

Rapport annuel d'activité, année 2019
Laboratoire National de Référence
Brucelloses animales (y compris pour le contrôle officiel des
brucellines)

Nom du responsable du LNR

Claire PONSART

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de santé animale

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Unité Zoonoses Bactériennes

Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

NR

Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

NR

Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat

Infection à *Brucella* toutes espèces sauf *B. suis* biovar 2 et *B. ovis* = cat. 1

Brucellose porcine à *B. suis* biovar 2 = cat. 2

Epididymite contagieuse ovine à *B. ovis* non catégorisée

Les faits marquants de l'année

- Brucellose chez la grenouille : poursuite des investigations dans la filière
- Appui scientifique à la Direction Générale de l'Alimentation dans foyer de brucellose porcine
- Suivi de foyers de brucellose canine
- Projet IDEMBRU - projet de recherche intégratif de l'EJP One Health (accepté fin 2019)
- Jumelage OIE avec le Laboratoire Central Vétérinaire de Diagnostic en Guinée

1. Méthodes développées ou révisées

Nombre de méthodes développées ou révisées proposées à l'autorité compétente

0 méthode(s)

Informations complémentaires

Deux méthodes en cours de validation

-**PCR** temps réel : méthode moléculaire de diagnostic direct de la brucellose bovine et porcine basée sur la détection d'une cible spécifique du genre *Brucella* préalablement validée sur la matrice lait (thèse CIFRE-DGA) et en cours de validation sur différentes matrices (ganglions, écouvillons, souches)

-iELISA LPS-S/R : méthode immuno-sérologique de diagnostic indirect basé sur la détection d'anticorps dirigé contre le LPS-lisse et le LPS-rugueux de *Brucella* par une technique ELISA

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

519 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Sérologie : 292

EAT :9 (canin)

FC : 3 (canin)

C-ELISA (canin) : 1

Sérologie *B. canis* : 28
(27 LFIA, 3 SAT et 3 RSAT)

Sérologie *B. ovis* : 60

Augmentation par rapport à 2018 en lien avec une étude sérologique (collaboration avec Djibouti)

Bactériologie :

Recherche de *Brucella* par culture (échantillons d'origine animale venant de France) : 126 échantillons

Diminution par rapport à 2018 (diminution des investigations liées aux infections brucelliques chez la grenouille)

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

292 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Evolution générale : légère diminution (moins de suspicions de brucellose porcine)

Confirmations sérologiques :

Confirmation lait bovin : 46 ELISA lait (30 positifs, 7 douteux, 9 négatifs), 39 RT (23 positifs, 14 négatifs, 1 ininterprétable)

Investigation sérologique chez les ruminants/équins : 65 (65 EAT, 63 FC)

Investigation sérologique chez les porcins : EAT porcins : 63, FC porcins : 19 ; ELISA porc : 10

Identification et typage de souches reçues au LNR : 37

-Analyses SAGIR : 1 lièvre

-Pour 4 suspicions de brucellose porcine à *Brucella suis* biovar 2: 3 souches. Identification des souches isolées par les laboratoires agréés ; un tube a été envoyé par foyer, la confirmation d'une seule souche suffit pour la police sanitaire (pour les autres souches stockage en souchothèque pour étude R&D)

-Plusieurs souches isolées à partir de grenouilles/prélèvements élevages de grenouilles

-Souches isolées d'un prélèvement suite avortement bovin : 4 souches (Croatie) + 1 souche du Tarn

-2 souches de *Brucella canis* (chien)

-2 souches de *Brucella suis* bv2 (sanglier, Croatie)

-Souches isolés par le LDAV 73 porcs : 1 souche ; bouquetins : 3 souches ; caprin : 15 souches

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR

152 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Détection et identification par des méthodes moléculaires :

PCR détection du genre *Brucella* sur prélèvements (en cours de validation) : 127 PCR temps-réel ;

PCR détection du genre *Brucella* sur souches : 25

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Le LNR a participé à l'EILA "Brucellose Sérum" (méthode EAT, SAW et iELISA) organisé par Sciensano (Belgique) en septembre 2019.

