

RAPPORT D'ACTIVITÉ 2017

LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ÉQUINE DE DOZULÉ

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Le Laboratoire de pathologie équine de Dozulé réunit 24 personnes dans trois unités de recherche (bactériologie, épidémiologie et anatomie pathologique, et virologie et parasitologie équines).

Ses activités se concentrent sur la maîtrise des risques sanitaires liés aux maladies infectieuses et parasitaires des chevaux selon trois grandes orientations :

- l'épidémiologie et l'épidémiosurveillance de ces maladies ;
- l'amélioration de leurs moyens de diagnostic et de contrôle ;
- l'étude des interactions hôtes-pathogènes.

Il surveille l'apparition et/ou la diffusion des affections équines majeures ou émergentes et analyse leurs causes, notamment grâce au Réseau national de surveillance des causes de mortalité (Resumeq) qu'il anime et à des enquêtes épidémiologiques de terrain.

Il possède le statut de laboratoire national de référence (LNR) et de laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour les maladies équines¹ :

la métrite contagieuse équine (MCE), la dourine, l'artérite virale équine (AVE), les herpèsvirus équines 1 et 4 (HVEs) et l'anémie infectieuse des équidés (AIE).

Ses principaux programmes de recherche portent sur :

- l'épidémiologie et les caractéristiques lésionnelles des principales maladies équines ;
- l'épidémiologie et la caractérisation moléculaire des agents pathogènes responsables de la MCE, la dourine, l'AVE, l'AIE et des HVEs ;
- le développement ou l'optimisation d'outils de diagnostic bactériologique, virologique, sérologique et moléculaire pour ces mêmes maladies ;
- la surveillance de la mortalité des équidés ;
- l'étude de l'antibiorésistance et de la virulence des principales bactéries pathogènes du cheval en partenariat avec d'autres laboratoires de l'Anses ;
- l'étude des mécanismes de persistance du virus de l'AVE chez les étalons et la recherche de nouvelles molécules antivirales.

⁽¹⁾ En association avec le Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort

PRÉSENTATION DES GRANDES ÉVOLUTIONS INTERNES OU EXTERNES

ÉVOLUTIONS INTERNES

L'année 2017 a été marquée par des modifications dans l'organisation du laboratoire et de son organigramme. Les activités de parasitologie ont été transférées le 27 février, de l'unité Bactériologie vers l'unité Virologie pour former l'unité Virologie et parasitologie équine (Vipare).

Une nouvelle habilitation à diriger les recherches (HDR), soutenue en décembre 2017, renforce les capacités d'encadrements d'étudiants en thèse d'université au laboratoire qui compte désormais trois scientifiques ayant une HDR.

ÉVOLUTIONS EXTERNES

La région Normandie entend développer les activités d'enseignement supérieur et de recherche dans le domaine de la santé équine. Cet objectif devrait se matérialiser par la création d'un campus équin sur le site du laboratoire avec le transfert des activités de la clinique équine de l'école nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA) sur le site de Dozulé en Normandie d'ici 2021. Le laboratoire est également impliqué dans ces discussions avec les autorités régionales ainsi que sur les futurs investissements qui seront consentis sur le site de Dozulé.

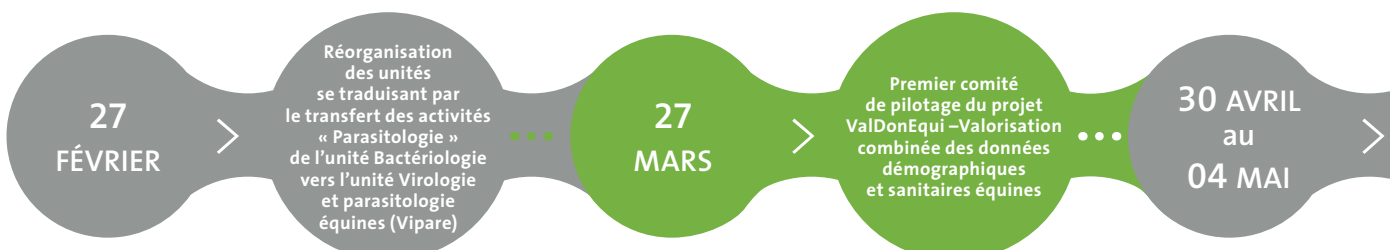
> Dans le cadre des mandats de LNR et LRUE : réalisation de 2095 analyses officielles et de confirmation, organisation de cinq essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) pour un total de 112 laboratoires participants, trois actions de formation ; des éléments biologiques ont également été fournis : **35** demandes de sérum anti-Taylorella equigenitalis d'agglutination, quatre demandes de souches du genre Taylorella, **27** flacons du sérum de référence de l'OIE pour l'AIE ont été fournis ainsi que cinq flacons de sérum anti-AVE.

