

# RAPPORT D'ACTIVITÉ 2017

LE LABORATOIRE DE SOPHIA ANTIPOLIS

anses

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

Le laboratoire de Sophia Antipolis compte une trentaine de personnes et comprend deux unités de recherche et de référence: l'unité Pathologie de l'abeille et l'unité Fièvre Q animale. Elles détiennent les mandats de laboratoire national de référence (LNR) dans leur domaine respectif. Le laboratoire est laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour la santé des abeilles et laboratoire de référence OIE pour les maladies des abeilles et pour la fièvre Q. Le laboratoire est également LNR associé au Laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses, pour la recherche de résidus de pesticides. 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 transmissions des maladies, mise au point d'outils diagnostiques...) et fournissent un appui scientifique et technique aux services vétérinaires (encadrement de réseaux de laboratoire agréés, mise au point de méthodes de détection, d'identification et de quantification, fourniture de réactifs de référence, expertise d'outils de diagnostic ...). Enfin, le laboratoire concourt à la surveillance épidémiologique de la fièvre Q animale et des phénomènes de mortalités de colonies d'abeilles.

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

En 2017, l'unité Pathologie de l'abeille a maintenu une activité soutenue dans le domaine de la référence, notamment par l'organisation de trois essais inter-laboratoires (EIL) aux niveaux national et international. Elle a été fortement impliquée dans les dispositifs de surveillance, et entre autres, les actions de référence ou de recherche sur le petit coléoptère des ruches, détecté pour la première fois en Europe dans le sud de l'Italie en 2014, sont restées nombreuses en termes d'appui scientifique à la direction générale de l'Alimentation (DGAL). L'année a également été marquée par l'aboutissement d'un projet de thèse et l'implication forte dans le montage d'un consortium en réponse à un appel à

projet de recherche H2020, dans lequel le laboratoire est pilote d'un « workpackage », qui s'est soldé par un succès début 2018.

L'unité Fièvre Q animale a maintenu son activité de référence et d'appui scientifique et technique, et vise à inscrire ses actions futures dans le dispositif français de surveillance des avortements des ruminants (Oscar). L'unité s'est notamment fortement impliquée en 2017, dans une enquête épidémiologique suite à la survenue de cas humains de fièvre Q groupés dans la région de Niort, et a organisé pour la première fois un EIL pour le diagnostic de fièvre Q par PCR.

## TRAVAUX RÉALISÉS .....

### UNITÉ PATHOLOGIE DE L'ABEILLE

#### Dispositifs de surveillance

En 2017, l'unité a poursuivi son action dans plusieurs dispositifs de surveillance pilotés par la DGAL : surveillance du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*), notamment dans le cadre d'une saisine sur la surveillance de cet insecte, parasite des abeilles, en Italie ; surveillance du parasite *Varroa destructor*, notamment la confirmation de sa détection pour la première fois sur l'île de La Réunion ; et la participation au comité de pilotage de l'Observatoire des mortalités et alertes de l'abeille mellifère (OMAA).

L'équipe a également été mobilisée pour l'élaboration d'un numéro spécial du *Bulletin épidémiologique santé animale-alimentation sur les abeilles*.

#### *Aethina tumida*

La veille sur la situation relative à la présence de *A. tumida* dans le sud de l'Italie a été poursuivie et les informations sont régulièrement actualisées sur le site de la Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en

santé animale (ESA), ainsi que sur le site du LRUE<sup>1</sup>. Par ailleurs, le laboratoire continue son travail de recherche par la validation de la méthode de détection du petit coléoptère dans les débris de la ruche par PCR en temps réel et la séquence du génome mitochondrial de cet insecte a été publiée.

