



Rapport annuel d'activité, année 2024

Laboratoire National de Référence

Peste porcine africaine

Nom du responsable du LNR

Marie-Frédérique LE POTIER : jusqu'au 30/09/2024 ; Olivier BOURRY : à partir du 1/10/2024

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort -- site de Ploufragan

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Unité Virologie Immunologie Porcines

Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat

Selon la loi santé animale, la PPA est classée ADE, correspondant à une obligation de déclaration, de surveillance, de prévention, de certification et de Plan d'Intervention Sanitaire d'Urgence (PISU) pour une éradication immédiate dès détection.

Comme il est impossible de distinguer sur le plan clinique la PPA, de la Peste Porcine Classique (PPC), le recours au diagnostic de laboratoire différentiel PPC/PPA est indispensable pour confirmer ou infirmer une suspicion.

Les faits marquants de l'année

Du point de vue de l'épidémiologie de la maladie :

- En Allemagne, en juin 2024 la PPA a fait un bon de plus de 450 km vers l'Ouest pour atteindre la Rhénanie-Palatinat puis le land de Hesse où la maladie est active dans le compartiment sauvage.
- Point positif à noter, la Sardaigne (où la PPA, génotype I, avait émergé en 1978) a recouvré son statut indemne. De la même façon, la Suède où la maladie avait émergé en septembre 2023 a retrouvé son statut indemne à l'automne 2024.

Du point de vue de l'activité du LNR :

- En avril 2024, le LNR a lancé un appel à manifestation d'intérêt (AMI) pour la validation de nouvelles trousse de diagnostic PCR PPA (par rapport aux kits actuellement validés en France, ajout d'un contrôle interne exogène et de nouvelles matrices). Sept producteurs ont répondu à cet AMI. Les résultats des évaluations sont attendus courant février 2025.
- Les travaux de recherche relatifs à notre candidat vaccin PPA se sont poursuivis en 2024. Suite à l'adaptation de notre souche à se multiplier sur lignée cellulaire nous avons pu bénéficier d'un programme de maturation de la SATT Ouest Valorisation. Nos travaux nous ont permis de (i) produire une souche mère pure et caractérisée, (ii) vérifier la stabilité de cette souche in vitro, (iii) mettre au point un modèle d'infection sur porcs d'élevage avec une souche récente de PPA et (iv) évaluer la sécurité et l'efficacité vaccinale de la souche mère sur porcs d'élevage. La dernière étape visant à évaluer la stabilité de la souche après passages répétés sur porcs est en cours et se terminera mi-2025.
- Changement de responsable du LNR PPA. Suite au départ en retraite de Marie-Frédérique Le Potier, Olivier Bourry (précédemment responsable adjoint) a pris la responsabilité du LNR depuis le 1er octobre 2024.

Abréviations

- PPA : peste porcine africaine
- PPC : peste porcine classique
- IFMA : méthode de détection d'anticorps contre le virus de la PPA par immunofluorescence sur cellules infectées par le virus de la PPA

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Le virus de la PPA peut être mis en évidence par isolement du virus, ou par détection du génome viral par PCR à partir d'organes (amygdales, rate, ganglions), de sang de porcs virémiques, prélevé sur tube EDTA ou sur écouvillon sec ou de sérum. Dans le cadre des travaux préparatoires à l'AMI PCR PPA, la méthode PCR PPA selon Tignon (méthode PCR interne de référence) a été révisée.

Nous avons ainsi :

- Validé l'extraction automatisée sur billes magnétiques avec le kit NucleoMagVet
- Ajouté les matrices exsudat musculaire, buvard et chiffonnettes environnementales
- Ajouté cette méthode et ces matrices à nos lignes d'accréditation

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

1 méthode(s)

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes

Méthode de détection du génome du virus de la PPA par PCR temps réel selon Tignon. Les modifications suivantes ont été apportées :

- Ajout de la méthode d'extraction automatisée par adsorption sur billes magnétiques avec le kit NucleoMagVet (Macherey-Nagel)
- Ajout des matrices exsudat musculaire, buvards, chiffonnettes environnementales (en plus des matrices « classiques » : sang et pools de 5 sangs, écouvillons de sang, sérum ou plasma, rate, amygdales, ganglions lymphatiques)

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse**3.1 Analyses officielles de première intention****Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année**

1 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

ELISA PPA : Requête du tribunal judiciaire de Dijon dans le cadre d'un dossier de détention illégale d'un sanglier

3.2 Analyses officielles de seconde intention**Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année**

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de seconde intention

IFMA : Analyse mise en œuvre lorsqu'un résultat douteux ou positif est généré avec les kits commerciaux ELISA. En diminution

3.3 Autres analyses**Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR**

4180 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le LNR assure les contrôles sanitaires de l'élevage expérimental du site (60 sérologies).

