

# RAPPORT D'ACTIVITÉ 2017

## LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN-PLOUZANÉ



Le laboratoire réunit sur ses deux sites, Ploufragan et Plouzané, plus de 190 personnes. Il est spécialisé dans la santé des volailles, du lapin, 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'origines avicoles, cunicoles et porcines.

Le Laboratoire de Ploufragan-Plouzané étudie :

- les agents responsables des maladies ayant un fort impact sur la santé publique vétérinaire, l'économie de ces productions ou sur le potentiel immunitaire des animaux,
- les maladies émergentes
- les zoonoses alimentaires

Il analyse les nouvelles méthodes d'élevage :

- leurs conséquences comportementales (bien-être animal) 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, les zoonoses alimentaires liées à ces filières et les maladies virales des poissons et participe à ce titre à la surveillance épidémiologique.

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

## PRÉSENTATION DES GRANDES ÉVOLUTIONS INTERNES OU EXTERNES .....

Toute l'année 2017 a été marquée par la forte mobilisation de trois unités de recherche et de notre service expérimental volailles en réponse à l'émergence d'une épizootie d'influenza aviaire de grande ampleur en France. Cette mobilisation, qui a démarré fin 2015, a été encore renforcée en 2017 avec l'émergence d'une nouvelle épizootie d'influenza aviaire à H5N8, qui a

été à l'origine de plus de 500 foyers en France. Cette année a été également celle de la finalisation des études pour la reconstruction de notre site d'expérimentation en élevages de volailles non confinés, qui devrait nous permettre de disposer d'un outil expérimental de haut niveau, pour l'étude du bien-être pour la santé des volailles.

> Mandats de références nationaux ou internationaux : **14**

> Publications internationales en anglais : **64**

> Nombre de conférences, invitations, posters dans des congrès internationaux et nationaux : **216**

> Formation doctorale: **13** thèses en cours, **3** thèses d'université soutenues.

> **10** habilitations à diriger les recherches

> Nombre de conventions de recherche actives : **17** signées en 2017, **13** en attente de décision, **32** projet déposés. plus de **60** conventions actives, **1** tremplin Carnot, **2** démarrages de projets européens en 2018, participation à l'European Joint Program : EJP « one health ».

> Convention de partenariat avec le conseil départemental des Côtes d'Armor : **800 000 €**

> Recettes des contrats de recherche hors partenariat avec le conseil départemental des Côtes d'Armor : plus de **2 M€**

## FAITS MARQUANTS .....

### UNITÉ HYGIÈNE ET QUALITÉ DES PRODUITS AVICOLES ET PORCIN

L'unité a produit des travaux sur *Campylobacter* en filière avicole, à travers deux thèses soutenues cette année : la première a permis le développement d'un vaccin selon une nouvelle approche de vaccinologie inverse et a pu démontrer la preuve du concept en identifiant de nouvelles protéines immunogènes. La seconde a consisté à déterminer la source des campylobactérioses en France, selon une approche génomique qui a confirmé l'implication de la filière avicole (poulets de chair) et a révélé en deuxième position, l'implication de la filière bovine.

L'unité a également produit des travaux sur *Salmonella* et *Yersinia* en filière porcine, à travers deux autres projets de thèse en cours : ces travaux ont porté sur le pouvoir colonisateur chez le porc, en modèle expérimental, des sérotypes majeurs de *Salmonella* et des biotypes majeurs de *Yersinia*.

Plusieurs articles décrivant l'ensemble de ces travaux ont été publiés ou sont en cours de publication dans des revues internationales (*Plos one*, *Applied and Environmental Microbiology*, *Vaccine*, *Foodborne Pathogens and Diseases*, *Veterinary Record*...).

### SERVICE D'ÉLEVAGE ET D'EXPÉRIMENTATION AVICOLE ET CUNICOLE

Le service conduit des expérimentations au service des unités du laboratoire 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 Épidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture et l'Institut technique de l'aviculture (Itavi).

