiques, la sérologie peut manquer de sensibilité (sujets vaccinés) et n'identifie pas toutes les espèces – pas plus que la PCR.

Ainsi, la culture bactérienne, bien qu'elle puisse paraître dépassée, reste toujours pratiquée. Cependant, elle demeure une méthode exigeante : elle nécessite des milieux spécifiques enrichis, du personnel qualifié et beaucoup de temps. Mais elle fournit un diagnostic de certitude « *et permet d'autres analyses : CMI, facteurs de virulence...* ».

La bactériologie se réalise avec deux milieux en parallèle, tout au long de l'analyse : milieu gélosé et ensemencement de bouillon dilué pour limiter les inhibiteurs. L'incubation se poursuit tant qu'il n'y a pas de culture apparente (lecture une à deux fois par jour).

Un repiquage systématique

« Si aucune colonie n'est détectée au jour 7, un repiquage est systématiquement effectué, suivi d'une nouvelle incubation de sept jours. Ce n'est qu'en l'absence totale de colonies présentant des caractéristiques de mycoplasmes au jour 14 que le résultat est déclaré négatif. » Ce qui explique les délais rencontrés par nos prescripteurs.

Si la culture est positive, « *il faut au moins 20 jours* ». Car à partir du milieu gélosé, un repiquage de trois colonies différentes est réalisé en bouillon et « *cela peut prendre 10 jours pour être positif, mais cela peut parfois prendre un mois* » ; à partir du bouillon (lorsque le milieu gélosé n'a rien donné), il faudra ensuite cultiver sur gélose car c'est le support nécessaire pour pouvoir réaliser une identification. « Et, là encore, le délai est important ».

Ensuite, l'identification se fait soit par détermination des caractères biochimiques, soit antigéniques, soit par PCR ou encore par spectrométrie de masse (en Maldi-Tof : 19 spectres décrivant autant d'espèces sont à présent disponibles chez Labocéa).

C'est une analyse peu demandée (27 en 2022, 13 en 2023, 18 en 2024), mais qui, outre les obligations réglementaires, permet d'entretenir l'expertise de l'équipe. À noter que, « *dans 40 % des cas, il y a au moins deux espèces de mycoplasmes par prélèvement* ».



TROIS ANS DE RÉTROSPECTIVE BACTÉRIOLOGIQUE

Dans sa rétrospective de trois années du laboratoire de bactériologie en aviaire, le Dr Vét. Mustapha Fellag, chef de service bactériologie microbiologie vétérinaire (Labocéa-Ploufragan) a pris en compte uniquement les élevages professionnels, hors salmonelles et mycoplasmes.

Cela représente plus d'un millier de dossiers (un dossier peut contenir d'un à plusieurs lots d'animaux), localisés à 91 % en Bretagne. Les trois quarts (78 %) des prélèvements sont réalisés sur animaux adressés « entiers » au laboratoire.

Il s'agit à 84 % de l'espèce *Gallus gallus*, avec une majorité en filière ponte, environ un quart en poulets de chair et à la marge des reproducteurs. Près de la moitié (47 %) concernent des poussins d'un jour ou leur démarrage.

« Derrière le contrôle systématique des poussins d'un jour (33 %), la première cause de demande d'analyse est la mortalité (28 %), devant la colibacillose, les affections locomotrices et la prostration (6 % chacune) ».

Les pathogènes dominants et par filière

- En **ponte**, sur les poussins de 1 à 3 jours, la recherche d'*Aspergillus* sur fragments de poumons fournit un résultat négatif dans 81 % des cas. Parmi les positifs, 6 % des lots soumis (10 poussins) étaient positifs sur tous les poussins. Sur coproculture, *E. coli* est le plus fréquent (> 50 % dont à peine 10 % sont typables), devant *Enterococcus faecalis* (41 %) et *Enterococcus cecorum* (3 %). « Il n'a été détecté aucun cas de *Pseudomonas* sur les 3 dernières années ».