Dans le cadre de ses activités de référence, le LNR a mis en œuvre 1851 analyses.

Ces analyses sont réalisées pour :

- L'organisation des EILA, la participation du LNR aux EILA qu'il organise ainsi que la participation à l'EILA du LRUE.
- La préparation des réactifs de référence
- La validation des méthodes/appareils
- L'habilitation des personnels
- Les contrôles de réactifs commerciaux initiaux et lot par lot

Dans le cadre de ses projets de recherche et développement, le LNR a réalisé 2269 analyses. Le nombre total des analyses réalisées est plus faible qu'en 2023 (5579). Cette baisse du nombre d'analyses est en lien avec le design des essais expérimentaux de 2024.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année
Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

- Au plan national : le LNR a participé à l'EILA PCR PPA qu'il a organisé.
- Au plan européen, le LNR a participé à l'EILA portant sur les méthodes sérologiques : ELISA et IFMA et sur les méthodes virologiques : PCR et Isolement viral, organisé par le Laboratoire de Référence de l'UE

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Oui

Types de réactifs produits (antigènes, kits, autres)

Les réactifs produits par le LNR PPA pour son fonctionnement sont essentiellement des souches virales et des cellules primaires ou de lignée pour la culture du virus PPA:

- Antigène (cultures cellulaires infectées) nécessaire à la mise en œuvre de la méthode IFMA utilisée pour le diagnostic sérologique de référence
- Macrophages alvéolaires porcins (PMA) pour la culture du virus PPA

Nombre de lots produits dans l'année

PMA : 4 lots, Plaque IFMA : 1 lot

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Constant

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de réactifs produits et fournis (antigènes, kits, autres)

Des organes et sangs prélevés sur porcs EOPS utilisés comme matrice pour les dopages pour réaliser les essais de caractérisation et d'adoption de méthode PCR. Ils peuvent également être fournis aux producteurs de kit

Nombre de lots produits dans l'année

12 amygdales, 1 poumon, 3 sang EDTA

Nombre d'unités distribuées au plan national

17 g d'amygdale, 17 g de rate, 205 ml de sang

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Activité en augmentation (lié à l'AMI PCR PPA)

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Oui

Types de matériaux de référence produits (MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Les matériaux de référence produits par le LNR PPA pour son fonctionnement correspondent à :

- Des panels de sérums de contrôle de lots de kits ELISA,
- Des panels d'ADN de contrôle de lots des kits PCR
- Des sérums sentinelles calibrés pour le suivi des cartes de contrôle ELISA
- Des sangs ou organes enrichis avec une souche pour constituer des témoins d'extraction pour le suivi des cartes de contrôle

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

- Panels de sérums
- Panels d'ADN
- Sérums sentinelles
- Aliquots de sang ou organes enrichis

Nombre de lots produits dans l'année

- Panels de sérums de contrôle de lots de kits ELISA : 0 lot produit en 2024
- Panels d'ADN de contrôle de lots des kits PCR : 1 lot produit en 2024
- Témoins d'extraction liquide : 1 lot

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Stable

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Pour lui et son réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic de la PPA, le LNR produit des matériaux de référence destinés à servir de contrôles positifs ou négatifs pour les différentes méthodes de diagnostic

- En sérologie, ce sont des sérums calibrés pour les méthodes sérologiques (ELISA).
- En virologie, une souche inactivée permet la caractérisation et l'adoption de méthodes PCR, elle est utilisée pour la préparation de témoins d'amplification de PCR ou d'extraction sur matrice liquide ou solide
- Des panels d'ADN, pour les dossiers de validation ou d'adoption de méthodes PCR.
- Certains matériaux de référence (sérums calibrés, souches inactivées et panels d'ADN) peuvent également être distribués aux producteurs de trousse de diagnostic de la PPA
- Des panels pour les EILA (PCR et ELISA)

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Souche inactivée, ADN, sérum positif, sang et organes enrichis avec une souche inactivée