> **10** participations à des congrès internationaux ou des colloques scientifiques ainsi qu'aux journées scientifiques et doctorales de l'Anses (**14** communications orales ou posters)

> **15** publications dont **12** dans des revues scientifiques internationales avec comité de lecture

> Dans l'unité Épidémiologie et anatomie pathologique : réalisation de **206** autopsies d'équidés, **599** examens bactériologiques, **149** antibiogrammes, et **31** examens parasitologiques ; **16** semaines de formation dans le cadre du Resumeq avec **25** stagiaires accueillis.

CHRONOLOGIE



TRAVAUX RÉALISÉS

Le laboratoire a poursuivi ses activités de LNR et de LRUE pour cinq maladies équine, par la réalisation d'analyses, la fourniture d'éléments biologiques, l'organisation d'EILAs et de formation, la fourniture de rapports d'expertise scientifique et technique aux tutelles et la conduite de travaux de recherche. Un cas de MCE et un cas d'AIE ont été confirmés dans l'année.

En virologie, les travaux portant sur la recherche de nouvelles molécules de synthèses aux propriétés anti-virus équine ont été conduits et seront poursuivis en 2018. En 2016, le projet de recherche PersEVA a permis le développement et la validation d'un modèle d'infection de cellules issues de l'appareil reproducteur mâle par le virus de l'AVE. Ce travail de thèse arrivera à son terme en 2018. En parallèle, un nouveau projet a démarré en 2017 et porte sur le développement d'un outil de diagnostic moléculaire innovant pour l'AIE. Ce travail de recherche permettra le développement d'un nouvel outil de diagnostic moléculaire, qui pourra être utilisé pour le diagnostic de l'AIE chez un équidé dès les premiers jours suivant l'infection. Cet outil pourra notamment être utilisé lors d'apparition de foyer pour réaliser le dépistage des équidés suspects/contacts sans attendre la séroconversion de l'animal suspect. Concrètement, cet outil permettra de rendre un service de diagnostic plus rapide.

En bactériologie, les travaux sur le perfectionnement du diagnostic de la MCE ont porté sur (i) la comparaison de plusieurs milieux d'isolement de *T. equigenitalis* (résultats marquants : croissance de *T. equigenitalis* confirmée dans trois milieux liquides et mise en place d'un protocole de comparaison de 15 milieux solides de type gélose chocolat sélective) et (ii) la participation à la mise en place d'un réseau de 23 laboratoires français agréés pour le dépistage de la MCE par PCR (résultats marquants : validation de la méthode

PCR Anses/DOZ/INS/0168 selon la norme NF U47-600-2 et accréditation Cofrac de cette méthode, évaluation d'un kit PCR commercial, réalisation d'un appui scientifique et technique aux laboratoires désireux de participer au réseau et organisation d'un premier EILA). La production et la validation de deux nouveaux lots d'antisérum ont également été réalisées pour la technique d'agglutination sur lame dans le cadre du diagnostic bactériologique de la MCE. Les travaux sur la caractérisation moléculaire des agents pathogènes ont quant à eux porté sur (i) la poursuite du typage des souches du genre *Taylorella* par MLST (alimentation de la base <https://pubmlst.org/taylorella/> avec 61 nouvelles souches dont 33 typées par l'unité) et (ii) la valorisation de la MLST dédiée à l'espèce *Rhodococcus equi* et antérieurement développée par l'unité par le biais d'une publication internationale, de deux posters dans des congrès scientifiques et d'une présentation aux journées scientifiques et doctorales de l'Anses. L'unité Bactériologie a également été sollicitée pour (i) la production de deux lots de doses vaccinales (≈ 90 doses) pour le transfert d'un brevet portant sur l'immunisation de juments gravides contre *R. equi*; une phase préliminaire de mise au point du protocole de production/validation des doses vaccinales a été nécessaire, (ii) la caractérisation et le typage MLST de plusieurs isolats virulents de *R. equi*, et (iii) la caractérisation de plusieurs souches d'*Arcanobacterium hippocoleae* isolées par le Laboratoire public conseil, expertise et analyse en Bretagne (Laboce), lors d'analyses officielles pour la MCE.

