

anses

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

# Rapport d'activité 2015

## LE LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN-PLOUZANÉ

Le laboratoire réunit sur ses deux sites de Ploufragan et de Plouzané plus de 190 personnes. Il est spécialisé dans la santé des volailles, des lapins, des porcs et des poissons d'élevage. Il concourt à l'amélioration du bien-être des animaux ainsi qu'à la qualité sanitaire des denrées d'origine avicoles, cunicoles et porcines.

Le laboratoire de Ploufragan-Plouzané étudie :

- > les agents responsables des maladies ayant un fort impact sur l'économie de ces productions ou sur le potentiel immunitaire des animaux,
- > les maladies émergentes.

Il analyse les nouvelles méthodes d'élevage :

- > leurs conséquences comportementales et sanitaires sur les animaux,
- > la qualité des produits qui en sont issus,
- > leur éventuel impact sur la santé des éleveurs.

Il développe des outils et méthodes de diagnostic et de prévention chez les animaux.

Il évalue également l'impact des contaminants microbiens sur les animaux et les risques liés à la consommation des aliments issus de ces filières. Enfin, il est laboratoire de référence pour les maladies des porcs, des volailles et des poissons.

Il fournit aux organismes internationaux ou à l'État un appui scientifique et technique pour le contrôle vétérinaire (analyse de prélèvements, fourniture de réactifs de référence, suivi de la qualité des analyses des laboratoires de diagnostic...).

## GRANDES ÉVOLUTIONS

La fin de l'année 2015 a été marquée par la forte mobilisation de trois unités de recherche et du service expérimental Volailles en réponse à l'émergence d'une épizootie d'*influenza* aviaire de grande ampleur en France. Cette mobilisation

se poursuivra en 2016, cette crise risquant de se prolonger dans le temps. Cette année a été également celle de la mise en route de la plateforme d'ensilage d'aliments thermisés pour les troupeaux EOPS.

## TRAVAUX RÉALISÉS EN 2015

### ■ Unité Hygiène et qualité des produits avicoles et porcins (HQPAP)

L'unité HQPAP collabore avec l'IUT de Saint-Brieuc (département Génie biologique et département Génie des matériaux) dans le cadre d'une thèse portant sur le développement d'une surface fonctionnalisée au TiO<sub>2</sub> afin qu'elle acquière une propriété antibactérienne. L'élimination des pathogènes des surfaces en industrie agroalimentaire (IAA) en contact avec la viande est très importante en termes de sécurité pour le consommateur. Aujourd'hui, cette élimination se fait par l'usage de biocides. L'objectif de ce travail est de pouvoir proposer pour les IAA, un matériau recouvert de TiO<sub>2</sub> dont les propriétés photocatalytiques engendrent un stress oxydatif chez les bactéries pathogènes et les tuent. Plusieurs couches minces de TiO<sub>2</sub> différentes de par leur épaisseur et composition en termes de phases (rutile/anatase) ont été testées vis-à-vis de *Listeria monocytogenes*, et *Yersinia enterocolitica*, deux pathogènes retrouvés dans les IAA de la filière carnée porcine. Un des matériaux a montré une très bonne efficacité pour éliminer jusqu'à 3 log de bactéries, après que celles-ci aient été déposées en biofilm sur ces matériaux en comparaison à des matériaux sans couche mince TiO<sub>2</sub>.

### ■ Service Seleac

Le Seleac conduit des expérimentations au service des unités du laboratoire de Ploufragan-Plouzané travaillant sur les volailles et les lapins. Il est également partie prenante de l'unité mixte technologique (UMT) Sanivol qui étudie l'« impact des systèmes d'élevage sur la santé et sur la qualité sanitaire des produits », en partenariat avec l'unité Ebeac et l'Itavi.

### ■ Service de production de porcs assainis et d'expérimentation (SPPAE)

Le SPPAE produit des animaux d'un haut statut sanitaire destinés à des travaux de recherche, essentiellement dans le domaine de la santé animale et humaine. Ces travaux sont dirigés par du personnel scientifique rattaché aux différentes unités du laboratoire. Le SPPAE répond également à des demandes d'expérimentations provenant de partenaires extérieurs.