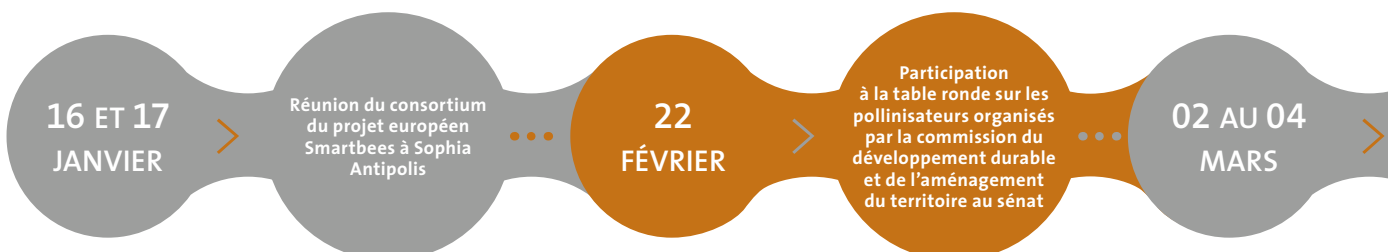
#### Recherche

Les travaux de thèse, initiés en décembre 2014, dans le cadre d'une codirection entre l'Inra d'Avignon et le Laboratoire de Sophia Antipolis ont été finalisés en décembre 2017 (cf. projets menés à terme).

Par ailleurs, l'unité a poursuivi son action dans le projet Smartbees (Sustainable Management of Resilient Bee population) et s'est engagée dans un consortium en réponse à l'appel à projet H2020 (SFS 16-2017 « Bee health and Sustainable Pollination ») (cf. encadré).

<sup>1</sup><https://sites.anses.fr/en/minisite/abeilles/eurl-bee-health-home>

## CHRONOLOGIE .....



## TRAVAUX RÉALISÉS (SUITE)

### Étude des effets des produits chimiques sur la santé des abeilles

L'unité a poursuivi son engagement dans l'étude des effets des produits chimiques sur la santé des abeilles, notamment par la participation au comité de pilotage de l'étude Bapesa, concernant les effets non intentionnels des produits biocides et antiparasitaires utilisés en élevages sur la santé des colonies d'abeilles, et en appui au Laboratoire spécialisé dans l'analyse de résidus de pesticides (Girpa) sur le volet analytique de l'étude, pour définir les modalités de validation des méthodes d'analyse de résidus chimiques.

Par ailleurs, le laboratoire a réalisé des analyses de recherche des néonicotinoïdes, dans le cadre de plusieurs études sur les contaminations par les pesticides :

- Projet sur la « Validation d'une méthode mesurant les effets des produits de protection des plantes sur le vol de retour à la ruche des butineuses d'abeilles domestiques » coordonné par l'Acta (instituts techniques agricoles) et piloté par l'Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation (Itsap) ;

- Poursuite des études sur les néonicotinoïdes en rémanence dans l'environnement avec l'Institut national de la recherche agronomique (Inra) du Magneraud, l'unité mixte technologique-Prade et l'Itsap et le Centre national de la recherche scientifique (CNRS) de Chizé. Analyses de nectar de colza et de tournesol (projet Sudoe) ;

- Problèmes de mortalité et de dépopulation observés dans la région Midi-Pyrénées sur les miellées de tournesols : analyses des néonicotinoïdes dans les abeilles, pollen et pain d'abeille. L'unité a également réalisé des analyses pour la présence de virus.

