



anses



LABORATOIRE DE SOPHIA ANTIPOLIS

Rapport d'activité 2020

Le laboratoire de Sophia Antipolis comprend une trentaine de personnes, et deux unités de recherche et de référence, sur les pathologies de l'abeille et la fièvre Q animale. Il détient plusieurs mandats de référence, aux niveaux national et international sur ces deux thématiques. Il est également laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé des abeilles et Laboratoire de référence pour la recherche de résidus pesticides en association avec le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses. Les équipes mettent en œuvre des projets de recherche appliquée à partir d'observations sur le terrain (élaboration de moyens de prévention, études des modes de transmission des maladies...) et fournissent un appui scientifique et technique aux services vétérinaires (encadrement de réseaux de laboratoires agréés, mise au point de méthodes de diagnostic, fourniture de réactifs...). Enfin, le laboratoire concourt à la surveillance épidémiologique de la fièvre Q et des phénomènes de mortalité des colonies d'abeilles.

CHIFFRES CLÉS

5 articles scientifiques dans des revues internationales

108
analyses

938
prélèvements traités

1 essai interlaboratoire organisé

L'activité du laboratoire en 2020 a été fortement marquée par la pandémie de la COVID-19. Il a pu maintenir ses activités régaliennes afin d'assurer la continuité du service public (diagnostic des maladies réglementées, fourniture de matériaux de références ...), grâce à la mise en place d'un plan de continuité d'activités. En revanche, les projets de recherches et les activités de référence ont été impactés. L'année 2020 a été également marquée par une diminution du nombre de demande d'analyses reçues par le laboratoire, probablement du fait d'une baisse du nombre de visites sanitaires sur le terrain. Certaines activités ont dû être reportées ou décalées, comme l'organisation d'essais interlaboratoires, tandis que des ateliers ou des réunions ont pu être organisés à distance, dans le cadre de ses missions d'animation de réseaux de laboratoires français et européens. Malgré cela des résultats notables ont été obtenus dans les deux domaines d'activités du laboratoire.



SANTÉ DES ABEILLES

APPUI POUR L'APPLICATION DE LA LOI EUROPÉENNE DE SANTÉ ANIMALE ET SURVEILLANCE DE LA MORTALITÉ DES ABEILLES

La nouvelle loi européenne de Santé animale, qui est entrée en vigueur en avril 2021, liste quatre maladies des abeilles règlementées au niveau de l'Union européenne : l'infestation par *Aethina tumida*, l'infestation par *Tropilaelaps* spp., l'infestation par *Varroa* spp. (varroose) et la loque américaine. En 2020, un appui scientifique et technique a été fourni auprès de la Direction générale de l'alimentation et de la filière apicole, dans le cadre de la déclinaison nationale de ce règlement.

En outre, le Laboratoire a renouvelé son implication dans l'enquête nationale de mortalité hivernale des colonies d'abeilles, en lien avec plusieurs organisations apicoles. Cette troisième enquête a été lancée le 15 juin 2020 sous la forme d'une enquête en ligne auprès des 56 844 apiculteurs qui avaient déclaré leurs ruches fin 2019. Une partie concernant la gestion du varroa a été ajoutée dans le questionnaire, suite à la demande d'organisations sanitaires. Le questionnaire comportait également une question relative à l'impact de la crise Covid-19 sur le suivi sanitaire des colonies. Les résultats seront disponibles prochainement sur le site de la plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale sur laquelle ont été publiés les résultats de l'enquête 2018-2019.

ACTIVITÉS DE RÉFÉRENCE SUR LES PATHOGÈNES

La continuité des activités de référence a été maintenue malgré les périodes de confinement et les restrictions en lien avec la crise sanitaire. Une nouvelle méthode pour l'identification des champignons parasites *N. apis* et *N. ceranae* par PCR en temps réel (PCR-TR) a été évaluée et accréditée par le Comité français d'accréditation. Elle remplacera la méthode de PCR conventionnelle.

Les méthodes d'identification morphologique et moléculaire du petit coléoptère des ruches ont été également révisées, afin de mieux répondre aux enjeux de diagnostic de ce danger sanitaire exotique, détecté en 2014 dans le sud de l'Italie et encore absent dans le reste de l'Europe. Notamment, une méthode d'identification moléculaire des larves a été validée et accréditée par le COFRAC. Enfin, une méthode de recherche et de quantification de plusieurs virus de l'abeille par PCR-TR a été mise à disposition et adoptée par trois laboratoires du réseau abeilles.