La production de porcelets EOPS dits primaires élevés dans des isolateurs stériles pendant quatorze jours a été remise en application au cours du premier trimestre de l'année 2015 pour répondre à une demande d'expérimentation de plusieurs équipes de l'Inra (ADNC Saint-Gilles, MICALIS Jouy-en-Josas, ISP Nouzilly). Cette technique de production originale n'avait pas été mise en œuvre à l'Anses depuis 1996. Un modèle de porcelets colonisés par des bactéries primo-colonisatrices isolées chez le nouveau-né humain a été développé. Cette expérimentation a impliqué 28 porcelets EOPS primaires issus de deux opérations d'hystérectomie aseptique. Les porcelets nouveaux-nés ont été transférés de l'isolateur d'hystérectomie vers deux isolateurs d'élevage dans les minutes qui ont suivi chaque opération. Deux groupes de quatorze individus chacun ont été constitués. Une solution renfermant plusieurs souches de bactéries primo-colonisatrices a été inoculée au premier groupe, tandis que le second groupe ne recevait aucune inoculation et faisait office de lot témoin. Les résultats de ce travail montrent l'intérêt de ce type d'animaux pour l'étude des flores digestives. Il souligne également l'impact de la prise de colostrum sur la capacité des porcelets à relever les challenges microbiens auxquels ils sont confrontés après la naissance. Enfin, il rappelle la difficulté de maîtriser la stérilité du circuit d'eau en amont des isolateurs pendant quatorze jours d'élevage, principalement à l'égard des contaminations par *Pseudomonas*.

## CHIFFRES CLÉS

30 publications scientifiques et professionnelles en langue française

59 Publications internationales en anglais

10 HDR

14 mandats de références nationaux ou internationaux

121 conférences, invitations, posters dans des congrès nationaux

Formation doctorale :  
12 thèses en cours,  
2 thèses d'université et  
2 thèses vétérinaires soutenues

Ouvrage et chapitres d'ouvrage :  
1 ouvrage édité,  
6 chapitres d'ouvrages

125 conférences, invitations, posters dans des congrès internationaux

900 000 € de convention de partenariat avec le conseil départemental des Côtes d'Armor

### ■ Unité Mycoplasmologie-Bactériologie (MB)

Au sein de l'unité MB, 2015 a vu l'aboutissement de la thèse d'université de Rennes 1 préparée par Mickael Fleury. Le travail a consisté à évaluer l'impact d'antibiotiques administrés à des porcelets en conditions expérimentales, sur leur microbiote intestinal. L'injection de ceftiofur a conduit à une diminution transitoire des entérobactéries. Cependant, chez les animaux déjà porteurs de *E. coli* hébergeant un gène plasmidique  $bla_{CTX-M-1}$  codant pour une bêta-lactamase à spectre étendu, la sélection et la diffusion du gène  $bla_{CTX-M-1}$  ont été observées. L'administration de la colistine a entraîné une forte réduction des entérobactéries, bactéries cibles de cet antibiotique, présentes dans le côlon, mais aucun *E. coli* résistant à la colistine n'a été détecté. Les deux traitements antibiotiques n'ont pas eu d'impact important sur les principales populations bactériennes composant le microbiote. Les travaux se sont poursuivis à l'université de Clermont (équipe Cidam) et ont permis de développer un modèle *in vitro* colique porcine, nommé PiguTIVM, afin de simuler l'environnement digestif du porcelet et de confirmer, *in vitro*, l'effet de la colistine. Cet outil validé permettra de s'affranchir des limites dues à l'expérimentation animale. Ces travaux se poursuivent maintenant en incluant la résistance plasmidique à la colistine récemment décrite, dans le cadre du projet financé par l'ANR SINCOLISTIN, coordonné par l'université de Lille 1 et visant à réduire l'usage des antibiotiques en filière porcine.