Le réseau Resumeq de surveillance nationale des causes de mortalité des équidés s'est encore étendu en 2017. Le réseau compte dorénavant trente membres : 17 laboratoires d'analyses vétérinaires, les quatre écoles nationales vétérinaires et une annexe ainsi que huit cliniques vétérinaires. Cet

Participation à la 3^e Conférence internationale sur la surveillance épidémiologique en santé animale (ICAHS) à Rotorua (Nouvelle Zélande)

18
MAI

Revue de direction
du laboratoire

04 au 09
JUIN

Participation au 14^e Symposium international sur les nidovirus à Kansas city, Etats-Unis

TRAVAUX RÉALISÉS (SUITE)

élargissement du réseau permet d'avoir dès à présent une meilleure couverture du territoire national. Parallèlement, les travaux sur la surveillance quantitative de la mortalité se sont poursuivis par la mise en place, en collaboration avec l'unité Épidémiologie du Laboratoire de Lyon (Anses) et avec le Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, d'une étude rétrospective sur l'impact de l'épisode de Fièvre de West Nile 2015, en termes de mortalité des équidés.

Dans le cadre du projet pluriannuel de valorisation combinée des données démographiques et sanitaires équines (ValDonEqui), l'accent a été mis en 2017 sur l'amélioration de la traçabilité des équidés dans la base EDI-SPAN de la

DGAL via une enquête auprès des détenteurs d'équidés, sur l'étude des données sanitaires disponibles dans les laboratoires agréés (en termes de volume, nature et qualité) et sur l'intérêt et les difficultés potentielles des laboratoires à contribuer à une centralisation des données de surveillance.

Les scientifiques du laboratoire ont encadré des étudiants de l'enseignement supérieur, dont un étudiant en thèse d'université, quatre étudiants en Master, un étudiant et un apprenti en licence professionnelle, deux étudiants en BTS ou DUT Biologie et 25 étudiants vétérinaires, dont trois préparant des diplômes européens de spécialisation en médecine interne ou en chirurgie.

PROJETS MENÉS À TERME

PROJET PORTANT SUR LA DÉTECTION ET LA CARACTÉRISATION D'ISOLATS DE L'ARTÉRITE VIRALE ÉQUINE (AVE) EN SERBIE.

Ce projet consistait à évaluer la circulation de l'AVE en Serbie et réaliser la première caractérisation génétique d'une souche d'AVE, isolée à partir d'un étalon excréteur exploité dans la région de Novi Sad en Serbie. Ce travail, financé dans le cadre d'un partenariat Hubert Curien (PHC), a été valorisé par une publication dans *BMC Veterinary Research*.

PROJET PORTANT SUR LA PREMIÈRE CARACTÉRISATION D'ISOLATS DU VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DES ÉQUIDÉS (AIE) RESPONSABLE D'UN FOYER EN FRANCE.

Ce projet consistait à caractériser génétiquement le virus de l'AIE responsable du plus gros foyer d'AIE déclaré en France depuis l'an 2000. Cet épisode a conduit à la

détection de 16 équidés séropositifs pour l'AIE, répartis sur trois foyers. Les foyers déclarés étaient situés dans le département du Var. Le génotypage des souches d'AIE isolées a pu être réalisé. L'analyse des séquences du gène Gag révèle une homologie, entre isolats, supérieure à 97%. Les isolats viraux issus des trois foyers du Var sont donc très proches et il est probable qu'ils aient une seule et même origine. L'analyse phylogénétique, réalisée sur cette même séquence, montre que les isolats varois forment un nouvel ensemble différent de ceux formés par les souches nord-américaines et européennes répertoriées à ce jour. Les isolats français 2009 sont notamment différents des souches isolées en Irlande et en Italie, qui ont été responsables de plusieurs foyers cliniques en 2006. Ce travail a été valorisé par une publication dans *Transboundary and Emerging Diseases*.

CHRONOLOGIE



PROJETS ENGAGÉS

DÉVELOPPEMENT D'UN OUTIL DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE INNOVANT POUR L'ANÉMIE INFECTIEUSE DES ÉQUIDÉS

L'objectif de ce projet de recherche est de développer un nouvel outil de diagnostic moléculaire, qui permettra de diagnostiquer l'AIE chez un équidé, dès les premiers jours suivant l'infection. Ce projet reposera sur les nouvelles technologies de capture spécifique associée au séquençage haut débit (Next Generation Sequencing), pour aboutir à un outil de diagnostic moléculaire capable de détecter n'importe quelle souche d'AIE, même chez les équidés asymptomatiques et donc faiblement virémiques.

Participation du laboratoire au 18^e Symposium international de l'Association mondiale des diagnostics de laboratoire vétérinaire (WAVLD) à Sorrento, Italie .

Le 18^e WAVLD s'est tenu du 6 au 10 juin 2017, à Sorrento, en Italie. Ce symposium international est réalisé, tous les deux ans, dans le but d'améliorer la santé animale et la santé humaine avec une approche globale «One Health », en diffusant les connaissances scientifiques les plus récentes, aux laboratoires de diagnostic vétérinaire du monde entier. La participation du laboratoire à cette manifestation est à souligner avec quatre présentations affichées et le déplacement de trois agents du laboratoire.