ACTIVITÉS DE RÉFÉRENCE SUR LES RÉSIDUS DE PESTICIDES

Les travaux de développement analytique et de validation visant à étendre le spectre de molécules phytosanitaires recherchées dans différentes matrices apicoles se sont également poursuivis. Par exemple, deux méthodes d'analyse multirésidus dans le nectar ont été mises au point et appliquées sur des échantillons prélevés sur le terrain dans le cadre du projet européen *PoshBee*. La méthode de dosage par LC-MS/MS¹ des néonicotinoïdes dans le pollen a été étendue à une nouvelle molécule, le sulfoxaflor. Enfin, des analyses des résidus de néonicotinoïdes dans des pollens et des nectars ont été réalisées dans le cadre de plusieurs études sur la surveillance des contaminations de l'environnement par les produits phytosanitaires.

Impact d'une co-exposition à un pesticide et à un virus sur les abeilles en conditions naturelles

L'exposition à de multiples facteurs de stress contribue au déclin des colonies d'abeilles mellifères. Cependant, la façon dont la co-exposition à ces facteurs peut modifier la survie et le comportement des abeilles mellifères vivant en liberté est peu connue. Les résultats d'un travail de thèse cofinancé par l'Anses et INRAE sur l'interaction potentielle entre un pesticide néonicotinoïde, le thiaméthoxame, et un pathogène très répandu de l'abeille domestique, le virus des ailes déformées (DWV) ont été publiés en 2020. Des abeilles marquées ont été exposées au DWV par alimentation ou injection, et / ou à des doses de thiaméthoxame comparables à celles retrouvées sur le terrain, puis laissées dans des colonies équipées de compteurs d'abeilles optiques, afin de surveiller l'activité de vol. Les charges de DWV et l'expression des gènes immunitaires ont été quantifiées. Une réduction du niveau d'expression de la vitellogénine a été observée chez les abeilles ayant reçu une injection de DWV et a été associée à un début précoce de recherche de nourriture. L'exposition combinée au DWV et au thiaméthoxame n'a pas entraîné de charges de DWV plus élevées que celle des abeilles exposées uniquement au DWV. En revanche, elle a induit une recherche de nourriture plus précoce, a augmenté le risque de ne pas retourner à la ruche après le premier vol et a diminué la survie par rapport à une exposition à un stress unique. Nous avons donc fourni la première preuve d'interactions délétères entre DWV et thiaméthoxame dans des conditions naturelles.

¹ Chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse.

CO-EXPOSITIONS ET FACTEURS DE STRESS

Côté recherche, les résultats d'une étude portant sur l'impact d'une co-exposition pesticide-virus sur les abeilles en conditions naturelles ont été publiés (voir encadré page 5).

Dans le cadre du projet européen *PoshBee*, dont le laboratoire pilote l'un des *work packages*, de nouvelles méthodes de détection et de quantification de plusieurs agents pathogènes de l'abeille ont été développées, de même que des méthodes de quantification de pesticides dans les nectars. Par ailleurs, une base de données a été mise en place pour recueillir les résultats des partenaires du projet.

Organisation du premier test circulant sur un parasite exotique en Europe

Dans le cadre de ses missions de référence, le laboratoire organise annuellement un ou plusieurs essais inter-laboratoires pour les réseaux de laboratoires qu'il pilote. Ces essais visent à évaluer la compétence de ces laboratoires à appliquer les méthodes de diagnostic. Cette année, pour la première fois, le laboratoire a organisé un essai sur l'acarien pathogène des abeilles, *Tropilaelaps*, dont l'infestation est règlementée au niveau européen. Cet acarien est originaire d'Asie et absent en Europe. Les laboratoires de l'Union européenne agréés pour sa détection doivent appliquer des méthodes de diagnostic fiables et robustes, afin de réagir rapidement en cas d'introduction de l'acarien sur le continent. Le LRUE Santé de l'abeille a été confronté à l'extrême difficulté de se procurer des acariens de l'espèce visée pour réaliser les essais. Il a donc utilisé un format inédit : un test circulant. Un unique panel de spécimens a été préparé, contrairement aux essais inter-laboratoires classiques où un panel est constitué pour chaque laboratoire participant. Ce panel a été envoyé successivement aux laboratoires de l'Union européenne participants. Entre chaque envoi, le LRUE a vérifié l'intégrité des échantillons. Cet essai, incluant six laboratoires s'est étalé sur 10 mois. Le succès de son organisation démontre la possibilité de réaliser des tests circulants à plus grande échelle et, ainsi, palier le nombre réduit de spécimens de référence. Par ailleurs, le test a démontré la reproductibilité de la méthode d'identification morphologique développée par le LRUE et utilisée par les participants.