### ■ Unité Pathologies virales des poissons (PVP)

**Une forte activité au sein du LNR « Maladies réglementées des poissons »**

Le LNR a émis 23 alertes / signalements entre 2012 et 2015 (3 en 2012 et 2013, 7 en 2014 et 10 au 19/10/2015). Quatorze alertes ont porté sur des virus de catégorie 1 : rhabdovirus responsables de la septicémie hémorragique virale (SHV; n=8) et de la nécrose hémato-poïétique infectieuse (NHI; n=2) chez les salmonidés, Herpesvirus de la carpe Koï (KHV ou CyHV<sub>3</sub>; n=4). Le carp edema virus (CEV) ou virus de la maladie du sommeil, découvert au Japon dans les années 1970, a également été détecté à plusieurs reprises chez des carpes communes et des carpes Koï (*Cyprinus carpio carpio Linnaeus*) et a fait l'objet de signalements (n=4). De même, pour des épidémies à nodavirus observées sur bars ou mérours sauvages en Méditerranée (n=3). Enfin, un herpesvirus de type 2 (CyHV<sub>2</sub>) a été mis en évidence pour la première fois dans un élevage de Carassins (*Carassius auratus*) ainsi qu'un réovirus dans un élevage de truites fario. Au niveau diagnostique, le LNR a publié en 2015 une méthode de qPCR one-step ciblant l'ARN1 des betanodavirus, travaillé sur la validation de méthodes qPCR permettant de détecter le vNHI, le CEV et le KHV et finalise l'écriture d'un article décrivant la validation et l'utilisation d'une méthode de séroneutralisation permettant de détecter des anticorps spécifiques du KHV chez la carpe. Deux EILA, organisés selon les recommandations du référentiel

ISO-17043, portant sur les virus de la SHV, de la NHI et de la nécrose pancréatique infectieuse (NPI) et deux séminaires de formation ont été organisés sur la période à l'attention des sept laboratoires agréés du réseau national. Au niveau de l'expertise, l'unité a été impliquée dans le travail de hiérarchisation des maladies des poissons (saisine 2013-SA-049C) et a dû répondre en urgence à une demande d'appui scientifique et technique dans le cadre d'une détection de virus de type vSHV dans une zone qualifiée indemne (saisine 2015-SA-0161). Le LNR a enfin apporté un soutien pour la révision annuelle des chapitres du code sanitaire et du manuel de diagnostic des maladies aquatiques de l'OIE et a donné un avis technique sur les révisions de la réglementation européenne (directives d'exécution 2014/22/UE et 2015/1554).

#### **Premiers résultats des études sur l'effet transgénérationnel de l'exposition chronique à un produit phytosanitaire herbicide sur l'immunité de la truite arc-en-ciel à différents stades de développement**

Le projet Transchem (2013-2015) a été initié, porté et financé exclusivement par l'Anses. Des truites arc-en-ciel (TAC) adultes ont été exposées quotidiennement *in vivo* à un herbicide entre mai 2013 et novembre 2014 à une concentration proche de celle mesurée *in situ* dans les cours d'eau bretons ( $0,23 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Ces truites ont donné deux générations F1 nées en décembre 2013 et 2014. En plus de l'exposition transgénérationnelle, les populations F1 ont elle-même été contaminées directement à l'herbicide. Des prélèvements de sang et d'organes cibles ont été réalisés toutes les quatre semaines sur les différents lots de poissons et une épreuve virale au rhabdovirus de la NHI a permis d'évaluer le potentiel global de défense des alevins nés en 2013. Les activités superoxyde dismutase (SOD) et glutathion peroxydase (GPx), ainsi que la concentration en glutathion réduit (GSH), ont évolué chez les géniteurs en fonction des saisons (température de l'eau, maturation des gamètes). Les paramètres hématologiques ont également été perturbés lors de la période de ponte. D'autre part, des effets transgénérationnels ont été mesurés chez la génération F1 de 2013 ; le transfert chimique de la pendiméthaline *via* les gamètes maternels et paternels a engendré une plus grande sensibilité face au virus. En revanche, l'exposition directe à l'herbicide dès les plus jeunes stades de développement a renforcé leur potentiel global de défense. Pour aller plus loin, d'autres épreuves infectieuses avec les virus de la maladie du sommeil (MS), de la NPI et de la NHI ont été réalisées sur la génération F1 née en 2014. Comme précédemment, des effets transgénérationnels de l'herbicide ont été mesurés mais de manière opposée selon le pathogène ; alors que la F1 issue de géniteurs contaminés a été plus sensible à l'épreuve au vNHI, elle s'est montrée plus résistante face au virus de la MS. Plusieurs composants du système immunitaire inné et adaptatif des générations F1 ont été analysés afin de mieux comprendre et différencier les effets directs et transgénérationnels du polluant chez la truite arc-en-ciel. Les résultats obtenus sont en cours d'analyse et de valorisation.

