

Rapport annuel d'activité, année 2019
Laboratoire National de Référence
Tuberculose
(y compris pour le contrôle officiel des réactifs destinés aux
analyses notamment des tuberculines)

Nom du responsable du LNR
María Laura BOSCHIROLI

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en oeuvre
Laboratoire de santé animale

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

Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré
Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy, Laboratoires de Ploufragan-Plouzané-Niort, Laboratoire de sécurité des aliments

Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré
Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy : Unité de Surveillance et

EcoEpidémiologie des Animaux Sauvages
Laboratoires de Ploufragan-Plouzané-Niort : plateforme NGS
Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons Alfort : Plateforme identityPath
Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat
Tuberculose bovine: danger sanitaire de catégorie 1

Les faits marquants de l'année

Validation d'un standard pour la tuberculine bovine dans le cadre d'un projet coordonné par l'OIE
Organisation avec le BERL et le BSA DGAL pour la mise en place d'un nouvel agrément des laboratoires vétérinaires départementaux pour le dépistage de la tuberculose chez le sanglier par sérologie

1. Méthodes développées ou révisées

Nombre de méthodes développées ou révisées proposées à l'autorité compétente
0 méthode(s)

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année
1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées
sérologie tuberculose sangliers

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...)
33 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Bactériologie: 24
Contrôle de tuberculines animales: 9

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)
3168 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Diagnostic PCR expertise (au moins 4 PCR/échantillon): 1585;
Identification de souches: 545;
Typage moléculaire par spoligotypage (souches et ADN): 899 ;
Typage moléculaire par MLVA (souches): 139.

3.3 Autres analyses

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

1920 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Contrôle de tuberculines : 6

Sérologie tuberculose bovine: 240

Sérologie tuberculose sanglier: 270

Analyses bactériologiques: 288

Analyses de diagnostic moléculaire: 524

Séquençage de souches de M. bovis: 592

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

En 2019 nous n'avons participé à aucun EILA. Les EILA du LRUE prévus pour 2019 ont été décalés à 2020.

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

Oui

Types de réactifs produits (antigènes, kits, autres)

"immunogène" pour contrôle de tuberculines (complexe antigénique obtenu avec une culture de la souche de mycobactérie ad hoc, thermolysée et précipitée, en émulsion avec adjuvant incomplet de Freund)

Nombre de lots produits dans l'année

9

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

Activité stable

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

Oui

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

- Broyats de ganglions de bovins décontaminés (normes Afnor NF U47-104) artificiellement contaminés avec un matériel dosé (souche de collection) : MRE Tuberculose.
- Plasma IFNg: MRI
- Sérum de sanglier positif: MRI
- Milieux de culture Middlebrook 7H9

Nombre de lots produits dans l'année

- Broyats de ganglions de bovins décontaminés (PCR) : 3
- Plasma (dosage d'IFNg): 1
- sérum de sanglier (Elisa tuberculose): 1
- Milieux de culture Middlebrook 7H9 : 14

Nombre d'unités distribuées au plan national

20

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

Activité stable

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

Oui

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

MRI PCR (contrôle positif)

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

solution d'ADN

Nombre de lots produits dans l'année

3

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

Activité stable

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)

- Broyats de ganglions de bovins décontaminés (normes Afnor NF U47-104) artificiellement contaminés avec un matériel dosé (souche de collection) : MRE Tuberculose.
- Plasma IFNg: MRI
- Sérum de sanglier positif: MRI

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

- Broyats de ganglions de bovins décontaminés (PCR) ;
- Plasma (dosage d'IFNg);
- sérum de sanglier (Elisa tuberculose)

Nombre de lots produits dans l'année

3

Nombre d'unités distribuées au plan national

20

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

activité stable

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

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

Contrôle lot/lot

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

Tuberculines: 9 ;

Kits PCR: 4.

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

activité 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...).

GT Tuberculose chez le blaireau (1 jour/mois depuis février 2018)

EST Tuberculose chez des macaques d'expérimentation

GT OIE révision manuel OIE chapitre Tuberculose bovine (2 jours/an)

GT OIE création d'un standard tuberculitique (2 jours/an)

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

- Appels téléphoniques en direct au responsable du LNR et son adjoint
- Diffusion d'informations scientifiques via différents supports (publications scientifiques ou de divulgation, comptes rendus de réunions ou évènements scientifiques, etc.)
- Participation à tous les groupe de suivi Tuberculose de la Plateforme ESA, des cellules d'animation et des comités de pilotage de Sylvatub

Temps consacré par le responsable: 40 %
Temps consacré par l'adjoint: 30%

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

40 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

2 EILA

Nom de l'EILA

Interféron Gamma

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

Oui

Nombre de laboratoires participants

11 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

10 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

0 laboratoire(s)

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)

(**) au sens de la norme 17043

Evolution du réseau dans le temps

Stable

Nom du 2ème EILA

Bactériologie/PCR Tuberculose

Cet EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Oui

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

20 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

16 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à cet EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants à cet EILA, en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants à cet EILA

3 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants à cet EILA: français/étrangers

fournisseurs de kits

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 de cet EILA dans le temps

Stable

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

(**) au sens de la norme 17043

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 objet

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

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

Non

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

Sylvatub

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de Sylvatub

Pilotage ; Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de première intention ; Réalisation d'analyses de confirmation ; Appui scientifique et technique (analyses de données, etc...)