PRINCIPALES PUBLICATIONS

ARTICLES DANS DES REVUES INTERNATIONALES OU NATIONALES AVEC COMITÉ DE LECTURE RÉPERTORIÉES DANS LES BASES DE DONNÉES INTERNATIONALES

- Hébert Laurent, Madeline Anthony, Steinbiss Sascha, Lakhdar Latifa, Van Reet Nick, Büscher Philippe, Laugier Claire, Cauchard Julien & Petry Sandrine (2017) Draft genome sequence of *Trypanosoma equiperdum* strain OVI. *Journal of Genomics* 5:1-3
- Cuypers Bart, Van den Broeck Frederik, Van Reet Nick, Meehan Conor J., Cauchard Julien, Wilkes Jonathan M., Claes Filip, Goddeeris Bruno, Birhanu Hadush, Dujardin Jean-Claude, Laukens Kris, Büscher Philippe & Deborggraeve Stijn (2017) Genome-wide SNP analysis reveals distinct origins of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum*. *Genome Biol Evol.* 9(8):1990-1997
- Fougerolle S, Legrand L, Lecouturier F, Sailleau C, Paillet R, Hans A, Pronost S. Genetic evolution of equine influenza virus strains (H3N8) isolated in France from 1967 to 2015 and the implications of several potential pathogenic factors. *Virology* 2017 May;505:210-217. doi: 10.1016/j.virol.2017.02.003. Epub 2017 Mar 11.
- Gaudaire D, Lecouturier F, Ponçon N, Morilland E, Laugier C, Zientara S, Hans A. Molecular characterization of equine infectious anaemia virus from a major outbreak in southeastern France. *Transbound Emerg Dis.* 2017 May 15. doi: 10.1111/tbed.12657.
- Bolfa P, Jeon I, Loftis A, Leslie T, Marchi S, Sithole F, Beck C, Lecollinet S, Zientara S, Hans A, Issel CJ. Detection of West Nile Virus and other common equine viruses in three locations from the Leeward Islands, West Indies. *Acta Trop.* 2017 Jun 22;174:24-28. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.06.023

Participation aux 13^e Congrès national de la société française de microbiologie à Paris

25
OCTOBRE

Participation aux Journées scientifiques et doctorales de l'Anses à Maisons-Alfort

20
NOVEMBRE

Organisation d'un premier EILA pour le dépistage de la MCE par PCR dans le cadre de la création par la DGAL d'un réseau de 23 laboratoires français agréés pour le dépistage de la MCE par PCR

PRINCIPALES PUBLICATIONS (SUITE)

- Petry Sandrine, Sévin Corinne, Fleury Michael, Duquesne Fabien, Foucher Nathalie, Laugier Claire, Henri-Amar Michel & Tapprest Jackie (2017) Differential distribution of vapA-positive *Rhodococcus equi* in affected and unaffected horse-breeding farms. *Vet. Rec.* 181(6):145
- Laabassi F, Hue E, Fortier C, Morilland E, Legrand L, Hans A, Pronost S. Epidemiology and molecular detection of equine herpesviruses in western Algeria in 2011. *Vet Microbiol.* 2017 Aug;207:205-209. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.06.017
- Tapprest J, Morignat E, Dornier X, Borey M, Hendrikx P, Ferry B, Calavas D, Sala C. Fallen stock data: An essential source of information for quantitative knowledge of equine mortality in France. *Equine Vet J.* 2017 Sep;49(5):596-602. doi: 10.1111/evj.12664
- Duquesne Fabien, Houssin Emilie, Sévin Corinne, Duytschaever Lucille, Tapprest Jacky, Fretin David, Hébert Laurent, Laugier Claire & Petry Sandrine (2017) Development of a multilocus sequence typing scheme for *Rhodococcus equi*. *Vet. Microbiol.* 210:64-70
- Lazic S, Lupulovic D, Gaudaire D, Petrovic T, Lazic G, Hans A. Serological evidence of equine arteritis virus infection and phylogenetic analysis of viral isolates in semen of stallions from Serbia. *BMC Vet Res.* 2017 Nov 7;13(1):316. doi: 10.1186/s12917-017-1226-x.
- Randleff-Rasmussen PK, Leblond A, Cappelle J, Bontemps J, Belluco S, Popoff MR, Marcillaud-Pitel C, Tapprest J, Tritz P, Desjardins I. Development of a clinical prediction score for detection of suspected cases of equine grass sickness (dysautonomia) in France. *Vet Res Commun.* 2017 Dec 4. doi: 10.1007/s11259-017-9704-y