### UNITÉ FIÈVRE Q ANIMALE

#### Alerte fièvre Q dans la région de Niort

En 2017, le laboratoire a participé à une enquête

épidémiologique transversale suite à l'émergence de douze cas humains groupés de fièvre Q, une maladie causée par la bactérie *Coxiella burnetii*, au cours du printemps. Au plan animal, une enquête a permis de cibler 36 élevages d'ovins et de caprins dans une zone géographique de quatre kilomètres autour des cas humains. Environ 47 % des élevages présentaient un animal séropositif pour la fièvre Q. Les analyses PCR ont montré l'excrétion de la bactérie dans huit élevages. La contamination bactérienne a été confirmée dans treize élevages par des recherches PCR sur des poussières de bâtiments d'élevages. D'après les résultats sérologiques et les niveaux de charges mesurés par PCR, six élevages ont été identifiés comme potentiellement à risque lors de la période d'exposition. Une communication auprès des éleveurs qui ont participé à cette enquête a été réalisée pour informer des résultats et proposer des recommandations sur les pratiques d'épandages, de vaccination et de déclaration des avortements. Une étude plus approfondie, associant différentes parties prenantes, l'Inra de Theix et le Laboratoire de Niort (Anses), a été élaborée et soumise pour financement. Cette étude devrait permettre d'évaluer la contamination environnementale dans les poussières des bâtiments des élevages de petits ruminants, et des autres sites potentiellement à risque, d'apporter des éléments sur la faisabilité et la pertinence du recours à des prélèvements environnementaux pour l'identification rapide des sources de contamination, et de disposer de matériaux pour isoler et caractériser les souches circulantes en comparaison avec la (les) souche(s) impliquée(s) dans les cas humains diagnostiqués.

#### Mise en place d'un modèle d'infection *in vivo* sur larves d'insectes

Afin de caractériser et comparer le pouvoir pathogène des souches de *Coxiella burnetii*, un nouveau modèle

Participation au congrès européen d'apiculture BEECOME à Piacenza en Italie

AVRIL - MAI

Alerte fièvre Q dans la région de Niort.

9  
MAI

Confirmation de cas de varroose sur l'île de La Réunion

## TRAVAUX RÉALISÉS (SUITE)

alternatif à l'expérimentation sur souris a été mis en place en 2017. Ce modèle, qui est basé sur la mortalité induite suite à une inoculation de la bactérie à des larves de *Galleria mellonella*, a permis de mettre en évidence trois niveaux de virulence (faible, moyen et fort), sur les dix souches isolées de ruminants testées. Cet outil permettra notamment à l'avenir d'entreprendre des investigations pour apprécier le risque infectieux dans l'environnement.

### UNE THÈSE SUR LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DE *COXIELLA BURNETII*

Afin d'étudier les liens entre génotypes et traits de virulence et d'identifier l'origine des épidémies de fièvre Q, un travail de thèse de doctorat s'est conclu en 2017 sur la caractérisation moléculaire des souches de la bactérie *Coxiella burnetii* circulant dans les fermes de ruminants en France (cf. projets menés à terme).

## PROJETS MENÉS À TERME

### UNE THÈSE DE DOCTORAT SUR LE RÔLE DES INTERACTIONS VIRUS/PESTICIDES DANS LE DÉCLIN DES ABEILLES

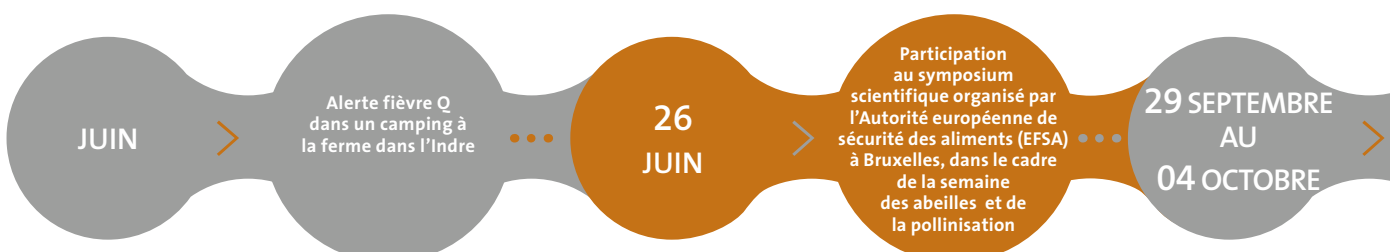
Dans le cadre d'un partenariat avec l'unité Abeilles et environnement de l'Inra d'Avignon, le Laboratoire a étudié les effets d'une co-exposition entre le thiaméthoxam, un insecticide néonicotinoïde, et deux virus de l'abeille, le virus des ailes déformées (DWV) et le virus de la paralysie chronique (CBPV). Des interactions ont ainsi pu être mises en évidence entre ces différents facteurs de stress. La cinétique de métabolisation du thiaméthoxam a été étudiée pour la première fois chez l'abeille, et nous avons montré que le métabolite principal de cet insecticide est fortement excrété. Lorsque les abeilles sont exposées à des fortes doses chroniques de thiaméthoxam et au CBPV, un effet synergique sur la mortalité a été observé parallèlement à une augmentation des charges virales de CBPV, qui pourrait être dû à un effet du thiaméthoxam sur dorsal-1a, un facteur de l'immunité. Cependant, ces effets semblent être modulés selon les conditions expérimentales, comme la période de l'année (été ou hiver). En outre, lorsqu'une colonie est exposée à une dose sublétalement aiguë de thiaméthoxam et au DWV, on observe des premières

