



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Tuberculose (y compris pour le contrôle officiel des réactifs destinés aux analyses notamment des tuberculines)

Nom du responsable du LNR

MARIA LAURA BOSCHIROLI

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

Laboratoire de santé animale -- site de Maisons-Alfort

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

sans objet

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

sans objet

Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat

Selon l'arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la catégorisation des dangers sanitaires, la tuberculose à *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae* et *Mycobacterium tuberculosis* était classée en catégorie 1 pour toutes les espèces de mammifères.

Le règlement UE 2016/149 « loi santé animale » est entré en application le 21/04/2021. Les modifications relatives à la catégorisation de ce(s) danger(s) sanitaire(s) seront prises en compte dans le RA LNR 2023 pour les activités 2022.

Les faits marquants de l'année

Dans le cadre du programme national de surveillance de la tuberculose dans la faune sauvage, Sylvatub, et de l'arrêté du 7 décembre 2016 relatif à certaines mesures de surveillance et de lutte contre la tuberculose lors de la mise en évidence de cette maladie dans la faune sauvage (NOR : AGRG1635531A), qui permet l'encadrement réglementaire de l'action du préfet en matière de prévention, de surveillance et de lutte dans ce contexte, un nouveau réseau de laboratoires départementaux vétérinaires agréés (12 laboratoires) pour le diagnostic de la tuberculose chez des suidés par sérologie a été créé. La confirmation de l'agrément a été obtenu grâce aux résultats satisfaisants de tous les participants, suite à un premier EILA organisé par le LNR Tuberculose.

Cette méthode de diagnostic indirecte a par ailleurs permis d'identifier le premier foyer de tuberculose chez des sangliers d'un élevage dans une zone d'enzootie de tuberculose bovine, ce qui confirme la grande utilité de l'outil pour une détection efficace des contextes de circulation de la maladie méconnus jusqu'à présent.

Abréviations

IFNg: interféron gamma

IDT: intradermotuberculination

TB: tuberculose

1. Méthodes développées ou révisées

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

0 méthode(s)

Informations complémentaires

sans objet

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 de suidés par ELISA

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...)

2268 analyse(s), en augmentation de 15-20% par rapport à 2020.

La tendance est en légère augmentation sur les 5 dernières années.

Détail par type d'analyse de première intention

- Bactériologie: 7
- Contrôle de tuberculines animales: 12
- Sérologie sangliers : 2249

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

3926 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Par échantillon:

- Diagnostic PCR expertise (au moins 4 PCR/échantillon): 2229;
- Identification de souches (au moins 4 PCR/échantillon): 482;
- Typage moléculaire par spoligotypage (souches et ADN): 976;
- Typage moléculaire par MLVA (Multi-Locus Variable tandem repeat Analysis) (8 PCR/échantillon) (souches): 239.

Analyses de confirmation en augmentation cette dernière année.

3.3 Autres analyses

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

464 analyse(s). L'activité est stable.

Détail par type d'analyses (dans le cadre de programmes de recherche)

- Séquençage complet de souches : 24
- Puce ADN : 200 échantillons testés sur 24 cibles génétiques
- Excrétas Furets : 40 échantillons testés sur 4 cibles génétiques
- Analyse moléculaire campagnols tissus et excréta: 200

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

Au plan national, le LNR a participé à l'EILA tuberculose bovine sérologie suidés qu'il a organisé.