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de réactifs produits et fournis (antigènes, kits, autres)

Sérum polyclonal anti-Brucella S, sérum anti-Brucella R et sérum négatif
Brucella-phages (Tb, Wb, Iz, R/C)

Nombre de lots produits dans l'année

0

Nombre d'unités distribuées au plan national

7 flacons de de sérum polyclonal anti-Brucella S/sérum anti-Brucella R/sérum négatif

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Stable

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Panels de sérums de référence (MRE)
Sérums étalons nationaux
Souches/ADN de référence

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

sérums, souches, ADN

Nombre de lots produits dans l'année

0 pour les sérums

Pour les souches, maintien de la souchothèque et de la DNAtèque de référence

Nombre d'unités distribuées au plan national

4 sérums de référence (SE02 et SE03)

8 panels de sérums positifs (SR06, SR07, SR09, SR11 et SR12)

18 sérums *B. ovis* (PL84)

1 souches de référence fournie (*B. ovis*)

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Stable

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

Modalités de contrôle (contrôles initiaux, contrôles aléatoires de lots, contrôles lot par lot)

Contrôle initial et contrôle lot par lot

Nombre de contrôles - ou de lots contrôlés - dans l'année

39 contrôles effectués dans l'année

32 antigènes EAT

3 antigènes FC

1 kit iELISA sérum bovin

1 kit iELISA sérum autre

1 kit iELISA sérum lait

1 sérum de contrôle positif

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Stable

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé, etc...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes: CES, GT ou externe: EFSA...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor...).

CES SABA (Santé et Bien-être Animal) -2 jours par mois

AFNOR – Commission santé animale (U47) – 1 j / trimestre

'Questions relative to vaccination of young ruminants and cattle (protocols, immune response)', Azerbaïdjan (2 jours)

Biosurveillance Network of the Silk Road : Cross border meeting between Georgia and Azerbaïdjan : Brucellosis and rabies. Kakheti, Georgia (1 semaine)

Caractérisation et identification de souches pour le LNR de Croatie (analyses in silico + typage moléculaire et WGS)

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels

Echanges mails réguliers (échanges de mails et téléphoniques DGAI/LVD/DDDP/GDS)
temps consacré impossible à déterminer

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

91 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

1 EILA

Nom de l'EILA

EILA Brucellose lait bovin 2019

L'EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Non

Nombre de laboratoires participants

17 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

14 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

3 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

1 fabricant de réactifs / 2 laboratoires européens

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Maintien des performances du réseau dans le temps

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Sans objet

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

0 journée(s)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objets

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

(**) au sens de la norme 17043

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Oui

Cadre de ces activités

Surveillance active (prophylaxie) et passive (surveillance des avortements) de la brucellose chez les ruminants

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans ce cadre

Réalisation d'analyses de confirmation

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

3 fiche(s)

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
IDEMBRU	Projet européen monté pour l'étude des espèces émergentes et atypiques de Brucella (2,5 ans ; démarrage 1 ^{er} janvier 2020)	accepté
LRUE	Développement de nouveaux outils de diagnostic et d'identification des Brucella par des approches génomiques et sérologiques	en cours
LRUE	Enquête sur la brucellose canine	en cours
Djibouti	Etude sérologique avec Djibouti	terminé

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du CNR

CNR des Brucella

Organisme porteur du CNR

CHU Nîmes

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Non

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Sans objet

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Sans objet

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Sans objet

Transfert de matériel biologique

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

Brucellosis

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Laboratoire de Référence OIE ; Centre de Référence FAO

Intitulé(s) officiel(s)

Laboratoire de référence OIE

Centre Collaborateur FAO

Annexes

Liste des publications et communications 2019 dans le cadre du mandat de LNR Brucelloses

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

Publications scientifiques nationales et internationales (*Revue à comité de lecture*)

Jaÿ Maryne, Freddi Luca, Mick Virginie, Durand Benoit, Girault Guillaume, Perrot Ludivine, Taunay Benoit, Vuilmet Thomas, Azam Didier, Ponsart Claire and Zanella Gina; “Brucella microti-like prevalence in French farms producing frogs”, *Transbound Emerg Dis.* 2019;00:1–9.

