



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Mycoplasmoses aviaires

Nom du responsable du LNR

Anne BOUCHARDON

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

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort -- site de Ploufragan

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

Unité Mycoplasmologie, Bactériologie et Antibiorésistance

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

Mycoplasma gallisepticum chez la poule et la dinde, et *Mycoplasma meleagridis* chez la dinde, sont des maladies réglementées qui font l'objet de mesures de contrôle (dépistage et suivi obligatoire des élevages de sélection et de reproduction : DGAL/SDSPA/N2000-8059 et 8060) nécessitant le support d'un LNR. Ces mycoplasmes aviaires sont également inscrits sur la liste de l'OIE. Elles n'apparaissent pas dans l'arrêté modifié du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et de deuxième catégorie pour les espèces animales. Elles sont cependant classées DE (obligation de déclaration, de surveillance et de certification) dans la gestion des maladies animales de la nouvelle loi européenne de santé animale (règlement UE 2016/429).

Les faits marquants de l'année

Le nombre d'analyses réalisées au cours de l'année 2021 a augmenté significativement comparé aux années précédentes, et notamment à 2020 (multiplication par quatre). Cette augmentation est, en partie, due à des envois plus fréquents de souches de mycoplasmes (sous forme de bouillons ou de géloses) par des laboratoires d'analyses vétérinaires pour identification de souches (notamment avec le développement de l'identification par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF) et/ou mise en souchothèque au LNR. Le LNR a participé activement au cours de cette année aux discussions sur la révision de la norme NF-U47-012 (recherche des anticorps spécifiques de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma meleagridis* ou *Mycoplasma synoviae* dans le sérum par la technique d'agglutination rapide sur lame), notamment pour tenir compte des résultats obtenus par le LNR ces dernières années sur l'effet prozone. Une étude, initiée et pilotée par le LNR et impliquant différents laboratoires sur la technique d'agglutination rapide sur lame (ARL) pour la détection d'anticorps dirigés contre *Mycoplasma (M.) gallisepticum* et/ou *M. synoviae* chez la poule et la dinde est en cours. Ce projet, mis en place au cours de l'été 2021, a pour objectif de déterminer si un effet prozone peut être observé sur des sérums issus d'élevages de poules ou de dindes infectés par *M. gallisepticum* et/ou *M. synoviae*, en comparant les résultats obtenus par deux techniques ARL réalisées en parallèle sur les mêmes sérums par les laboratoires d'analyses.

Abréviations

ARL : agglutination rapide sur lame

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

PCR : polymerase chain reaction

MALDI-TOF : matrix-assisted laser desorption/ionisation – time of flight

MG : *Mycoplasma (M.) gallisepticum*

MS : *Mycoplasma (M.) synoviae*

1. Méthodes développées ou révisées

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

0 méthode(s)

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...)

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Sans objet

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Sans objet

3.3 Autres analyses

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

13576 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le LNR effectue essentiellement des diagnostics de première intention pour le suivi sanitaire des troupeaux exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) (poules et dindes) ou conventionnels (poules) du Laboratoire de Ploufragan : en tout, 6448 agglutinations rapides sur lame (ARL) et 284 analyses par ELISA ont été réalisées en 2021 pour ces troupeaux. Ces chiffres sont restés relativement stables sur les cinq dernières années.

Dans le cadre de la production et de la distribution de sérums de référence pour la technique ARL, 3196 ARL ont été réalisées (contrôles lors de la cinétique d'infection pour la production du nouveau sérum et contrôles des sérums disponibles à la vente).

Enfin, 245 prélèvements non liés au suivi des troupeaux EOPS ont été reçus et ont donné lieu à 3628 analyses de première intention (mise en culture et PCR, ARL ou ELISA en fonction des prélèvements) au cours de l'année 2021. Ces chiffres sont en augmentation par rapport aux deux dernières années, mais inférieurs aux chiffres de 2017-2018 : le nombre important de prélèvements et d'analyses effectués sur poules pondeuses du terrain en 2017 et 2018 étant essentiellement liés à un projet de recherche (thèse) sur le syndrome des œufs à extrémité de verre qui se terminait en 2018.