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)

Non

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

Acronyme	Titre	Statut
	Mise au point d'outils d'épidémiologie génomique pour la reconstitution de chaînes de transmission de <i>M. bovis</i> entre animaux domestique et sauvages	en cours
	Epidémiologie et pathologie de la TB chez le Renard (Dordogne)	en cours
	Epidémiologie et pathologie de la TB chez le Renard (Dordogne, Landes, Cote d'Or, Charente)	en cours
	Développement d'un modèle expérimental infectieux TB chez le furet	en cours
	Recherche d'agents de l'environnement qui affectent la spécificité de tests antemortem chez le bovins : puce PCR haut débit	en cours
	Développement d'un modèle expérimental infectieux TB chez le renard	en cours
PEMbo (doctorat) – EJP OH	Du génotype au phénotype : patho-évolution des souches françaises de <i>Mycobacterium bovis</i>	en cours

9. Relations avec le CNR

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

Oui

Intitulé du CNR

Centre National de Référence de Mycobactéries et de la Résistance aux Antituberculeux (CNR-MyRMA)

Organisme porteur du CNR

CNR Coordonnateur: Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière (APHP, Paris)

CNR Laboratoire Associé: Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière (APHP, Paris)

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Génotypage de souches zoonotiques (étude liens animal-homme)

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Sans objet

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

GT pour la MSA "suivi médical de travailleurs après exposition à la tuberculose bovine"

Transfert de matériel biologique

Oui

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

LRUE Tuberculose Bovine (VISAVET, Health Surveillance Centre, Universidad Complutense Madrid, Espagne)

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

Intitulé(s) officiel(s)

Laboratoire de référence Tuberculose Bovine

Annexes

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

Publications destinées aux professionnels

Alonso, B., M. L. Boschioli, et G. Hewinson. 2019. "OIE Reference Laboratory for Bovine Tuberculosis." OIE Bulletin Panorama.

Delavenne, C., F. Pandolfi, S. Girard, E. Reveillaud, P. Jabert, M. L. Boschioli, L. Dommergues, F. Garapin, N. Keck, F. Martin, M. Moussu, S. Philizot, J. Rivière, I. Tourette, D. Calavas, C. Dupuy, B. Dufour, et F. Chevalier. 2019. "Tuberculose bovine : bilan et évolution de la situation épidémiologique entre 2015 et 2017 en France métropolitaine." Bulletin épidémiologique 88 - hors série spécial MRE.

Desfontaines, G., F. Vayr, E. Rigaud, D. Brenot, M. L. Boschioli, V. Caron, T. Comolet, P. Coutin, F. Dasse, B. Dufour, M. Duong, E. Faure, P. Jabert, S. Philizot, L. Raskine, B. Simonin, H. Soulez, J.P. Stahl, et I. Tourette. 2019. "Guidelines for monitoring workers after occupational exposure to bovine tuberculosis." Médecine et Maladies infectieuses.

Gifford, G., B. Alonso, M. L. Boschioli, A. Caminiti, R. Capsel, S. Edwards, G. Hewinson, M. Ho, L. De Juan Ferré, A. Koets, J. Van der Goot, M. Vordermeier, et S. Forcella. 2019. "OIE project to replace International Standard Bovine Tuberculin - Controlling Bovine Tuberculosis : A One health Challenge." OIE Bulletin Panorama 2019-1.

Michelet, L., B. Durand, et M. L. Boschioli. 2019. "Tuberculose bovine : bilan génotypique de *M. bovis* à l'origine des foyers bovins entre 2015 et 2017 en France métropolitaine." Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 88 - hors série spécial MRE.

Réveillaud, E., S. Desvaux, M. L. Boschioli, J. Hars, E. Faure, A. Fediaevsky, L. Cavalerie, F. Chevalier, P. Jabert, S. Poliak, I. Tourette, P. Hendriks, et C. Richomme. 2019. "*Mycobacterium bovis* infection of wildlife in France." OIE Bulletin Panorama 2019-1 : "Controlling Bovine Tuberculosis : A One Health Challenge".

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

Dequeant, B., Q. Pascal, H. Bilbault, E. Dagher, M. L. Boschioli, N. Cordonnier, et E. Reyes-Gomez. 2019. "Identification of *Mycobacterium genavense* natural infection in a domestic ferret." J Vet Diagn Invest 31 (1):133-136. doi: 10.1177/1040638718812137.