Nombre de lots produits dans l'année

Souche inactivée : 0 lot ; panel d'ADN : 1 lot ; 1 lot de panel EILA PCR

Nombre d'unités distribuées au plan national

Souche inactivée : 8 unités de 250 µl ; Panel d'ADN (Inclusivité/exclusivité et Sensibilité/Spécificité diagnostiques) : 12 ; sérums positifs : 1 tube de 1 ml témoin ELISA (V11 s PPA05), 4 panels d'EILA PCR PPA

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Activité en augmentation (lié à l'AMI PCR PPA)

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

Modalités de contrôle (contrôles initiaux, contrôles aléatoires de lots, contrôles lot par lot)

Le LNR réalise systématiquement des contrôles initiaux et des contrôles lot par lot des kits ELISA et PCR pour le diagnostic de la PPA. Des contrôles aléatoires de lots peuvent être réalisés en fonction des remontées des laboratoires sur une éventuelle dérive d'un lot.

Nombre de contrôles - ou de lots contrôlés - dans l'année

Contrôles lot par lot :

- Kits ELISA : 4
- Kits PCR : 4

Contrôles initiaux

kits PCR : 7 (AMI PCR PPA : en cours)

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Activité stable pour les contrôles de lot ELISA et PCR, en augmentation pour les contrôles initiaux de kits PCR (lié à l'AMI PCR PPA)

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor, CEN, ISO...).

- Membre du GECU (Groupe d'expertise collective en urgence) PPA
- Membre du comité national porcin de lutte pour les pestes porcines
- Membre du groupe de suivi de la plateforme ESA pour la surveillance des pestes porcines chez le porc domestique
- Membre du groupe de suivi de la plateforme ESA pour la surveillance des pestes porcines chez les sangliers sauvages
- Membre du groupe de travail sur les réactifs, piloté par l'Anses.

- Membre de la commission AFNOR U47

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Le LNR PPA n'est pas en relation directe avec un réseau de professionnels de la filière porc, mais est très régulièrement sollicité par téléphone, mails etc. Il est aussi souvent sollicité par les DDPPs, la DGAI, ou des laboratoires d'analyses vétérinaires autres que ceux agréés pour des questions relevant de la collecte des échantillons lors d'autopsie suspecte par exemple. Une adresse email de contact existe pour le LNR PPA, indiquée dans toutes les notes de service: uvip@anses.fr

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

3 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

1 EILA

Nom de l'EILA

EILA PCR PPA

L'EILA est-il réalisé sous accréditation (norme NF EN ISO/CEI 17043) ?

Non

Nombre de laboratoires participants

4 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

3 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoires) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Créé en octobre 2018, le réseau comprenait à l'origine deux laboratoires agréés (Inovalys 72- Le Mans et L2A-Strasbourg). Le réseau a été étendu avec l'agrément du CIRAD de Guadeloupe courant 2021, et de LABOCEA 35 courant 2023. Fin 2023, le CIRAD Guadeloupe a renoncé à son agrément en l'absence de demandes d'analyse depuis son agrément.

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers
Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Sans objet

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

0 journée(s)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

(**) Au sens de la norme 17043

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
ASFV-989-ST Maturation	Développement d'un vaccin contre la PPA à délivrer par voie orale ou intramusculaire	en cours
IPPA	Thèse en cotutelle ANSES/INRAE cartographie à haut débit des Interactions virus-hôte : de l'identification de nouveaux facteurs de pathogénicité et de virulence au développement de nouvelles voies d'atténuation pour le virus de la Peste Porcine Africaine	terminé
ASFVInt	Projet ICRAD (financement ANR) Decoding a virus Achilles heel : the African swine fever virus	terminé
EVOLPPA	Etude de l'évolution génétique de différentes souches de virus de la peste porcine africaine	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention par l'Anses d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE hors Anses dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du LRUE et nom de l'organisation détenant le mandat

EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY FOR AFRICAN SWINE FEVER (EURL-ASF)
Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CISA/CSIC)

Le LNR a participé à l'atelier organisé par le LRUE

Oui

Le LNR a participé à une/des formation(s) organisée(s) par le LRUE

Non

Raison pour laquelle le LNR n'a pas participé

Le LRUE organise régulièrement des formations à la demande, notamment pour les pays affectés.
En 2024, nous n'avons pas eu de besoin particulier au niveau du LNR

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Le LNR a questionné le LRUE à propos de l'existence d'un niveau exigé de détection (NED) pour les kits ELISA PPA. Plus spécifiquement le LNR souhaiterait savoir quelle dilution du sérum de référence fourni par le LRUE pourrait être considéré comme ce NED.