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

1

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

Non

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)

Contrôle positif PCR (MRI)

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

Solution d'ADN

Nombre de lots produits dans l'année

6

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

Activité en augmentation (augmentation du nombre de MRI utilisés dans le système de diagnostic moléculaire)

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 suidé positif: MRI
- Buvard avec sang de suidés: MRI

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

- Broyats de ganglions (MRE Tuberculose);
- Plasma (MRI IFNg);
- sérum (Elisa tuberculose)
- sang (Elisa tuberculose)

Nombre de lots produits dans l'année

MRE Tuberculose : 1

MRI buvard: 1

Nombre d'unités distribuées au plan national

- Broyats de ganglions de bovins décontaminés (normes Afnor NF U47-104) artificiellement contaminés avec un matériel dosé (souche de collection) - MRE Tuberculose: 19
- Plasma IFNg- MRI: 13
- Sérum de suidé positif- MRI: 20
- Buvard avec sang de suidés- MRI: 20

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

Nette augmentation dans la dernière année du fait de la création d'un nouveau réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic sérologique de la tuberculose de suidés (deux MRI différents à distribuer).

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

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

lot par lot

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

- Tuberculines: 12
- Kits PCR: 4
- Kit Elisa Tuberculose sangliers: 2

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...).

- membre du GT OIE: création d'un standard tuberculinique

- membre du Tb Microbiology & Immunology Research Advisory Panel (TB MIRAP), DEFRA, Royaume Uni

5.3 Dossiers de demande d'agrément

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

12 dossier(s)

Détail de ces activités et estimation du temps consacré

Evaluation de l'adéquation des dossiers vis à vis de la Note de Service DGAL/SDPAL/ 2019-880 du 26/12/2019, pour constituer le nouveau réseau de laboratoires agréés pour la sérologie tuberculose chez le sanglier (2 jours)

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

- Appels téléphoniques.
- Diffusion d'informations scientifiques *via* différents supports (publications scientifiques ou de divulgation, comptes rendus de réunions ou événements scientifiques, etc.).
- Participation à tous les groupes de suivi Tuberculose de la Plateforme ESA, des cellules d'animation et des comités de pilotage de Sylvatub.

Temps consacré par le responsable: 0,7 ETP

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

42 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 TUBERCULOSE BOVINE SEROLOGIE SUIDES 2021

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

Non

Nombre de laboratoires participants

15 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

0 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

12 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

2 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

fournisseurs de réactifs

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**

Sans objet

Evolution du réseau dans le temps

Réseau en accroissement, du fait de la création d'un nouveau réseau de laboratoires en lien avec la tuberculose (sérologie suidés)

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**

Evaluation des résultats de l'EILA organisé par le LNR sur l'estimation d'un S-score défini sur la base d'un modèle logit prenant en compte le niveau de compétence des laboratoires et le niveau de difficulté des ESEA du panel. Cette méthodologie « Assesment of laboratory performance with S-score for binary data in qualitative PT" est en cours de publication. L'analyse des résultats est réalisée à l'aide d'une application Anses « QualiScore.xlam », une macro complémentaire d'Excel, validée sous Excel (2016).

6.4 Formation, organisation d'ateliers**Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année**

1 journée(s)

27/05/21 : Journée Anses des LNR et réseaux de laboratoires agréés en santé animale

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

1 session(s) de formation

Détail de ces activités, durée moyenne des sessions et nombre de participants par session

Formation « stimulation et lecture (Elisa) IFNg » pour un LVD.

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Rien à signaler

(**) Au sens de la norme 17043

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

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

Sylvatub

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans ce cadre :

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)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

2 fiche(s)

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

Acronyme	Titre	Statut
PEMbo	Du génotype au phénotype : patho-évolution des souches françaises de <i>Mycobacterium bovis</i>	en cours
Innotub	Réseau transpyrénéen de recherche et développement d'outils innovants pour le contrôle de la tuberculose animale	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

Non

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

Pas à l'heure actuelle

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

- Participation aux comités de thèse respectifs

Transfert de matériel biologique

Non

10. Relations avec le LRUE**Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR**

Non

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

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

EU Reference Laboratory for Bovine Tuberculosis (VISAVET, Health Surveillance Centre, Universidad Complutense Madrid, Espagne)

Le LNR a participé au workshop organisé par le LRUE

Oui

Le LNR a participé à une/des formation(s) organisée(s) par le LRUE

Non, (le LNR n'a pas besoin de suivre les formations proposées par le LRUE)