#### **Unité Génétique virale et biosécurité (GVB)**

Le mercredi 9 décembre 2015, à l'université de Bretagne Sud, une scientifique de l'unité de génétique virale et biosécurité de l'Anses Ploufragan/Plouzané, a présenté ses travaux, intitulés « Porcine circovirus of type 2 : pathogenicity and transmission », en vue de l'habilitation à diriger des recherches (mention biologie, spécialité virologie). Les travaux s'articulaient en quatre axes : (i) l'étude des facteurs de virulence de virus ; (ii) l'étude des interactions hôte-pathogène ; (iii) l'étude de la transmission verticale et horizontale du virus et enfin (iv) l'étude des maladies associées au PCV-2.

L'unité GVB a par ailleurs participé à travers la plateforme nationale de séquençage aux travaux de l'Anses sur le séquençage du BTV8, virus de la fièvre catarrhale ovine, ré-émergent en 2015 et au séquençage des nouveaux virus influenza H5 infectant les élevages de palmipèdes du Sud-Ouest.

#### **Unité Virologie, immunologie, parasitologie aviaires et cunicoles (Vipac)**

Depuis le 23 novembre 2015, le sud-ouest de la France est confronté à une épizootie d'influenza aviaire d'une ampleur exceptionnelle sans précédent en France et touchant essentiellement la filière de production de foie gras. Cette épizootie est due à au moins trois virus influenza aviaire qui ont été détectés à quelques jours d'intervalle (H5N1, H5N2, H5N9) et qui, même si pour le moment ne présentent pas les déterminants de pathogénicité pour l'homme, sont hautement pathogènes pour les volailles. À ce jour, l'hypothèse la plus probable concernant leur origine est la mutation initiale d'un virus faiblement pathogène circulant dans les populations de palmipèdes domestiques du Sud-Ouest et qui aurait acquis à une date qui reste à déterminer le caractère hautement pathogène. À la suite de cet événement initial, non détecté par la surveillance de l'influenza aviaire dans les populations de canards telle qu'elle était pratiquée depuis 2007 en France, ce virus H5HP aurait par réassortiments successifs conduit à l'apparition des 3 virus H5 HP circulant actuellement. Cette situation a conduit à des mesures exceptionnelles de dépopulation progressive et d'arrêt momentané de la production dans l'ensemble de la zone sud-ouest. Dans un premier temps, l'Anses a pu faire face à la situation de crise et organiser le fonctionnement de son laboratoire national de référence et de son unité d'épidémiologie opérationnelle par redéploiements internes afin d'appuyer les services de la DGAL et des DDPP pour la conduite du diagnostic de confirmation du caractère hautement pathogène des virus et des enquêtes de terrain. Cette réactivité a permis de passer la première phase de crise en gelant les programmes de recherche en cours pour se concentrer sur l'activité d'appui diagnostique, scientifique et technique. Le personnel du laboratoire a été dans le même temps mobilisé pour participer au groupe d'expertise collective d'urgence influenza aviaire qui a pu ainsi rendre très vite les avis dont les ministères de tutelle avaient besoin pour apprécier les niveaux de risque pour

l'homme et pour l'animal liés à ces virus et pour évaluer les différentes options de gestion (travail en cours). Cette mobilisation rapide de l'Agence dans ses multiples composantes, de recherche (en virologie, épidémiologie, expérimentation animale), de référence, d'évaluation des risques, d'alerte et de veille sanitaire, souligne la réactivité de ses équipes pour faire face à une crise sanitaire intéressant la santé publique humaine et vétérinaire.