### SERVICE DE PRODUCTION DE PORCS ASSAINIS ET EXPÉRIMENTATION

**Vers le remplacement de l'acte d'électronarcose, au cours des opérations d'hystérectomie**

Depuis 2013, le comité d'éthique et la structure bien-être du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané soulignent la nécessité de travailler sur le remplacement de l'acte d'étourdissement des truies par électronarcose, au cours des opérations d'hystérectomie. Le service de production de porcs assainis et d'expérimentation mène ainsi, depuis 2014, des travaux de recherche sur l'utilisation de produits anesthésiants et anal-

## FAITS MARQUANTS (SUITE)

gésiants destinés au remplacement de cet acte. Les deux unités d'épidémiologie et l'unité de virologie porcine du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, l'unité de chirurgie-anesthésie de l'École nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes-Atlantique (Oniris), ainsi que l'unité expérimentale Porcs de l'Institut national de la recherche agronomique (Inra) de Rennes ont été mobilisées pour ce travail. Plusieurs protocoles d'utilisation de produits, administrés seuls par voie veineuse ou en association avec inhalation d'un anesthésique gazeux, ont été testés sur huit truies gravides au cours de ces quatorze derniers mois. Ces opérations se sont déroulées à l'Inra Saint-Gilles. L'équipe de l'Anses a ainsi bénéficié d'équipements adaptés et du savoir-faire d'agents spécialisés dans la réalisation d'actes chirurgicaux. Les deux dernières opérations ont été réalisées le 27 novembre 2017. Elles ont permis de valider un protocole de remplacement de l'acte d'électroanesthésie. Ce protocole doit être mis en œuvre au cours de l'année 2018 selon des modalités qu'il conviendra d'adapter aux locaux du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané.

### UNITÉ MYCOPLASMOLOGIE - BACTÉRIOLOGIE

#### Développement des projets sur l'antibiorésistance en milieu aquatique et pisciculture

La thématique de l'antibiorésistance en milieu aquatique en lien avec la filière piscicole est traitée au sein de l'unité Mycoplasmiologie-bactériologie depuis 2014. Elle relève de trois axes scientifiques stratégiques de l'Agence : antibiorésistance, épidémiologie/surveillance et santé animale. En 2017 les projets en cours ont concerné trois des quatre missions des laboratoires de l'Anses :

- Référence analytique : trois projets en cours, pilotés par l'unité, portent sur des développements méthodologiques visant à améliorer la standardisation des méthodes d'analyses de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'origine aquatique et/ou pathogènes du poisson. Deux sont financés par le plan EcoAntibio2017, et sont conduits en partenariat avec les vétérinaires aquacoles et les laboratoires d'analyses vétérinaires. Ils visent les espèces *Yersinia ruckeri* et *Aeromonas salmonicida* et le genre bactérien *Vibrio*. Le troisième projet, financé par Covetlab, est réalisé en partenariat avec des collègues hollandais (Wageningen Bioveterinary Research of Wageningen) danois (Technical University of Denmark) et suédois (National Veterinary Institute) et il cible plus spécifiquement deux espèces de *Vibrio* pathogènes des poissons : *V. anguillarum* et *V. vulnificus*.

- Contribution à la surveillance/vigilance : l'environnement aquatique joue un rôle clé dans la dissémination de l'antibiorésistance.

Cependant, il n'existe pas de consensus sur un indicateur pour le milieu aquatique, à l'instar d'*Escherichia coli* pour les animaux à sang chaud. Des travaux ont été menés en collaboration intra - Anses (Ploufragan/Maisons-Alfort/Nancy), afin d'améliorer l'identification des différentes espèces au sein du genre bactérien *Aeromonas* et de définir des valeurs seuil de concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques, pour évaluer le potentiel d'*Aeromonas* en tant qu'indicateur de la dissémination de l'antibiorésistance en milieu aquatique.

Par ailleurs, peu de données sont disponibles sur l'impact des élevages piscicoles sur la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement aquatique. Depuis mars 2017, un suivi longitudinal de 18 mois est engagé en amont et en aval de deux piscicultures, avec la collecte bimensuelle d'échantillons d'eau et de biofilm. Plusieurs genres/espèces bactériens sont ciblés et leur sensibilité aux antibiotiques est analysée. Ce projet est financé par le compte d'affectation spéciale « développement agricole et rural » (Casdar) et associe les professionnels de la filière (éleveurs, groupement de défense sanitaire et le Comité interprofessionnel des produits de l'aquaculture), l'Institut technique de l'aviticulture et pisciculture (Itavi) et des partenaires de l'enseignement et de la recherche académique (Oniris, lycée aquacole de Bréhoulou, Université de Bordeaux).

- Recherche : l'unité Mycoplasmiologie-bactériologie, sur le volet environnemental et l'unité pathologie virale des poissons, sur le volet expérimentation animale, sont partenaires d'une thèse de doctorat de l'université de Nancy, pilotée par le Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour les matériaux et l'environnement (UMR 7564 CNRS) sur le rôle des éléments intégratifs conjuguatifs (ICE) de la famille SXT, dans la dissémination des gènes d'antibiorésistance en pisciculture

Le développement de cette thématique dans l'unité s'appuie sur des partenariats techniques et scientifiques diversifiés, nationaux et européens. Le financement de la thématique est assuré en partie par des conventions de recherche qui ont permis notamment l'embauche de deux techniciens à temps plein en contrat à durée déterminée.