sorties de butinage extrêmement précoces chez les abeilles, ainsi que de fortes proportions de premiers vols sans retour, ce qui pourrait à terme avoir un effet dévastateur sur les colonies. Les sorties précoces pourraient être liées à une baisse significative de la transcription de la vittelogénine, protéine entrant en jeu dans les mécanismes de vieillissement. Enfin, le développement de clones moléculaires du DWV a été amorcé, ce qui pourra à terme permettre des études de génétique inverse sur ce virus, qui pourront expliquer ses modes de transmission et d'infections encore inconnus à ce jour.

### DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET PHÉNOTYPIQUE DE LA BACTÉRIE *COXIELLA BURNETII*, AGENT DE LA FIÈVRE Q, CHEZ LES RUMINANTS DOMESTIQUES ET LES CHEVAUX EN FRANCE.

Dans le cadre d'un travail de doctorat conduit en partenariat avec l'Inra de Theix et VetAgroSup Lyon, nous avons identifié trois grands clusters génotypiques de souches circulantes dans les élevages de ruminants domestiques en contexte d'avortements de fièvre Q en France. Deux clusters génotypiques regroupent

## CHRONOLOGIE



## PROJETS MENÉS À TERME (SUITE)

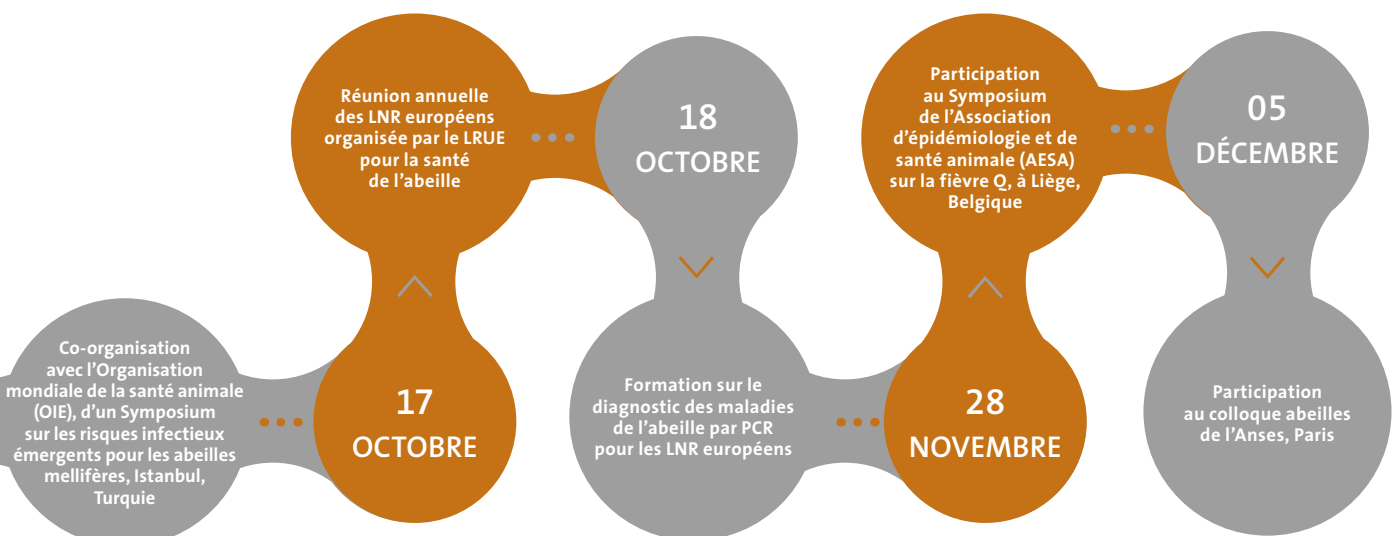
majoritairement les petits ruminants, dont un principalement les ovins et l'autre les caprins. Le troisième cluster génotypique est composé quasi-exclusivement de bovins. Nous avons montré que le gène IS1111 impacte significativement la diversité génotypique MLVA observée. Nous avons également montré qu'en plus d'une spécificité d'espèce, les génotypes circulants en France sont stables d'un point de vue spatio-temporel. À l'aide de différents modèles d'infection, nous avons montré que les clusters génotypiques n'étaient pas systématiquement corrélés aux quatre clusters

