

Promoteurs

Prof. Claude SAEGERMAN

Epidémiologie et Analyses du Risque appliquées aux Sciences vétérinaires (UREAR-ULiège), Dépt. des Maladies infectieuses et parasitaires, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire, ULiège

Dr. Vincent BAETEN

Unité Qualité des produits, Dépt. Valorisation des productions, Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W)

Membres du jury

Dr. Ursula VINCENT

Unité Food and Feed Compliance, Joint Research Centre (JRC)

Dr. Emmanuel VANOPDENBOSCH

European TSE expert

Dr. Frédéric DEBODE

Unité Authentification et Traçabilité, Dépt. Valorisation des productions, Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W)

Prof. Marie-Louise SCIPPO

Unité Analyse des Denrées alimentaires, Dépt. des Sciences des Denrées alimentaires, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire, ULiège

Prof. Jean-Luc HORNICK

Unité Nutrition des Animaux domestiques, Dépt. de Gestion vétérinaire des Ressources animales, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire, ULiège

Prof. Gauthier EPPE

Unité de Chimie analytique inorganique, Dépt. de Chimie, ULiège

Dr. Mutien-Marie GARIGLIANY (Président)

Unité Pathologie, Dépt. de Morphologie et Pathologie, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire, ULiège

Comité de thèse

Prof. Etienne THIRY

Unité Virologie vétérinaire et Maladies virales animales, Dépt. des Maladies infectieuses et parasitaires, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire, ULiège

Nadine Antoine

Unité Histologie et Embryologie, Dépt. de Morphologie et Pathologie, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire, ULiège

Curriculum Vitae

Marie-Caroline Lecrenier (née le 28/02/1980 à Liège, Belgique) a été diplômée Docteur en Médecine vétérinaire (DMV) de l'Université de Liège en 2004. Elle a débuté sa carrière en tant que vétérinaire praticienne au centre de reproduction équine (LINALUX) à Ciney où son activité était répartie entre la gestion d'étalons (récolte de semence, congélation, gestion sanitaire et exportation), le suivi gynécologique et des projets de recherche tel que la mise en place et l'optimisation des protocoles de transfert d'embryons.

Marie-Caroline a ensuite rejoint l'Unité Qualité des Produits du Département Valorisation de productions au Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) en 2012. Son principal projet de recherche s'inscrit dans le cadre des activités du Laboratoire Européen de référence pour la détection des protéines animales dans l'alimentation des animaux d'élevage (EURL-AP). Dans ce contexte, sa mission principale est le développement de méthodes analytiques complémentaires pour la détection de sous-produits d'origine animale dans les aliments. Parallèlement à cela, elle a entamé un doctorat en sciences vétérinaires au sein de l'Université de Liège sur le même sujet.

Dans le cadre de ses activités de développement de méthodes analytiques, elle a également été impliquée dans le projet FERTIWALIM portant sur l'optimisation de la fertilité des taureaux d'insémination et des vaches laitières par l'amélioration de leur alimentation et de la technologie de production. Elle mène aussi ses recherches dans le cadre du projet ENTOFÔR, projet s'inscrivant dans une démarche de valorisation des déchets dans l'élevage d'insectes à destination de l'alimentation animale. De par son expertise en tant que membre de l'EURL-AP, elle contribue au développement et à l'optimisation de méthodes d'extractions, de purification et de digestion protéiques en vue de la construction d'une base de données spectrales pour les insectes et les déchets.

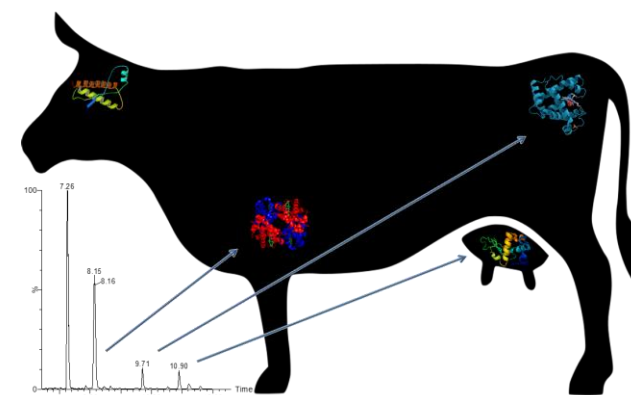
Marie-Caroline est actuellement responsable recherche & développement au CRA-W où elle poursuit ses activités de développement de méthodes analytiques.