### ■ Unité Virologie, immunologie, porcines (VIP)

Syndrome dysgénésique et respiratoire du porc (virus du SDRP) : l'année 2015 a vu le renouvellement de la convention de collaboration scientifique entre l'Anses et l'UGPVB pour deux années, avec mise à disposition d'une ingénieure de recherche de l'UGPVB sur le programme breton de recherche contre le SDRP. Cette collaboration exemplaire a permis en outre une mise en évidence pour la première fois d'une forte interférence des anticorps neutralisants d'origine maternelle avec la réponse immune chez les porcelets vaccinés contre le SDRP à l'aide d'un vaccin vivant atténué.

### ■ Unité Epidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture (EBEAC)

#### Renouvellement de l'UMT Sanivol

En mars 2015, l'unité mixte technologique Sanivol a été renouvelée par l'Acta pour un nouveau quinquennat. La reconduction du dispositif partenarial a été obtenue grâce au développement d'un nouveau plan d'action articulé autour de trois thèmes majeurs : lutter contre l'antibiorésistance, prévenir les zoonoses alimentaires et les risques professionnels en aviculture. Sanivol fait ainsi perdurer sa spécificité qui repose sur une approche multidisciplinaire et globale de la santé, de l'animal à l'Homme, qu'il soit consommateur ou travailleur. Plus particulièrement, la contribution à la lutte contre l'antibiorésistance se décomposera en trois actions distinctes : connaître les usages pour identifier les pratiques à risque, évaluer et maîtriser la diffusion environnementale des bactéries antibiorésistantes et des gènes de résistance et enfin proposer des moyens de réduction de l'utilisation des antibiotiques en élevages avicoles et cunivols.

### ■ Unité Epidémiologie et bien-être du porc (EBEP)

#### Un package sur le logiciel R pour le traitement statistique de données organisées en blocs de variables

Les données d'épidémiologie analytique vétérinaire visent à déterminer les **facteurs de risque** de maladies ou de problèmes sanitaires complexes au déterminisme plurifactoriel. Ceux-ci sont généralement décrits par plusieurs variables et les facteurs de risque potentiels sont nombreux et structurés en blocs relatifs, par exemple, à la conduite d'élevage, l'état sanitaire du troupeau ou les pratiques d'hygiène. Du fait du grand nombre de variables et du sens biologique des blocs, il apparaît utile de mesurer à la fois l'importance des variables mais aussi des blocs de variables dans la survenue de la maladie. Les développements méthodologiques statistiques conduits dans l'unité Epidémiologie et bien-être du porc, en collaboration avec Oniris, ont contribué à proposer aux épidémiologistes de l'Anses, des méthodes originales leur permettant de tenir compte de la particularité de leurs données et d'apporter des réponses innovantes. Ces méthodes originales de **régression multibloc** ont fait l'objet d'une thèse et de dix publications internationales. Depuis une dizaine d'années, le développement de nouvelles méthodes statistiques s'accompagne de leur mise à disposition au travers de packages développés sur le **logiciel libre R** devenu incontournable. Afin de rendre disponibles ces méthodes aux épidémiologistes de l'Anses ainsi qu'à l'ensemble de la communauté scientifique, elles ont été développées sur le logiciel R dans un **package intégré au logiciel d'analyse de données ade4**. Ce transfert a été conduit en collaboration avec l'Université de Lyon 1.

Pour plus de renseignements : <http://pbil.univ-lyon1.fr/ade4/>, <http://www.rdocumentation.org/packages/ade4/functions/mbpls.html>, <http://www.rdocumentation.org/packages/ade4/functions/mbpcaiv.html>