## FAITS MARQUANTS (SUITE)

### UNITÉ PATHOLOGIE VIRALE DES POISSONS

#### Extension d'accréditation en biologie moléculaire santé animale (BioMol SA)

Afin de répondre à l'évolution récente de la réglementation européenne (décision d'exécution UE 2015/1554) concernant la reconnaissance officielle des méthodes moléculaires pour le diagnostic des maladies réglementées des poissons, le LNR a développé et validé en 2017, une première méthode de RT-PCR en temps réel qualitative, permettant la détection spécifique du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse (vNHI). Cette méthode intègre l'utilisation de bactériophages à ARN et ADN comme contrôles universels des processus d'extraction et de détection. La méthode complète a été audité par le Comité français d'accréditation (Cofrac) fin 2017. Elle sera complétée par une méthode spécifique du virus de la septicémie hémorragique virale (vSHV).

#### Emergences

Plusieurs méthodes de détection et de génotypage ont été développées, afin de faire face à des émergences de virus non réglementés. En particulier, une nouvelle souche de d'Orthoréovirus des poissons a été mise en évidence pour la première fois sur des saumons sauvages, ce qui rend nécessaire d'évaluer le risque de dissémination de ce virus vers d'autres salmonidés, y compris en élevage. En 2018, les efforts vont également porter vers le diagnostic d'un autre groupe de virus émergents en Europe, les rhabdovirus de percidés, au travers du projet Perci-Hatch, financé par le Fonds européen pour les affaires maritimes et la pêche (FEAMP).

#### Démarrage d'une thèse sur les effets du glyphosate sur la santé des poissons

Le glyphosate est l'un des herbicides à large spectre le plus utilisé dans le monde. Son innocuité sanitaire et environnementale divise les experts, notamment par rapport à la toxicité suspectée de certains co-formulants. Financé par la région Bretagne, le conseil départemental des Côtes d'Armor et l'agglomération de Saint-Brieuc, le projet GLYPHO<sub>TAC</sub> propose d'évaluer comparativement les impacts liés à une pollution simple (substance active seule), *versus* une pollution complexe (produit commercial avec les co-formulants) sur des géniteurs de truite arc en ciel et leurs descendances. Cette approche intégrera l'étude des perturbations induites sur les défenses immunitaires et antioxydantes, la reproduction ou encore sur le potentiel global de défense des individus contaminés face à une maladie infec-

teuse. La quantification du glyphosate dans les chairs de poisson permettra d'estimer le risque de bioconcentration, et d'émettre des recommandations sur la détermination des doses maximales sans effet prévisible, pour mieux protéger l'environnement et l'homme. Les premières contaminations expérimentales ont débuté en octobre 2017, pour un projet qui devrait durer jusqu'à fin 2020.

### UNITÉ GÉNÉTIQUE VIRALE ET BIOSÉCURITÉ

La diarrhée épidémique porcine est une maladie affectant les porcs qui se traduit par des diarrhées liquides et des vomissements. Elle est causée par un alpha-coronavirus, le virus de la DEP (PEDV). Deux formes ont été décrites, une forme modérément virulente associée à un virus noté « InDel » du fait d'insertion et de délétion dans la séquence codant pour la protéine de spicule S par rapport au virus noté « non-InDel », qui lui est associé à une forme hyper-virulente. Depuis mai 2017, la forme hyper-virulente DEP a été classée en catégorie 1 des dangers sanitaires en santé animale ; la forme modérément virulente liée aux souches de type « InDel » est classée en catégorie 2 (arrêté du 4 mai 2017). Le Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, via son unité de génétique virale et biosécurité, assure une mission de laboratoire national de référence, sans mandat officiel, sur la DEP.