FIÈVRE Q ANIMALE

SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE : APPROCHE « UNE SEULE SANTÉ » DE LA FIÈVRE Q

Le Laboratoire a poursuivi son implication sur les investigations en santé publique coordonnées par la Direction générale de la santé et la Direction générale de l'alimentation, concernant des situations de cas humains groupés de fièvre Q. Un groupe d'investigation au sein de la plateforme épidémiologique en santé animale a été créé, afin de prendre en compte le plus en amont possible les réflexions à la fois en santé animale et en santé humaine. Ce groupe a été en particulier sollicité pour mettre en place des mesures préventives vis-à-vis de la fièvre Q dans un lycée agricole dans lequel une circulation de la maladie a été mise en évidence. Des cas humains avaient été rapportés l'année précédente dans un autre lycée agricole, dont la surveillance a été prolongée par le laboratoire en 2020 (voir encadré page 10). Ces situations montrent les difficultés à définir les conduites à tenir dans le cas particulier des structures pouvant accueillir du public (ferme pédagogique, lycée agricole, vente directe, camping à la ferme, foire et manifestation culturelle occasionnelle, zoo, etc.), et l'importance des descriptions de cas et des retours d'expériences.

Dans le but de mutualiser les compétences du laboratoire national de référence sur la fièvre Q animale et celles du centre national de référence sur la fièvre Q humaine, porté par l'institut hospitalier universitaire Méditerranée infection, une convention de partenariat scientifique a été signée en 2020. Cette collaboration va permettre de progresser sur la comparaison des génomes de *C. burnetii* isolés d'animaux ou de l'environnement et de patients. Les méthodes de génotypage pourront également être améliorés, pour une meilleure compréhension des conditions d'émergence des cas humains.

Enfin, une étude épidémiologique en collaboration avec l'université de São Paulo (Brésil) a permis de mettre en évidence un risque de contamination pour les travailleurs en laboratoire (voir encadré page 8).



AMÉLIORATION DES OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE Q EN ÉLEVAGE DE RUMINANTS

Dans le cadre d'un travail de thèse de doctorat réalisé à l'Anses en partenariat avec VetAgro Sup et INRAE, une étude comparant les performances des trois tests commercialisés pour détecter cette infection chez les animaux a été finalisée. Les travaux, réalisés en collaboration avec la Fédération nationale des groupements de défense sanitaire, le CNRS et l'Institut de l'élevage, permettront de mieux interpréter les résultats obtenus, pour un meilleur dépistage de la maladie.

Les performances des trois tests sérologiques commercialisés pour diagnostiquer l'infection chez les ruminants ont été comparées. Ceci a permis de mettre en évidence que les trois tests ELISA ont une spécificité élevée, c'est-à-dire qu'ils identifient correctement les animaux sains. En revanche, leur sensibilité, qui est la capacité à détecter de façon fiable les animaux porteurs d'anticorps contre la bactérie, est plus faible et varie selon les tests et les espèces (entre 39,3 % et 93,8 %). Le nombre optimal d'animaux à tester pour dépister l'infection à l'échelle des troupeaux a également été déterminé. Selon le test et l'espèce, celui-ci varie de trois à plus de vingt. Suite à cette étude, il est prévu de développer une application, pour aider les laboratoires d'analyse à interpréter la fiabilité des résultats et donc la probabilité que le résultat positif ou négatif obtenu pour un animal soit exact. L'ensemble de ces résultats a été soumis pour publication dans une revue scientifique.

Fièvre Q : un risque dans les abattoirs au Brésil

Dans le cadre d'une collaboration scientifique avec l'université de São Paulo, au Brésil, une étude a été menée pour estimer le risque que les travailleurs dans les abattoirs de cet état brésilien soient infectés par *C. burnetii*, responsable de la fièvre Q. La prévalence de *C. burnetii* chez les bovins, principal réservoir du pathogène, a donc été évaluée. Un test d'immunofluorescence (IFA) a été réalisé sur 1 515 échantillons de sérum de bovins prélevés dans neuf abattoirs. 23,8 % étaient positifs, indiquant une exposition passée ou récente à une infection à *C. burnetii*. Parmi les 54 villes échantillonnées au cours de l'étude, 83,3 % avaient au moins un animal séropositif. Tous les échantillons positifs ont été testés par qPCR, et l'ADN de *C. burnetii* a été détecté dans 12,2 % des cas, suggérant ainsi une infection active ou récente. Ces résultats très importants mettent en évidence le risque pour les travailleurs des abattoirs résultant de l'exposition aux aérosols contaminés produits lors des procédures d'abattage. Les résultats de cette étude ont été publiés en 2020 dans la revue *PlosOne*.