Des essais d'identification par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (collaboration avec le Laboce22) ont également été réalisés au cours de l'année 2021 pour différentes cultures pour lesquelles un changement de couleur a été observé (activité métabolique des mycoplasmes), des clones et des souches. Ces analyses (263 en tout) ne sont pas incluses dans le total ci-dessus car le LNR prépare la cible avec les échantillons, mais les lectures/analyses sont effectuées dans les locaux du Laboce22. Le nombre d'analyses effectuées par spectrométrie de masse sont en augmentation constante ces cinq dernières années car cette technique permet une identification rapide et fiable de différentes espèces de mycoplasmes aviaires (ou de mélanges d'espèces dans les cultures) non reconnues par

les tests classiques de PCR développés uniquement vis-à-vis des quatre espèces reconnues les plus pathogènes pour les poules et les dindes.

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**

Pour la technique ARL, un EILA européen est organisé par le laboratoire Royal GD B.V. Animal Health (Deventer, Pays-Bas) tous les ans. Le LNR y participe tous les ans, au printemps, afin de valider ses essais réalisés sous logo Cofrac pour la détection des anticorps dirigés contre *M. gallisepticum* et *M. synoviae* dans les sérums de poules par la technique ARL.

Le LNR participe également au même EILA européen pour la détection des anticorps dirigés contre *M. gallisepticum* et *M. synoviae* dans les sérums de poules par la technique ELISA.

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

Non

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)

Mycoplasma gallisepticum chez la poule et la dinde, et *M. meleagridis* chez la dinde, sont des maladies qui font l'objet de mesures de contrôle. Le LNR fournit des sérums de référence (positifs et négatifs) pour la méthode ARL, norme NFU47-012.

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

Le LNR fournit :

- Des sérums de poules ou de dindes EOPS (contrôles négatifs pour la méthode ARL) ;
- Des sérums de poules positifs pour *M. gallisepticum* ou *M. synoviae* (contrôles positifs pour la méthode ARL) ;
- Des sérums de dindes positifs pour *M. gallisepticum*, *M. synoviae* ou *M. meleagridis* (contrôles positifs pour la méthode ARL).

Ces sérums sont utilisés en interne au LNR, mais sont également vendus aux laboratoires d'analyses effectuant des ARL vis-à-vis des mycoplasmoses aviaires.

Ces sérums sont vendus sous forme lyophilisée, en flacons de 1 mL.

Nombre de lots produits dans l'année

Un nouveau lot de sérum de poule positif vis-à-vis de *M. gallisepticum* (470 mL) a été produit au cours de l'année 2021.

Nombre d'unités distribuées au plan national

Quantités de sérums vendus au cours de l'année 2021 (flacons de 1 mL) :

- Sérum de poule positif vis-à-vis de *M. synoviae* : 109 flacons ;
- Sérum de poule positif vis-à-vis de *M. gallisepticum* : 100 flacons ;
- Sérum de dinde positif vis-à-vis de *M. synoviae* : 9 flacons ;
- Sérum de dinde positif vis-à-vis de *M. gallisepticum* : 9 flacons ;
- Sérum de dinde positif vis-à-vis de *M. meleagridis* : 18 flacons ;
- Sérum de dinde négatif : 1 flacon ;
- Sérum de poule négatif : 11 flacons.

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

Cette activité a augmenté sur les cinq dernières années, et plus particulièrement sur 2017 et 2018. Elle semble s'être stabilisée en 2019 et a légèrement diminué en 2020 et 2021.