phénotypiques identifiés *in vivo* ou *in vitro*. Enfin, les séroprévalences obtenues chez le cheval dans une zone hyper endémique pour l'Homme suggèrent que les chevaux seraient des indicateurs pertinents du risque zoonotique. Ces résultats permettent une meilleure compréhension de la dynamique de circulation et des conséquences de l'infection par *C. burnetii* en élevages de ruminants domestiques et de chevaux, et permettront *in fine* d'améliorer la surveillance, le diagnostic ainsi que la mise en œuvre de mesures de gestion sanitaire de la fièvre Q en santé publique et vétérinaire.

## PRINCIPALES PUBLICATIONS

- Benuszak, J., et coll. 2017. The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; *Hymenoptera: Apidae*) to pesticides: Room for improvement in research.» *Science of The Total Environment*. 587: 423-438.
- Coulon M, et coll. 2017. Metabolisation of thiamethoxam (a neonicotinoid pesticide) and interaction with the chronic bee paralysis virus in honeybees. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. doi: 10.1016/j.pestbp.10.009
- De Crémoux R, et coll. 2017. A pilot program for clinical Q fever surveillance as a first step for a standardized differential diagnosis of abortions: organizational lessons applied to goats farms. *Small Ruminant Research*. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.09.008.
- Desjardins A, et coll. 2017. Seroprevalence of horses to *Coxiella burnetii* in an Q fever endemic area. *Veterinary microbiologie*. doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.012

- Dubois E, et coll. 2017. Effect of pollen traps on the relapse of chronic bee paralysis in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*. doi: 10.1007/s13592-017-0547-x.
- Duquesne V, et coll. 2017. Complete mitochondrial genome sequence of *Aethina tumida* (Coleoptera: nitidulidae), a beekeeping pest. *Genome Announc*. 5:e01165-17.
- Franco S, et coll. 2017. Le laboratoire national et européen de référence pour la santé des abeilles (Anses, Sophia Antipolis). *Bulletin épidémiologique* 81. Numéro spécial Abeilles.
- Franco S, et coll. 2017. Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) : situation trois ans après sa détection en Italie en 2014. *Bulletin épidémiologique* 81. Numéro spécial Abeilles.