- Chez les **poulettes** (de 4 jours à 17 semaines), c'est aussi *E. coli* qui domine (54 % de positifs, dont 13 % de souches typables), devant *Enterococcus faecalis* (31 %) et *Enterococcus hirae* (19 %).
- Chez les **pondeuses**, la septicémie constitue la dominante pathologique, avec plus de la moitié des cas (54 %) à *E. coli* - dont la moitié sont typables. Le rouget représente alors 6 % des cas. *E. coli* domine aussi la pathologie respiratoire ; sur les troubles locomoteurs, *Enterococcus cecorum* (33 %) et *Enterococcus faecalis* (25 %) se taillent les premières places.
- Pour les **poulets de chair**, le motif des troubles locomoteurs est dominant (21 % des demandes) devant la mortalité (15 %) et la colibacillose (11 %). Plus du tiers (37 %) des septicémies sont à *E. coli* (une souche sur deux est typable). Comme pour les troubles locomoteurs, c'est O78:K80 qui domine.

Enfin, pour mémoire, « pour les sérotypages d'*E. coli*, Labocéa est fabricant des réactifs et fournit une partie des autres laboratoires publics et privés de diagnostic vétérinaire en France ».

AUTOVACCINS : EN DÉVELOPPEMENT

La production d'autovaccins se fait dans une unité et équipe dédiées, au sein d'un bâtiment sous atmosphère contrôlée ; l'ensemble des installations étant inspectées régulièrement par l'Agence nationale du médicament vétérinaire.

Entre 2010 et 2018, un triplement du nombre de doses d'autovaccins produites a été observé à l'échelle nationale, toutes espèces confondues. « C'est une augmentation qui se produit chez tous les producteurs » explique la Dre Vét. Ingrid Messager, responsable médico-marketing (Labocéa-Ploufragan).

Plus de 80 % des doses fabriquées chez Labocéa sont à destination des volailles, même si le porc est le premier destinataire en nombre de prescriptions. Les principales pathologies ciblées en aviculture sont la colibacillose, la pasteurellose, l'ornithobactériose et la riemerellose. « Il y a aussi quelques cas pour le rouget, qui correspondent à une nouvelle autorisation du fait de l'absence de vaccin avec AMM volailles ».

Florence Hérault (PhD, responsable production autovaccins) a souligné l'importance de l'expertise de Labocéa, qui offre des services pour l'ensemble du processus : du choix de la souche d'intérêt et de sa caractérisation, assurés par les services d'autopsie et de bactériologie, à la production.

Le service autovaccins poursuit son développement grâce à des investissements dans le personnel et les infrastructures, tout en proposant de nouvelles offres pour mieux répondre aux besoins des vétérinaires et des éleveurs.

TESTS D'ACTIVITÉ VIRUCIDE DES DÉSINFECTANTS

Pour les tests d'activité virucide, qui sont effectués à Labocéa-Ploufragan, les contraintes varient avec les produits et leur utilisation.

« Par exemple pour la virucidie de surface, l'abattement minimal de l'infectiosité est de trois logs, mais en suspension, il faut atteindre quatre logs au moins. Pour la bactéricidie, il faut au moins cinq logs », a détaillé Ana Cepeda Hontecillas (ingénieure biologiste).

Plus d'un millier d'essais ont été réalisés depuis leur démarrage en 1997 (accréditation Cofrac). « À Labocéa, un panel de virus important est disponible : le virus de la norme (EN14675) est l'entérovirus bovin, mais par exemple dans le domaine aviaire il est possible de réaliser des tests d'activité biocide sur les virus

influenza A H1N1, de la maladie de Newcastle ou de la maladie de Gumboro. Les lignées cellulaires et cellules primaires nécessaires sont aussi disponibles, par exemple les fibroblastes de poulets ».

Ana Cepeda Hontecillas a présenté des exemples pratiques de lecture des allégations de différents produits à partir de leurs fiches techniques, avec par exemple un produit revendiquant une activité antiparasitaire sur les coccidies, ne portant pas mention de la norme utilisée pour l'essai.