L'augmentation du nombre de sérums de poule positifs vis-à-vis de *M. gallisepticum* et *M. synoviae* fournis est sans doute due à l'arrêt de la fabrication et fourniture de ce type de sérums par un autre fournisseur en 2017. La légère diminution observée en 2020 et 2021 pourrait être due, en partie, à la crise sanitaire due au SARS-Cov2 et à des problèmes récurrents de fourniture en antigènes nécessaires à la réalisation des tests ARL pour lesquels ces sérums servent de contrôles positifs et négatifs. En effet, le seul fournisseur de ces antigènes au niveau Européen, CEVA Biovac, a rencontré des problèmes de production en 2020, mais surtout au cours de l'année 2021, entraînant des ruptures de stock d'antigènes dans différents laboratoires français et européens. Pour pallier ces problèmes d'approvisionnement et pouvoir continuer à effectuer des analyses ARL, le LNR a pris contact, commandé et testé des antigènes de l'entreprise Charles River, basée aux USA.

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

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

Le LNR contrôle uniquement les antigènes qu'il utilise pour ses essais ARL. Les antigènes utilisés dans les ARL font l'objet de contrôles initiaux puis lot par lot. Leur spécificité, sensibilité et stabilité dans le temps sont ensuite contrôlées régulièrement aux cours des essais réalisés au sein du LNR.

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

Onze contrôles de lots d'antigènes ont été effectués au cours de l'année 2021.

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

Cette activité est restée relativement stable au cours des cinq dernières années. Une augmentation a été observée en 2019-2021 par rapport aux années précédentes. Elle peut s'expliquer par des ruptures de stocks régulières chez le seul fournisseur européen, CEVA Biovac (obligeant à commander de plus petites quantités, avec des changements de lots), et par des commandes d'antigènes chez Charles River (USA) depuis le début de l'année 2021 pour pallier ces ruptures de stock.

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...).

La responsable du LNR a été sollicitée par des journaux pour la relecture d'articles scientifiques (traitant des mycoplasmes aviaires ou de la résistance des mycoplasmes aux antibiotiques) avant publication. Ces activités, réalisées intuitu personae, ne sont cependant pas considérées comme un travail du LNR proprement dit.

La responsable du LNR participe depuis plusieurs années à des réunions de l'AFNOR (commission U47) pour la révision de la norme NF-U47-012.

Ces activités peuvent être estimées à environ un à deux jours par mois en moyenne.

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

Les appels et messages sont essentiellement reçus et gérés par la responsable du LNR (ou son adjointe en cas d'absence).

Une boîte aux lettres spécifique au LNR est consultable par toutes les personnes impliquées dans le LNR : lnr.mycoaviaires@anses.fr. Beaucoup de professionnels continuent néanmoins à contacter directement la responsable du LNR sur sa boîte professionnelle ou par téléphone.

Le LNR reçoit en moyenne deux à trois appels ou messages par semaine de la part de laboratoires départementaux ou privés, de vétérinaires, ou de techniciens pour :

- Des demandes de renseignements sur la méthode ARL ou la disponibilité des réactifs, la culture des mycoplasmes (composition des milieux de culture, méthodes d'isolement par culture), les prélèvements à privilégier pour permettre l'isolement des mycoplasmes, etc.
- Des demandes de renseignements généraux sur les modes de transmission des mycoplasmes aviaires, les moyens de lutte (protection, prévention, antibiothérapie, vaccins disponibles ou autovaccins).

Cette activité de conseil peut être estimée à environ ½ journée par semaine en moyenne.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Non

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

0 EILA

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

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

Journée des LNR Anses et de leurs réseaux de laboratoires agréés en santé animale du 27 mai 2021.

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
EXOVIRULOME	Le secrétome des mycoplasmes animaux : comparaison interespèces, rôle dans le pouvoir pathogène et application au diagnostic (thèse co-encadrée Anses Lyon/Ploufragan)	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

Non

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

Non

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

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

Aucun

Annexes

Liste des publications et communications 2021 dans le cadre du mandat de LNR Mycoplamoses aviaires

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

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

de Jong A., M. Youala, U. Klein, F. El Garch, S. Simjee, H. Moyaert, M. Rose, A.V. Gautier-Bouchardon, S. Catania, K. Ganapathy, M. Gyuranecz, F. Möller Palau-Ribes, A. Pridmore, et R.D. Ayling. 2021. « Minimal inhibitory concentration of seven antimicrobials to *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* isolates from six European countries. » *Avian Pathology*, <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1861216>.