## PRINCIPALES PUBLICATIONS (SUITE) .....

- Gache K et coll. 2017. Estimation of the frequency of Q fever in sheep, goat and cattle herds in France: results of a 3-year study of the seroprevalence of Q fever and excretion level of *Coxiella burnetii* in abortive episodes. *Epidemiology and Infection*. 145 : 3131–3142.
- Jacques A, et coll. 2017. Une étude épidémiologique pan-européenne montre que la survie des colonies d'abeilles serait influencée par la formation des apiculteurs et par le contrôle des maladies. *Bulletin épidémiologique 81. Numéro spécial Abeilles*.
- Jacques A, et coll. 2017. A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. *PlosOne E 12(3): e0172591*.
- Joulié A, et coll. 2017. Molecular epidemiology of *Coxiella burnetii* in French livestock reveals the existence of three main genotype clusters and suggests species-specific associations as well as regional stability.» *Infection, Genetics and Evolution 48: 142-149*.
- Joulié A, et coll. 2017. *Coxiella burnetii* circulation in a naturally infected flock of sheep: individual follow-up of antibodies in serum and milk. *Applied and Environmental Microbiology 83:e00222-17*.
- Hendriks P, et coll. 2017. L'épidémiologie appliquée à la santé de l'abeille domestique. *Bulletin épidémiologique 81. Numéro spécial Abeilles*.
- Hendriks P, et coll. 2017. Evaluation du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France métropolitaine par la méthode Oasis. *Bulletin épidémiologique 81. Numéro spécial Abeilles*
- Meziani F, et coll. 2017. Ecotox : bilan de la première étude officielle de contamination des ruchers en France par des xénobiotiques, dans le cadre du dispositif Résabeilles. *Bulletin épidémiologique 81. Numéro spécial Abeilles*.
- Pellerin JL, et coll. 2017. Attachment of *Coxiella burnetii* to the zona pellucida of in vitro produced goat embryos. *Theriogenology. 106:259-264*.

### COORDINATION DES RÉSEAUX DE LABORATOIRES, UNE ACTIVITÉ SOUTENUE

L'unité Pathologie de l'abeille a poursuivi son engagement dans la coordination des réseaux de laboratoires par :

- La mise en ligne d'une méthode de référence sur le site Internet de l'Anses et de quatre méthodes sur le site Internet du LRUE.
- La révision du manuel de l'OIE pour l'intégration de nouvelles méthodes d'identification morphologique et moléculaire d'*A. tumida* et de *Tropilaelaps* spp.
- L'organisation de trois EIL aux niveaux national et européen sur : (1) la détection et le comptage des spores de *Nosema* spp. en microscopie (huit participants français, 22 européens), (2) la recherche du virus de la paralysie chronique par biologie moléculaire (six participants français, quinze européens, un canadien), et (3) pour la première fois un EIL sur les méthodes de détection et de quantification des pesticides dans le pain d'abeille (treize participants européens).

La méthode PCR est une méthode diagnostique de la fièvre Q couramment utilisée dans les laboratoires d'analyses vétérinaires. Afin de répondre à un besoin exprimé par le réseau des laboratoires agréés et de s'assurer de la fiabilité des analyses réalisées, l'unité Fièvre Q animale a organisé pour la première fois un EIL, dans le cadre de ses missions de référence sur la fièvre Q. Au total, 53 laboratoires ont participé à cet essai, dont 16 laboratoires étrangers. Les méthodes ciblées étaient celles recommandées par le laboratoire et validées pour le diagnostic d'avortement. Cet EIL a permis globalement de constater une bonne fiabilité des résultats émis par un large réseau de laboratoires et de vérifier les performances comparables des diverses méthodes utilisées.

### POSHBEE : PROGNOSIS OF STRESSORS ON THE HEALTH OF BEES IN EUROPE

Le projet Poshbee, qui a été sélectionné par l'Union européenne en réponse à l'appel à projet SFS 16-2017 « Bee health and Sustainable Pollination », inclut plus de quarante partenaires et va débuter en 2018, pour une durée de cinq ans. Il vise à étudier l'impact de l'exposition des abeilles aux contaminants chimiques, aux agents parasitaires et infectieux et aux stress nutritionnels dans le but de fournir de nouvelles données scientifiques et des outils de contrôle aux autorités compétentes. Le laboratoire est pilote d'un groupe de huit partenaires pour la recherche des agents parasitaires et infectieux et des contaminants chimiques, principalement des néonicotinoïdes, dans les matrices apicoles.



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](http://www.anses.fr)  
[@Anses\\_fr](https://twitter.com/Anses_fr)