Relations avec le LRUE

- Questions posées par le LRUE (*détailler*)
Nous soumettons tous les ans des informations concernant les génotypes de souches de *Mycobacterium bovis* isolées l'année N-1, afin d'alimenter une base de données à l'échelle Européenne (accessible seulement aux LNR UE)
- Points particuliers ou d'actualité sur 2021 à signaler (*le cas échéant, détailler*)
Participation à une étude coordonnée par le LRUE concernant la spécificité de l'interféron gamma dans des cheptels libres de tuberculose (autres états membres participant à cette étude : Roumanie, Pologne, Grèce, Espagne, Italie)

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 dans le cadre du mandat du LNR Tuberculose

- Publications destinées aux professionnels ou au grand public

Delavenne, C., S. Desvaux, ML. Boschioli, S. Carles, P. Chaigneau, B. Dufour, B. Durand, K. Gache, F. Garapin, S. Girard, P. Jabert, N. Keck, E. Réveillaud, J. Rivière, C. Dupuy et F. Chevalier. 2021. "Surveillance de la tuberculose due à *Mycobacterium bovis* en France métropolitaine en 2018 : résultats et indicateurs de fonctionnement." Bulletin Epidémiologique Santé Animale Alimentation 94.

Réveillaud, E. , ML. Boschioli, P. Chaigneau, F. Chevalier, C. Delavenne, S. Desvaux, B. Dufour, K. Gache, F. Garapin, S. Girard, N. Keck, J-L. Moyen, T. Rambaud, C. Richomme, J. Rivière, C. Dupuy et M. Mikaël. 2021. "Analyse descriptive de la situation sanitaire de la tuberculose à *Mycobacterium bovis* en région nouvelle-aquitaine en 2018." Bulletin Epidémiologique Santé animale Alimentation 94.

- Publications scientifiques nationales ou internationales

Michelet, L., C. Richomme, E. Réveillaud, K. De Cruz, J-L. Moyen et ML. Boschioli. 2021. "*Mycobacterium microti* Infection in Red Foxes in France." Microorganisms 9 (6): 1257.

Michelet, L., S. Solanas, J. Tambosco, M. Grecchi, O. Gerard, A. Hartmann et ML. Boschioli. 2021. "Réactions non spécifiques aux tests de dépistage ante mortem de la tuberculose bovine: investigations dans un centre de bovins reproducteurs." Epidemiol Santé Anim 77: 49-57.

Remot, A., F. Carreras, A. Coupé, E. Doz-Deblauwe, ML. Boschioli, J. A. Browne, Q. Marquant, D. Descamps, F. Archer, A. Aseffa, P. Germon, S. V. Gordon et N. Winter. 2021. "Mycobacterial Infection of Precision-Cut Lung Slices Reveals Type 1 Interferon Pathway Is Locally Induced by *Mycobacterium bovis* but Not *M. tuberculosis* in a Cattle Breed." Frontiers in Veterinary Science 8 (716). <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.696525>.

- Communications nationales

Canini, L., G. Modenesi, A. Courcoul, ML. Boschioli, B. Durand et L. Michelet. 2021. "Deciphering the role of host species in *Mycobacterium bovis* SB0120 spoligotype circulation within a cattle-badger-wild boar multi-hosts system." communication orale sans acte 2ème réunion annuelle du réseau PhyloMAP, virtuelle, 19/11/2021.

Charles, C. 2021. "Occurrence of variable insertion sites and copy numbers of IS6110 in genomes of *Mycobacterium bovis* field strains." Communication orale avec acte ABIES Days 2021, Paris, 6 et 7 mai 2021.

Charles, C., L. Michelet, F. Biet et ML. Boschioli. 2021. "The insertion sequence IS6110 could play a role in genome plasticity of *Mycobacterium bovis* strains isolated from French bTB endemic regions." Poster Microbes 2021, 16ème congrès national de la SFM, Nantes, 22-24 septembre 2021.

Charles, C., L. Michelet, C. Conde, F. Biet et ML. Boschioli. 2021. "The insertion sequence IS6110 could play a role in genome plasticity of *Mycobacterium bovis* strains isolated from French bTB endemic regions." Poster JSDA, Virtuelle, septembre 2021.

Michelet, L., L. Canini, B. Durand et ML. Boschioli. 2021. "Contribution du WGS à la surveillance de la tuberculose bovine " Communication orale avec acte Rencontres Nationales de Santé Publique Vétérinaire et Environnementale, Tours, 30 septembre 2021.

Michelet, L., S. Solanas, J. Tambosco, M. Grecchi, O. Gerard, A. Hartmann et ML. Boschioli. 2021. "Réactions non spécifiques aux tests de dépistage ante mortem de la tuberculose bovine: investigations dans un centre de bovins reproducteurs." Communication orale avec acte Journées Scientifiques de l'AEEMA, Virtuelle, 21 mai 2021.

Michelet, L., S. Solanas, J. Tambosco, A. Hartmann et ML. Boschioli. 2021. "Réactions non spécifiques aux tests de dépistage ante mortem de la tuberculose bovine: développement d'une puce PCR haut débit et ses applications." Communication orale avec acte JSDA, Virtuelle, 13 septembre 2021.

- Communications internationales

Charles, C. 2021. "PEMbo 3MT pitch." communication orale avec acte OHEJP ASM 2021, Virtual, 27-29 May.

Charles, C., L. Michelet, F. Biet et ML. Boschioli. 2021. "In silico study of IS6110 sequences abundance and localisation evolution in three main *Mycobacterium bovis* French genotypes of endemic region." Poster Annual Scientific Meeting OHEJP 2021, Virtuelle, 9 au 11 juin 2021.

Charles, C., L. Michelet, F. Vorimore, T. Cochard, F. Biet et ML. Boschioli. 2021. "New reference genomes of *Mycobacterium bovis* adapted a French genotype diversity." Poster Annual Scientific Meeting OHEJP 2021, Virtuelle, 9 au 11 juin 2021.

Duault, H., L. Michelet, ML. Boschioli, B. Durand et L. Canini. 2021. "Evolutionary model for *Mycobacterium bovis* spoligotype SB0821 in the South-West of France, which came first: badger or cattle infection?" Communication orale sans acte Modelling in Animal Health conference - ModAH 2021 Virtuelle, 02 juillet 2021.

Richomme, C., S. Lesellier, F.J. Salguero, J.L. Barrat, J-M Boucher, J. Reys-Reys, S. Hénault, K. De Cruz, L. Michelet, K. Lyashchenko, C. O'Halloran, A. Balseiro et ML. Boschioli. 2021. "Investigation on the role of red fox in TB maintenance community – second opus: experimental infection with a virulent field *Mycobacterium bovis* strain." communication orale sans acte 69th WDA /14th EWDA Joint Conference, virtual, 31/08 – 02/09

Vidal, E., J. Burgaya, L. Michelet, C. Arrieta-Villegas, G. Cantero, M. Di Bari, R. Nonno, ML. Boschioli et B. Pérez de Val. 2021. "Infección experimental por *Mycobacterium microti* en topillo rojo (*Myodes glareolus*)." Communication orale sans acte XXXII Reunión de la Sociedad Española de Anatomía Patológica Veterinaria (SEAPV), virtual, 1 octubre 2021

Vidal, E., J. Burgaya, L. Michelet, C.A. Villegas, G. Cantero, M. Di Bari, R. Nonno, ML. Boschioli et B. Pérez de Val. 2021. "Experimental *Mycobacterium microti* infection in bank voles *Myodes glareolus* " Poster 69th WDA /14th EWDA Joint Conference, Virtual, 31/08 – 02/09.