Hauer, A., L. Michelet, T. Cochard, M. Branger, J. Nunez, M. L. Boschioli, et F. Biet. 2019. "Accurate Phylogenetic Relationships Among *Mycobacterium bovis* Strains Circulating in France Based on Whole Genome Sequencing and Single Nucleotide Polymorphism Analysis." Front Microbiol 10:955. doi: 10.3389/fmicb.2019.00955.

Lesellier, S., M. L. Boschioli, J. Barrat, C. Wanke, F. J. Salguero, W. L. Garcia-Jimenez, A. Nunez, A. Godinho, J. Spiropoulos, S. Palmer, D. Dave, P. Anderson, J. M. Boucher, K. de Cruz, S. Henault, L. Michelet, S. Gowtage, G. A. Williams, A. K. Nadian, E. Monchatre-Leroy, F. Boue, M. A. Chambers, et C. Richomme. 2019. "Detection of live *M. bovis* BCG in tissues and IFN-

gamma responses in European badgers (*Meles meles*) vaccinated by oropharyngeal instillation or directly in the ileum." BMC Vet Res 15 (1):445. doi: 10.1186/s12917-019-2166-4.

Michelet, L., C. Conde, M. Branger, T. Cochard, F. Biet, et M. L. Boschioli. 2019. "Transmission Network of Deer-Borne *Mycobacterium bovis* Infection Revealed by a WGS Approach." Microorganisms 7:687.

Pérez de Val, B., A. Sanz, M. Soler, A. Allepuz, L. Michelet, M. L. Boschioli, et al. 2019. "*Mycobacterium microti* infection in Free-Ranging Wild Boar, Spain, 2017-2019." Emerging Infectious Diseases 25 (11):2152-2154. doi: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2511.190746>.

Praud, A., C. Bourelly, M. L. Boschioli, et B. Dufour. 2019. "Assessment of the specificity of a gamma-interferon test performed with specific antigens to detect bovine tuberculosis, after non-negative results to intradermal tuberculin testing." Vet Rec Open 6 (1):e000335. doi: 10.1136/vetreco-2019-000335.

Richomme, C., A. Courcoul, J. L. Moyen, E. Reveillaud, O. Maestrini, K. de Cruz, A. Drapeau, et M. L. Boschioli. 2019. "Tuberculosis in the wild boar: Frequentist and Bayesian estimations of diagnostic test parameters when *Mycobacterium bovis* is present in wild boars but at low prevalence." PLoS One 14 (9):e0222661. doi: 10.1371/journal.pone.0222661.

Communications nationales

Cochard, T., A. Samba-Louaka, M. Branger, V. Delafont, W. Aucher, J-L. Moyen, L. Malherbe Duluc, V. Thibault, M. L. Boschioli, Y. Héchard, et F. Biet. 2019. "Survie environnementale de *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* et *Mycobacterium bovis* : rôle des amibes libres dans l'épidémie de la tuberculose bovine et de la paratuberculose." Congrès Mycobactéries 2019, Angers, France, 26-28 juin 2019. (Communication orale sans acte)

Conde, C., L. Michelet, M. Branger, T. Cochard, F. Biet, et M. L. Boschioli. 2019. "Propagation scenario of *Mycobacterium bovis* strains circulating in French hunting parks/estates by WGS approach." Congrès Mycobactéries 2019, Angers, 26-28 juin 2019. (Communication orale avec acte)

Remot, A., F. Carreras, E. Doz, M. L. Boschioli, F. Biet, S. Gordon, et N. Winter. 2019. "The study of bovine tuberculosis through a One Health approach." Journées d'animation scientifique de la fédération de recherche en infectiologie, Joué-les-Tours, 17 et 18 octobre. (Communication orale sans acte)

Communications internationales

Boschioli, M. L. 2019. "An easy way to detect TB in wild boar by serology." 7th EURL for Bovine tuberculosis workshop., Madrid (Spain), 22-24 octobre 2019. (Communication orale avec acte)

Michelet, L. 2019. "Investigation of *Mycobacterium bovis* infection linked to deer breeding and animal parks in France using WGS." 7th EURL for Bovine Tuberculosis Workshop, Madrid (Spain), 22-24 octobre 2019. (Communication orale avec acte)

Conférences sur invitation

Boschioli, M. L., et I. Tourette. 2019. "Tuberculose bovine : Evolution des outils de dépistage et de diagnostic et implications sur le terrain." Colloque Santé Animale et Innovation, Poitiers, 04 avril.

Autres (*thèses, rapports de projets, d'expertise, et documents d'appui scientifique et technique*)

Rapport d'expertise collective. Saisine n° 2016-SA-0200. Avis de l'ANSES relatif à la gestion de la tuberculose bovine et des blaireaux. Août 2019 (<https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2016SA0200Ra.pdf>)