PERSPECTIVES ET PROJETS ENGAGÉS

LE PROJET EXPAIRCOX

En 2017, des cas humains groupés de fièvre Q avaient été signalés aux alentours de Niort. Après le constat d'une circulation de la fièvre Q dans près de la moitié des troupeaux testés du secteur, un projet associant plusieurs acteurs (INRAE, Anses Sophia Antipolis et Niort, laboratoire Qualyse) a été mené en 2018 et 2019. Des prélèvements de poussières ont été réalisés dans 300 bâtiments d'élevages de ruminants (bovins, ovins, caprins) et dans des lieux publics. Les résultats montrent que l'ADN de *C. burnetii* était très fréquemment présent dans l'environnement des fermes, parfois avec des quantités très élevées. En 2020, sept élevages caprins fortement positifs ont été sélectionnés pour suivre l'exposition aérienne lors des opérations de manipulation de fumier et d'épandage. Ces deux études permettent d'apporter des données pour mieux protéger les travailleurs agricoles et la population. Pour l'ensemble des échantillons positifs, des génotypages des souches sont prévus. Pour cela, le laboratoire a produit un panel de souches de *C. burnetii* représentatives, qui sera également utilisé pour produire un anticorps dirigé contre les spores de *C. burnetii*. Le but est de mettre au point un test de viabilité rapide et applicable aux échantillons environnementaux pour évaluer le risque infectieux des bactéries présentes dans l'environnement. En parallèle, un volet sciences humaines et sociales permettra d'étudier comment sont construits et pris en charges les risques par les experts, les gestionnaires et les éleveurs.

L'UNITÉ MIXTE TECHNOLOGIQUE PROTECTION DES ABEILLES DANS L'ENVIRONNEMENT (PRADE)

Le laboratoire a rejoint en 2020 l'unité mixte technologique Protection des abeilles dans l'environnement, regroupement d'acteurs de la recherche et de l'innovation, labellisé par le ministère de l'Agriculture, de l'alimentation, et de la pêche. Elle associe notamment l'Institut des filières animales et végétales, l'Institut de l'abeille, l'association pour le développement de l'apiculture provençale, INRAE et donc, pour la première fois, l'unité pathologie de l'abeille de l'Anses à Sophia Antipolis. Dans le cadre de cette UMT, des collaborations ont d'ores et déjà été engagées. Ainsi, le laboratoire construit un projet sur la modélisation de l'impact de l'introduction du petit coléoptère des ruches sur la filière française, avec plusieurs partenaires de l'UMT. Par ailleurs, le laboratoire s'est engagé dans le co-encadrement d'une thèse, avec un partenaire de l'UMT, qui débutera en 2021, sur les interactions virales chez l'abeille mellifère et leurs conséquences sur la dynamique des colonies.



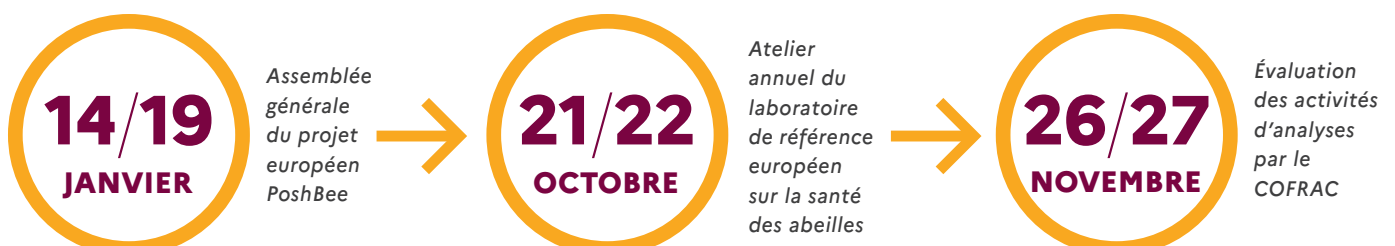
Investigation épidémiologique suite à des signalements de cas humains de fièvre Q

Fin janvier 2019, des premiers cas humains de fièvre Q ont été signalés à l'Agence régionale de santé Nouvelle-Aquitaine. Il s'agissait d'élèves d'un lycée professionnel agricole doté d'une exploitation ovine laitière. La fièvre Q avait provoqué des avortements chez quelques brebis de l'élevage. Sur les 12 suspicions de cas humains, 5 ont été confirmés en mai 2019 et aucun nouveau cas n'est apparu. Néanmoins, près de 300 personnes pouvaient être considérées comme exposées (élèves, personnels). Ce contexte a incité les acteurs de santé publique et vétérinaire à conduire des investigations et à préconiser des mesures de gestion.