Points particuliers ou d'actualité sur l'année, à signaler

Sans objet

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international**Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences**

Aucun

ANNEXES

Liste des publications et communications 2024 dans le cadre du mandat de LNR PPA

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont publiées.

Article

Dupré, Juliette, Mireille Le Dimna, Evelyne Hutet, Pascal Dujardin, Aurore Fablet, Aurélien Leroy, Isabelle Fleurot, Grégory Karadjian, Ferdinand Roesch, Ignacio Caballero, Olivier Bourry, Damien Vitour, Marie-Frédérique Le Potier et Grégory Caignard. 2024. "Exploring type I interferon pathway: virulent vs. attenuated strain of African swine fever virus revealing a novel function carried by MGF505-4R." *Front Immunol* 15: 1358219. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1358219>.

Sánchez-Cordón, Pedro J. , Fabian Z. X. Lean, Carrie Batten, Falko Steinbach, Aleksija Neimanis, Marie-Frédérique Le Potier, Emil Wikström-Lassa, Felicity Wynne, Rebecca Strong, Stephen McCleary, Helen Crooke, Dolores Gavier-Widén et Alejandro Núñez. 2024. "Comparative evaluation of disease dynamics in wild boar and domestic pigs experimentally inoculated intranasally with the European highly virulent African swine fever virus genotype II strain "Armenia 2007"." *Veterinary Research* 55 (1): 89. <https://doi.org/10.1186/s13567-024-01343-5>.

Renson, Patricia, Olivier Bourry, Roselyne Fonseca, Mireille Le Dimna, Céline Deblanc, Séverine Hervé, Gaëlle Simon, Nicolas Rose, Stéphanie Desvaux, Nolwenn Le Moal, Jean-François Ravise et Marie-Frédérique Le Potier. 2024. "Bilan de la surveillance à l'égard des pestes porcines classique et africaine en France en 2023 : la France maintient son statut indemne " *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* 103 (5): 1-10.

Conférence et webinaire

Dupré, Juliette, Mireille Le Dimna, Evelyne Hutet, Olivier Bourry, Damien Vitour, Grégory Caignard et Marie-Frédérique Le Potier. 2024. "Comparative study of type I interferon macrophages response induced by a virulent strain of African swine fever virus and its attenuated derivative." XXVes Journées francophones de virologie, Bruxelles, 10,11 et 12 avril.

Bourry, Olivier, Mireille Le Dimna, Evelyne Hutet, Gaëtan Pinsard, Yannick Blanchard, Frédéric Paboeuf et Marie-Frédérique Le Potier. 2024. "Adaptation of the ASFV-g89 live attenuated virus on continuous cell line, a step forward to become a vaccine candidate." 27th International Pig Veterinary Society Congress 15th European Symposium of Porcine Health Management, Leipzig - Germany, 4-7 June.

Sanchez-Cordon, Pedro, Fabian Z.X. Lean, Carrie Batten, Falko Steinbach, Aleksija Neimanis, Marie-Frédérique Le Potier, Emil Wikström-Lassa, Felicity Wynne, Rebecca Strong, Stephen McCleary, Noemi Rayon, Helen Crooke, Dolores Gavier-Widén et Alejandro Nuñez. 2024. "Disease dynamics in wild boar and domestic pigs inoculated intranasally with the virulent African swine fever virus genotype II strain "Armenia 2007"." 16th EPIZONE Annual Meeting - Viruses, vectors and wildlife, Uppsala, Sweden, 25-27 September.

Conférence sur invitation

Bourry, Olivier. 2024a. "Adaptation du virus vivant atténué ASFV-989 sur lignée cellulaire, un pas de plus vers un vaccin contre la peste porcine africaine." Orale Conseil de filière Porc - ANSES, Ploufragan, 26 novembre.

Bourry, Olivier. 2024b. "La peste porcine africaine en Europe: entre vigilance et espoir." Communication orale : conférence invitée Assemblée Générale groupement Elpor Lamballe, 30 mai.

Thèse

Dupré, Juliette. 2024. "Identification de nouveaux facteurs de pathogénicité et de virulence pour le virus de la peste porcine africaine." Docteur : Spécialité : Biologie Moléculaire et cellulaire Thèse, École nationale vétérinaire d'Alfort