En 2017, le laboratoire a confirmé le diagnostic de DEP dans trois élevages en France : un élevage en Bretagne, en janvier 2017, un élevage dans l'Yonne, en février 2017, et un élevage dans les Landes, en mars 2017. Le premier travail de l'unité a été de caractériser les souches de PEDV dans ces foyers qui étaient toutes de type « InDel » modérément pathogène, et étaient identiques sur la partie S1 du génome viral. Les deux premiers foyers peuvent s'expliquer par une introduction du virus via l'importation d'animaux, ou via les camions souillés ayant servi à leur transport. Les données des suivis réalisés par l'unité, montrent que les animaux infectés excrètent durant une vingtaine de jours, et ce même après l'arrêt des symptômes. À titre expérimental, des mesures de gestion appliquées à certains des élevages ont permis d'assainir l'élevage au bout de plusieurs mois (six à sept). Afin d'améliorer le diagnostic, lors de suspicion de DEP, une méthode de RT-PCR différenciant les souches « InDel » et « non-InDel » a été développée. Cette méthode permet de savoir plus rapidement quel est le type de souche de PEDV dans l'échantillon, avant même d'avoir les résultats de séquençage de tout ou partie du génome viral.



## FAITS MARQUANTS (SUITE)

---

L'unité Génétique virale et biosécurité a réalisé, en 2017, une étude afin de déterminer la pathogénicité d'une des souches de PEDV isolée en 2017, ainsi que des études comparatives de pathogénicité et de transmission d'une souche « InDel » et d'une souche « non-InDel », et ce dans le cadre d'une thèse en collaboration avec l'unité d'épidémiologie porcine du laboratoire et avec l'unité mixte Infectiologie et santé publique de l'Inra de Nouzilly. Les résultats montrent que la voie principale de transmission est le contact direct pour la souche « InDel », alors que la voie aérienne s'ajoute au contact direct pour la transmission de la souche « non-InDel ». La quantification de la transmission souligne un taux de propagation plus élevé pour la souche « non-InDel ».

Enfin, suite à la sollicitation de l'Association nationale sanitaire porcine, le laboratoire a évalué des kits de détection d'anticorps spécifiques du virus de la DEP, actuellement commercialisés pour mener une enquête nationale de séroprévalence.

### UNITÉ VIROLOGIE, IMMUNOLOGIE PORCINE

Le contrôle de l'infection par le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) fait essentiellement appel à la vaccination à l'aide de vaccins vivants atténués (*modified live vaccine* : MLV). En France, le nombre de MLV anti-SDRP disponibles est passé de un à quatre au cours des cinq dernières années. Cependant, l'utilisation de vaccins vivants différents dans un même élevage peut poser des problèmes d'innocuité. En effet, au sein d'un élevage dans lequel deux MLV anti-SDRP ont été utilisés à quelques semaines d'intervalle, nous avons mis en évidence, pour la première fois, une souche recombinante entre les deux souches vaccinales. L'infection expérimentale de porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiés avec cette souche recombinante a montré des niveaux de virémie et de transmission augmentés par rapport aux deux souches vaccinales parentales. Ces résultats devraient amener l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV) à proposer de nouvelles recommandations sur l'utilisation des MLV anti-SDRP en élevage, afin de prévenir l'apparition de telles souches recombinantes.

Pour étudier de manière plus large les questions relatives à l'innocuité des MLV anti-SDRP, une thèse a été initiée début 2017 au laboratoire. Cette thèse, menée en collaboration avec l'ANMV, bénéficie d'un co-financement de l'Anses et de la région Bretagne.

### UNITÉ VIROLOGIE, IMMUNOLOGIE, PARASITOLOGIE AVIAIRES ET CUNICOLES

L'activité de l'unité a de nouveau été marquée en 2017, par les travaux consacrés à l'influenza aviaire, avec (i) une inspection par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), en lien avec la réglementation sur les micro-organismes et toxines, (ii), la réalisation des analyses confirmatoires et la contribution à l'élaboration des avis et textes en appui à la gestion d'une crise sanitaire sans précédent (plus de 400 foyers en 2017) due à un virus H5N8 hautement pathogène, (iii) la conduite d'essais expérimentaux pour évaluer la survie du virus ou l'efficacité de vaccins commerciaux ou expérimentaux disponibles à l'étranger, (iv) le transfert de nouvelles méthodes de dépistage et la mise en place d'un contrôle officiel initial de trousse commerciales de diagnostic, (v) l'appui au ministère de l'Agriculture, pour la mise en place d'un réseau de laboratoires reconnus qui permettront aux professionnels de participer par leurs autocontrôles à la surveillance assurée par les services vétérinaires de l'Etat.

### UNITÉ ÉPIDÉMIOLOGIE ET BIEN-ÊTRE EN AVICULTURE ET CUNICULTURE

L'unité a organisé, avec le support logistique de l'Institut supérieur des productions animales et industries agroalimentaires (Ispaia), la dixième édition du Symposium Poultry Welfare de la World's Poultry Science Association (WPSA) du 19 au 22 juin, à Ploufragan.

Plus de 200 participants, venant de 27 pays des cinq continents, étaient représentés. Les neuf sessions scientifiques ont porté notamment, sur les effets du jeune âge sur la santé et le bien-être des volailles, les études cognitives pour évaluer le bien-être, les conditions d'enlèvement des animaux pour le transport à l'abattoir, le picage chez les poules pondeuses et la problématique de l'épointage du bec, l'abattage (notamment les nouvelles méthodes d'abattage à la ferme), l'apport de l'élevage de précision sur l'évaluation du bien-être, les différentes perceptions du consommateur. Elles ont été suivies, avec beaucoup d'intérêt, par l'ensemble du public de chercheurs, vétérinaires, industriels et professionnels présents. Pas moins de 60 posters et 53 présentations orales ont été présentés. Des visites techniques étaient également proposées (élevages de canards, poules en volières, ou au sol, élevage de poulets biologiques ou label-rouge), afin de faire connaître la diversité de notre région de production aux participants.

## FAITS MARQUANTS (SUITE)

### UNITÉ ÉPIDÉMIOLOGIE ET BIEN-ÊTRE DU PORC

#### **Analyse des données de mouvements d'animaux dans une perspective d'une surveillance épidémiologique fondée sur le risque.**

L'analyse des données de mouvement d'animaux est une composante essentielle pour la compréhension de la dynamique d'infection et de la propagation des pathogènes à l'échelle d'un territoire. L'analyse de réseaux, (souvent dénommée SNA pour « *social network analysis* ») permet d'identifier, au travers d'indicateurs de centralité, les acteurs principaux au sein du réseau et de mettre en évidence l'existence de communautés dont les membres ont des relations privilégiées. L'association d'une telle analyse avec des données épidémiologiques permet l'étude des facteurs de risque, liés aux caractéristiques des mouvements et ainsi de développer des programmes de surveillance fondés sur le risque. Ainsi, une analyse de réseau des échanges de porcs à l'échelle nationale entre 2012 et 2015 a été effectuée. Les résultats ont ensuite été couplés à une étude de prévalence sur le virus de l'hépatite E (HEV) en élevage porcins, afin d'évaluer (i) l'impact des mouvements sur la prévalence d'un pathogène et (ii) le risque d'exposition des départements français en fonction de l'importance de leurs échanges.

L'analyse du réseau d'échange de porcs sur trois années consécutives a montré que les élevages de sélection, de multiplication et les post-sevriers jouaient un rôle central dans la diffusion des maladies qui se transmettent exclusivement via les échanges d'animaux. Les élevages naisseur-engraisseurs apparaissent en revanche plus vulnérables, vis-à-vis de l'introduction de maladies infectieuses se transmettant également de manière indirecte (via les véhicules de transport).

Le réseau des mouvements de porcs (données BDporc, 2013) et les résultats d'une enquête nationale de prévalence

du HEV (données de 172 élevages dans 49 départements, 2009) ont été modélisés et analysés. Le lien entre les indicateurs de centralité des élevages et leur niveau de séroprévalence HEV a été exploré grâce à un modèle linéaire généralisé. La multiplicité des approvisionnements d'un élevage (degré entrant), ainsi que sa centralité de proximité par ses liens entrants, apparaissent statistiquement associées à une séroprévalence HEV élevée dans l'élevage. Le risque d'exposition au HEV d'un département a été évalué en combinant la distribution de la prévalence du HEV dans les départements sources, avec le nombre de mouvements en provenance de ces départements. Une grande variabilité du risque d'exposition au HEV est observée selon les départements français, ce qui confirme l'intérêt de développer des stratégies de surveillance ciblées et différenciées selon le niveau de risque de la zone géographique. De plus, les différences entre les niveaux de prévalence et ceux du risque d'exposition des départements justifient de surveiller, non seulement les zones fortement prévalentes, mais aussi celles recevant des animaux en provenance de zones infectées.

Les méthodes proposées dans cette étude démontrent que des paramètres à l'échelle de l'élevage ou du département dérivés des caractéristiques du réseau de mouvements d'animaux peuvent orienter la sélection des élevages pour des programmes de surveillance fondés sur le risque, ou la mise en place de stratégies de surveillance différenciées selon les caractéristiques de mouvements des zones géographiques. La méthodologie développée peut être déclinée pour toute problématique de santé animale ou de santé publique vétérinaire pour laquelle les échanges d'animaux sont susceptibles de participer à la propagation des pathogènes au sein de la population.