La première mesure a été l'arrêt des activités d'accueil du public. L'ensemble des animaux a été vacciné. La bergerie a été curée et le fumier, entassé à l'abri du vent, puis composté. Deux nettoyages et désinfections ont été réalisés en 2019. Le suivi de l'évolution des niveaux de bactéries a révélé une diminution puis une absence d'excrétion par les animaux en 2020, mais une quasi-totale inefficacité des nettoyages et désinfections, avec une persistance d'une forte quantité de bactéries dans l'environnement. La contamination des bâtiments a diminué uniquement dans la zone de la fromagerie. L'effet des nettoyages et désinfections était négligeable et la faisabilité complexe. Le curage du fumier a généré une légère augmentation, probablement du fait de la remise en suspension des poussières. Les laines étaient nettement positives l'année qui a suivi l'épisode d'avortements, y compris au retour d'estive. Une baisse significative a été mesurée seulement au retour d'estive la seconde année d'étude.

Globalement, la transmission à la population humaine a été faible par rapport à la forte excrétion et la forte contamination du milieu. Les tests quantitatifs utilisés pour évaluer la contamination environnementale sont essentiels pour cette zoonose transmissible par voie aérienne. Néanmoins les bactéries mortes comme vivantes peuvent être détectées par PCR en temps réel. Des évolutions techniques sont donc nécessaires pour permettre de définir les niveaux de risques et les critères de levée des mesures, notamment des interdictions d'activités d'accueil du public.

CHRONOLOGIE



PRINCIPALES PUBLICATIONS

Benkirane, Y., C. Dupuy, M. Laurent, C. Ruger, C. Sourdeau, J. Vallon, et S. Wendling. 2020. «Enquête nationale sur les mortalités hivernales des colonies d'abeilles. Mortalité des colonies d'abeilles durant l'hiver 2018-2019. Résultats descriptifs pour la France métropolitaine.» *La santé de l'abeille* 300: 508-529.

Dubois, E. et A. Dalmon. 2020. «Relations entre le virus des ailes déformées, l'acarien *Varroa destructor*, l'abeille mellifère et leurs conséquences sur la santé des colonies.» *La santé de l'abeille*, 181-194.

Bicudo de Almeida-Muradian L., D.Barth, O. Dietemann, M. Eyer, A. Da Silva de Freitas, A.-C. Martel, G. Marcazzan, C. Marchese, C. Mucignat-Caretta, A. Pascual-Maté, W. Reybroeck, M. Sancho, and J. Gasparotto Sattler. 2020. «Standard methods for *Apis mellifera* honey research.» *Journal of Apicultural Research* 59 (3): 1-62.

Coulon, M., A. Dalmon, G. Di Prisco, A. Prado, F. Arban, E. Dubois, M. Ribiere-Chabert, C. Alaux, R. Thiéry, and Y. Le Conte. 2020. «Interactions Between Thiamethoxam and Deformed Wing Virus Can Drastically Impair Flight Behavior of Honey Bees.» *Front Microbiol* 11: 766.

Medkour, H., B. Davoust, M. Angelakis, R. Thiéry, D. Raoult, E. Rousset, P. Parola, and C. Eldin. 2020. «A sporadic case of acute Q fever and identification of the animal source of the infection.» *Folia Microbiologica*. <https://doi.org/doi:10.1007/s12223-020-00788-3>.

Mioni, M. S. R., F. B. Costa, B. L. D. Ribeiro, W. S. R. Teixeira, V. C. Pelicia, M. B. Labruna, E. Rousset, K. Sidi-Boumedine, R. Thiéry, and J. Megid. 2020. «*Coxiella burnetii* in slaughterhouses in Brazil: A public health concern.» *PLoS One* 15 (10): e0241246.

Wendling, S., F. Meziani, P. Hendrikx, et S. Franco. 2020. « Bilan de la surveillance des maladies règlementées et troubles de l'abeille mellifère *Apis mellifera* pour l'année 2016. » *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. Numéro spécial maladies animales règlementées et émergentes: 20.



Audit interne selon la norme ISO 17043, concernant les programmes d'essais d'aptitude



Réunion du réseau des laboratoire agréés en pathologie de l'abeille



anses

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Laboratoire de Sophia Antipolis
Les Templiers - 105, route des Chappes
BP 111 - 06902 SOPHIA ANTIPOLIS

www.anses.fr

@Anses_fr

CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER