



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Mérite contagieuse des équidés

Nom du responsable du LNR

Sandrine PETRY

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

Laboratoire de santé animale -- site de Dozulé

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

Unité physiopathologie et épidémiologie des maladies équine (PhEED)

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

La métrite contagieuse équine (MCE) est sur la liste des dangers sanitaires de catégorie 2 tels que définis par l'Arrêté modifié du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales.

Les faits marquants de l'année

L'équipe du LNR a valorisé ses travaux de recherche réalisés ces dernières années par le biais de deux publications internationales.

- La première publication (Duquesne et al. 2021) fait état des résultats de la comparaison de 11 écouvillons de transport commerciaux. Les résultats de viabilité de *T. equigenitalis* montrent l'intérêt du système UTM® par rapport aux systèmes considérés comme les plus performants pour le diagnostic bactériologique de la MCE dont l'écouvillon Amies charbon ; des tests sur le terrain seraient à réaliser avant d'envisager un changement de pratique. Les résultats de PCR confirment la stabilité de l'ADN de *T. equigenitalis* avec les 11 systèmes testés.

- La seconde publication (Breuil et al., in press) fait état des résultats i) de la comparaison du milieu sélectif de Timoney formulé avec cinq bases gélosées différentes (Columbia, Eugon, Blood, Mueller-Hinton et Tryptose Blood) fournies par deux à quatre fournisseurs différents par base gélosée et ii) de l'impact de la supplémentation en solution polyvitaminique Vitox et/ou en glucose. Malgré des tailles de colonies de *T. equigenitalis* très petites, les résultats montrent une meilleure sélectivité des géloses Blood, Mueller-Hinton et Tryptose Blood par rapport aux géloses Eugon et Columbia ; l'ajout d'une solution polyvitaminique est essentielle pour augmenter la taille des colonies sur les géloses Blood, Mueller-Hinton et Tryptose Blood et l'ajout de glucose n'est pas nécessaire ni même conseiller afin d'éviter la croissance de la flore annexe. Il est néanmoins indispensable de valider le couple base gélosée / fournisseur à partir d'un panel de souches de *T. equigenitalis* avant de changer de composition et de réaliser des tests avec des échantillons de terrain.

Abréviations

LNR : Laboratoire National de Référence

LRUE : Laboratoire de référence de l'Union Européenne

MCE : Métrite Contagieuse Equine

T. equigenitalis : *Taylorella equigenitalis*

T. asinigenitalis : *Taylorella asinigenitalis*

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

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...)

1 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

L'analyse officielle de première intention réalisée en 2021 concerne le diagnostic de la MCE par bactériologie.

Sur les cinq dernières années le nombre d'analyses officielles de première intention réalisées pour la MCE est de 43 (2017 : 8 ; 2018 : 13 ; 2019 : 17 ; 2020 : 4 ; 2021 : 1). Ce nombre est faible du fait d'un nombre important de laboratoires agréés en mesure de réaliser ces analyses (40 laboratoires pour le diagnostic bactériologie, 20 pour la PCR et 21 pour l'immunofluorescence indirecte selon la liste Maladies équine V88 du 03/02/2021).

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

4 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Les 4 analyses concernent des analyses de seconde intention réalisées dans le cadre d'une demande de confirmation.

Sur les cinq dernières années le nombre d'analyses de seconde intention ou biotypage est de 59 (2017 : 12 ; 2018 : 11 ; 2019 : 30 ; 2020 : 2 ; 2021 : 4). Ce nombre est en adéquation avec le faible nombre de cas de MCE confirmés par an (0 en 2020 et 2021, 1 en 2017, 2 en 2018 et 4 en 2019).

3.3 Autres analyses

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

1500 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

En 2021 l'activité technique hors analyses officielles a été répartie autour des principales missions suivantes :

- Partie technique de l'organisation de deux EILA et participation à deux EILA internationaux ;
- Validation et fourniture d'éléments biologiques/réactif ;
- Contrôle bactériologique et validation des réactifs utilisés pour les analyses ;
- Projets de recherche et développement.

Sur les cinq dernières années la tendance de ces activités techniques hors analyses officielles (2017 et 2018 : 4750 ; 2019 : 2112 ; 2020 : 2200 ; 2021 : 1500) montre un pic d'activité en 2017 et 2018 avec la mise en place d'un réseau de laboratoires français agréés pour le dépistage de la MCE par PCR (comparaison de plusieurs PCR, validation et accréditation Cofrac d'une PCR Anses) et l'encadrement d'un étudiant en licence professionnelle entraînant une activité de recherche plus importante. Ces activités ont été réalisées en 2019 en parallèle de l'organisation d'un EIL et d'un workshop européens dédiés à la MCE; en 2020 et 2021, plusieurs arrêts de longue durée du personnel ont entraîné une réduction de l'activité de recherche sur la MCE.

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 2021, le LNR a participé à deux EILA pour le diagnostic de la MCE par bactériologie et par

PCR organisés par Animal and Plant Health Agency (APHA), UK (LR OIE pour la MCE). Dans ce cadre, toutes les méthodes accréditées ont été mises en œuvre : bactériologie, PCR et immunofluorescence indirecte.

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)

Un réactif est produit et fourni par le LNR : sérum polyclonal anti-T. equigenitalis pour l'agglutination sur lame (test différentiel dans le cadre du diagnostic bactériologique de la MCE).

Nombre de lots produits dans l'année

1

Nombre d'unités distribuées au plan national

41

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

Sur les cinq dernières années, l'activité de production de réactifs est stable avec la production de deux lots de sérum polyclonal anti-T. equigenitalis pour l'agglutination sur lame tous les deux ans (2017, 2019 et 2021). Chaque production couvre à la fois l'usage interne et les besoins du réseau pour deux années. Le nombre d'unités distribuées au plan national est toujours plus élevée l'année de la production des nouveaux lots : 2017 : 41 ; 2018 : 24 ; 2019 : 50 ; 2020 : 17 ; 2021 : 41.

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)

Un type de matériel de référence est produit et fourni par le LNR : souche bactérienne de contrôle positif (*T. equigenitalis*) et négatif (*T. asinigenitalis*, *Oligella urethralis*).

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

souche

Nombre de lots produits dans l'année

1

Nombre d'unités distribuées au plan national

1

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

Sur les cinq dernières années, l'activité de production de matériaux de référence est stable (1017 : 4 ; 2018 : 1 ; 2019 : 0 ; 2020 : 2 ; 2021 : 1).

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

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

contrôles initiaux

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

0

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

Trois kits PCR commerciaux ont été évalués entre 2018 et 2020 à raison d'un kit par an. Ce travail a été mené par l'équipe du LNR suite à la mise en place d'un réseau de laboratoires français agréés pour le dépistage de la MCE par PCR en 2017.

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...).

Un membre de l'équipe du LNR est membre de la commission de normalisation AFNOR/U47A Méthodes d'analyse en santé animale. ≤ 0,02 ETP a été consacré à cette activité en 2021.

Les membres de l'équipe du LNR peuvent également être amenés à participer au GT2 « Bactériologie » de l'AFNOR lorsque des normes concernant la MCE sont en révision ou en rédaction. 0 ETP a été consacré à cette activité en 2021.

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

En 2021 l'équipe du LNR a relu et fait un retour de commentaires sur le Chapitre 3.6.2. Contagious Equine Metritis, OIE Terrestrial Manual 2022 par l'intermédiaire de la DGAI.

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

Dépistage de la MCE par PCR

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

Non

Nombre de laboratoires participants

20 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

20 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

0 laboratoire(s)

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

1 laboratoire(s)

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

1 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)

Rendu d'un résultat faussement positif en limite de détection de la méthode.

Gestion des écarts (limiter aux laboratoires agréés) : actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives

La méthode d'analyse et ses points critiques ont été revus afin de rechercher des disparités ou des difficultés d'application. De plus, des analyses PCR complémentaires ont été réalisées sur l'échantillon incriminé ainsi qu'à partir d'écouvillonnage de l'environnement de travail et du matériel. Ces analyses ont permis de cibler la phase d'écouvillonnage comme potentielle source de contamination ; des actions correctives ont ensuite été mises en place par le participant.

Suivi de décisions sur l'agrément

Pas de suspension d'agrément parmi les laboratoires agréés ayant participé à l'EILA.

(**) Au sens de la norme 17043

Evolution du réseau dans le temps

Le réseau de laboratoires agréés pour le dépistage de la MCE par PCR a été créé le 05 décembre 2017. La liste des laboratoires agréés est présente sur le site <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale>. Après l'organisation d'un EILA cinq années consécutives entre 2017 et 2021, la performance du réseau quant au dépistage de la MCE par PCR est avérée ; en conséquence, les EILA pour cette méthode seront organisés tous les deux ans, le prochain étant programmé en 2023.

Nom du 2ème EILA

Dépistage de la MCE par Immunofluorescence indirecte

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

Non

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

21 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

21 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à cet EILA?

Non

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

0 laboratoire(s)

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

4 laboratoire(s)

(**) Au sens de la norme 17043

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

4 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés) de cet EILA

Dans tous les cas (n=4) rendu d'un résultat faussement positif.

Gestion des écarts (limiter aux laboratoires agréés) de cet EILA: actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives

Dans tous les cas la méthode d'analyse et ses points critiques ont été revus afin de rechercher des disparités ou des difficultés d'application. Ainsi, les analyses des causes ont suggéré/confirmé i) pour un participant : une erreur de manipulation au moment des dépôts des échantillons ; une réunion avec l'ensemble du personnel concerné a été organisée par le participant afin de rappeler les bonnes pratiques de préparation des lames et les étapes critiques de la technique, ii) pour un participant : une faible contamination validée par un analyse PCR complémentaire ; l'étape de dépôts des échantillons a été incriminée et une attention particulière a été instaurée à ce moment de la manipulation par le participant, et iii) pour deux participants : un défaut de spécificité du sérum monoclonal vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (ceci a également été observé par plusieurs autres participants et le LNR avec la présence d'une fluorescence atypique qui a entraîné le rendu d'un résultat "négatif, présence d'une fluorescence non spécifique" - observation connue et limitée depuis l'utilisation d'anticorps monoclonaux) ; les deux participants et le LNR ont chacun ouvert une réclamation fournisseur afin que la notice d'utilisation du kit IF soit modifiée en conséquence.

Suivi de décisions sur l'agrément pour cet EILA

Pas de suspension d'agrément parmi les laboratoires agréés ayant participé à l'EILA.

Evolution du réseau de cet EILA dans le temps

Il est à noter une diminution du nombre de laboratoires agréés pour le dépistage de la MCE par immunofluorescence de 46% depuis 2004 ; cette diminution est constante d'année en année (2004 : 46 ; 2013 : 40 ; 2014 : 38 ; 2015 : 36 ; 2016 : 33 ; 2017 : 30 ; 2018 : 28 ; 2021 : 21). La liste des laboratoires agréés est présente sur le site <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale>. Dans le cadre du dépistage de la MCE par immunofluorescence, le réseau est performant. Les résultats faussement positifs rencontrés lors des EILA peuvent en partie être imputés à la méthode.

(**) Au sens de la norme 17043

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

1 journée(s) :) : 27 mai 2021, co-organisée par la Direction de la Stratégie et des Programmes et les LNR Anses en santé animale

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

Non

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
	Améliorer les performances du diagnostic bactériologique de la MCE	en cours
MCE milieux de transport	Etude de l'impact du milieu de transport des écouvillons sur la survie de l'agent de la MCE	terminé
CaraTAsi	Caractérisation de l'espèce <i>Taylorella asinigenitalis</i> : phylogénie, pathogénicité et résistance aux antibiotiques	en cours

9. Relations avec le CNR

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

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

Equine diseases (other than African Horse Sickness)

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)

Mérite contagieuse équine

Annexes

Liste des publications et communications 2021 dans le cadre du mandat de LNR métrite contagieuse équine

Publications scientifiques nationales et internationales

Wilsher, S., H. Omar, A. Ismer, T. Allen, U. Wernery, M. Joseph, I. Mawhinney, L. Florea, L. Thurston, F. Duquesne, et S. Petry. 2021. "A new strain of *Taylorella asinigenitalis* shows differing pathogenicity in mares and Jenny donkeys." *Equine Veterinary Journal* 53:990-995. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105629>.

Duquesne, F., M.F. Breuil, A. Hans, et S. Petry. 2021. "Preservation of viable *Taylorella equigenitalis* in different commercially available transport systems." *The Veterinary Journal* 270:105629. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105629>.

Breuil, M.F., M. Joseph, et S. Petry. In press. "Comparison of five basal compositions of selective chocolate agar media for isolation of *Taylorella equigenitalis*." *Journal of Equine Veterinary Science* 110:103829. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103829>.

Communications nationales

Petry, S., J.S. Py, A. Wilhelm, F. Duquesne, M.H. Bâyon-Auboyer, H. Morvan, B. Gassilloud. 2021. "Utilisation de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF comme test de diagnostic différentiel pour la métrite contagieuse équine." *Congrès de la SFM, Cité des Congrès, Nantes, 22-24 Septembre 2021*.

Communications internationales

Petry, S., J.S. Py, A. Wilhelm, F. Duquesne, M.H. Bâyon-Auboyer, H. Morvan, B. Gassilloud. 2021. "MALDI-TOF MS for the differentiation of *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis*." *11th International Equine Infectious Diseases Conference (IEIDC), 27-01 October 2021*. https://doi.org/10.1111/evj.38_13495.

Duquesne, F., A. Merlin, I. Pérez-Cobo, K. Sedlák, F. Melzer, G. Overesch, D. Fretin, W. Iwaniak, M. F. Breuil, U. Wernery, J. Hicks, M. Agüero-García, N. Frías-Serrano, E. San Miguel-Ibáñez, E. Patrasová, A. S. Waldvogel, K. Szulowski, M. Joseph, J. Jeeba, J. Shanty, P. Varghese, A. Hans, et S. Petry. 2021. "Overview of spatio-temporal distribution inferred by multi-locus sequence typing of *Taylorella equigenitalis* isolated worldwide from 1977 to 2018 in equidae." *11th International Equine Infectious Diseases Conference (IEIDC), 27-01 October 2021*. https://doi.org/10.1111/evj.37_13495.