INVITATION

Défense publique de la thèse de doctorat de

Marie-Caroline LECRENIER



20 mai 2019

Université de Liège

Faculté de Médecine vétérinaire

Département des maladies infectieuses et parasitaires
Epidémiologie et analyses du risque appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR-ULiège)

FARAH (*Fundamental and Applied Research for Animal and Health*)

*Vous êtes cordialement invité à la défense publique de la
thèse de doctorat en Sciences vétérinaires de*

Marie-Caroline LECRENIER

Titre de la thèse:

**Développement de méthodes
complémentaires pour la détection de
produits d'origine animale dans les aliments
pour animaux d'élevage**

***Development of complementary methods for
the detection of animal by-products in
feedingstuffs***

La défense aura lieu le :

Lundi 20 mai 2019

A 16h00

Amphithéâtre C - Auguste Thiernes

Faculté de Médecine vétérinaire
Quartier Vallée 2, Avenue de Cureghem 7A, B42
B-4000 Liège

La défense publique sera suivie d'une réception

**RSVP pour le 3 mai 2019 à
m.lecrenier@cra.wallonie.be**

Résumé

Depuis le milieu des années 80, l'apparition de plusieurs encéphalopathies spongiformes transmissibles a été constatée chez l'homme et chez les animaux. La consommation par les bovins de farines de viande et d'os dans lesquelles étaient incorporées des carcasses d'animaux infectés fut incriminée. L'utilisation de tels sous-produits d'animaux a tout d'abord été interdite dans les aliments à destination des ruminants puis étendue à tous les animaux de rente destinés à l'alimentation.

Grâce aux efforts de prévention et de contrôle, une levée progressive de cette interdiction est maintenant possible. Néanmoins, dans certains cas, la combinaison des méthodes d'analyses officielles (microscopie optique et PCR) ne permet pas de différencier certains sous-produits d'origine animale ce qui peut rendre les résultats ininterprétables.

Dans ce contexte et cette dynamique d'assouplissement, le défi reste donc le développement de méthodes complémentaires afin de pouvoir identifier les ingrédients présents.

Cette thèse de doctorat s'est concentrée sur :

1. L'évaluation de la législation actuelle et des méthodes d'analyse disponibles pour la détection de protéines animales;
2. Le développement d'une méthode d'hybridation in situ en fluorescence combinant les avantages de la microscopie (localisation et identification des tissus) et des techniques de biologie moléculaire (identification de l'espèce par l'ADN);
3. L'identification de peptides spécifiques de produits dérivés de sang par spectrométrie de masse à haute résolution et
4. Le développement d'une méthode de spectrométrie de masse en tandem sensible et applicable en routine ouvrant une nouvelle voie à la détection des protéines animales transformées.

L'**étude 1** nous a permis, par l'analyse d'aliments pour animaux issus de l'industrie, d'évaluer en conditions réelles les méthodes officielles et d'identifier les besoins analytiques. Sur base de cette étude, nous avons pu conclure que les méthodes complémentaires doivent permettre de déterminer conjointement le type de sous-produits présent et l'espèce à l'origine de ce sous-produit.

Dans l'**étude 2**, une technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) a été évaluée sur des farines d'os afin de combiner les avantages de la microscopie (la localisation et l'identification du type de sous-produits) à celle des techniques génomiques (l'identification de l'espèce à l'aide de sondes ADN spécifiques). Cette méthode s'est révélée sensible et spécifique mais difficilement adaptable aux farines industrielles. Les études 3 et 4 ont été consacrées à la détection spécifique d'autres types de sous-produits animaux tels que les farines de sang et les produits sanguins. S'il est possible d'identifier l'ADN spécifique à une espèce à l'aide d'une approche génomique, l'utilisation de peptides, en tant que biomarqueurs, peut permettre d'identifier une protéine spécifique d'un tissu en même temps que son espèce d'origine. Les études 3 et 4 ont donc suivi une approche protéomique basée sur la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). L'**étude 3** nous a permis d'identifier des peptides biomarqueurs spécifiques selon une approche non ciblée par spectrométrie de masse en haute résolution (LC-HRMS). L'**étude 4** a été consacrée au développement d'une méthode MS/MS rapide, sensible et spécifique, adaptée aux analyses de routine. Pour cela, une approche ciblée de type « Multiple Reaction Monitoring » (MRM) a été utilisée afin de concevoir une méthode UHPLC-MS/MS capable de détecter simultanément plusieurs sous-produits (dérivés du sang de bovin et lait) dans les aliments pour animaux. Finalement, sur base de ces résultats, de nouveaux schémas analytiques ont été proposés ainsi que des pistes pour la suite des développements analytiques. La réalisation de cette thèse a également conduit à la création et au renforcement de partenariats avec différents instituts de recherche et universités par une collaboration interdisciplinaire entre des scientifiques ayant des formations et expertises différentes et complémentaires.