Pilar María Muñoz, Virginie Mick, Lorena Sacchini, Anna Janowicz, María Jesús de Miguel, Moulay-Ali Cherfa, Celia Rodriguez Nevado, Guillaume Girault, Sara Andrés-Barranco, Maryne Jay, Elisabetta Di Giannatale, Katuscia Zilli, Massimo Ancora, Alessandro Dondo, Simona Zoppi, María Cruz Arnal, Manuela Tittarelli, Fabrizio De Massis, Bruno Garin-Bastuji, José María Blasco, Giuliano Garofolo. Phylogeography and epidemiology of Brucella suis biovar 2 in wildlife and domestic swine, *Veterinary Microbiology*, Volume 233, 2019, Pages 68-77, ISSN 0378-1135, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.04.025>.

Ponsart C, Riou M, Locatelli Y, Jacques I, Fadeau A, Jay M, Simon R, Perrot L, Freddi L, Breton S, Chaumeil T, Blanc B, Ortiz K, Vion C, Rioult D, Quemere E, Sarradin P, Chollet J.Y, Garin-Bastuji B and Rossi S; “Brucella melitensis Rev.1 vaccination generates a higher shedding risk of the vaccine strain in Alpine ibex (Capra ibex) compared to the domestic goat (Capra hircus)”, *Vet Research*(2019) 50:100, <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0717-0>

ElTahir Y, Al-Farsi A, Al-Marzooqi W, Al-Toobi A, M Gaafar O, Jay M, Corde Y, Bose S, Al-Hamrashdi A, Al-Kharousi K, Rajamony S, Asi MN, Al-Saqri N, AlBusaidi R, I Elshafie E, H Johnson E; “Investigation on Brucella infection in farm animals in Saham, Sultanate of Oman with reference to human brucellosis outbreak”, *BMC Vet Res.* 2019 Oct 28;15(1):378. doi: 10.1186/s12917-019-2093-4

Communications internationales

G. Girault, L. Perrot, M. Ribeiro, F. Petot-Bottin, L. Freddi, A. Ferreira Vicente, C. Ponsart; “Troubles of sensitivity for brucellosis diagnosis using iELISA: return of Inter-Laboratory Proficiency Tests experience”, 72nd Annual Brucellosis Research Conference, Chicago 02-03/11/2019 (Oral)

Claire Ponsart, Guillaume Girault, Pascal Marchand, Sébastien Lambert, Erwan Quemere, Yvette Game, Acacia Ferreira Vicente, Maryne Jay, Bruno Garin-Bastuji, Luca Freddi, Emmanuelle Gilot-Fromont, Sophie Rossi; “New knowledge acquired from the French Alpine ibex (Capra ibex), a singular wild reservoir of Brucella infection”, 72nd Annual Brucellosis Research Conference, Chicago 02-03/11/2019 (Oral)

Ferreira Vicente Acacia, Luca Freddi, Yvette Game, Maryne Jay, Guillaume Girault, Bruno Garin-Bastuji, Sophie Rossi and Claire Ponsart; “Standardisation of a rapid Laminar flow immune-chromatographic assay for brucellosis screening in French Alpine ibex (Capra ibex)”, 72nd Annual Brucellosis Research Conference, Chicago 02-03/11/2019 (Poster)

Conférences sur invitation

Workshop on Brucellosis coordinated by C. Ponsart in the framework of « Biosurveillance network of the silkroad » (BNSR Cross-border meeting Georgia – Azerbaijan, in Lopota, Georgia ; supported by Defense Threat Reduction Agency ; 04/2019).

Annual regional meeting of BNSR (C. Ponsart; 09/2019, Nur-Sultan, Kazakhstan)