



## **Rapport annuel d'activité, année 2024**

### **Laboratoire National de Référence**

#### **Brucelloses animales (y compris pour le contrôle 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 -- site de Maisons-Alfort

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

Unité des Zoonoses Bactériennes

## **Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat**

Suite à l'application du Règlement (UE) 2016/429, dit « Loi de Santé Animale », Les infections à *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* et *Brucella suis* sont classées B+D+E pour les ruminants. Cela signifie que ces maladies sont présentes dans l'UE et que leur éradication est obligatoire.

- Des mesures sanitaires sont également prévues pour ces mêmes infections chez d'autres espèces sensibles comme les suidés, camélidés et autres artiodactyles ainsi que chez les équidés, carnivores et lagomorphes.

- L'épididymite contagieuse ovine à *Brucella ovis* est classée D+E pour les ovins. Cela signifie que la propagation de cette maladie doit être stoppée (dispositions relatives aux mouvements d'animaux dans l'Union, à l'import et à l'export) et également suivie et dépistée. Par ailleurs, l'infection des canins à *Brucella canis* est inscrite sur la liste nationale, considérant qu'il peut être nécessaire, dans un but d'intérêt collectif, de mettre en œuvre des mesures nationales à son égard.

## **Les faits marquants de l'année**

\* Travaux d'expertise : finalisation de l'avis (2024-SA-0099 : Avis relatif aux « modalités de surveillance et de lutte contre la brucellose des bouquetins dans les massifs du Bargy et des Aravis ») ; AST (2024-AST-0131 : note relative aux « éléments nécessaires pour le traitement des suspicions en prophylaxies » ; 2024-AST-0146 : note relative aux « modalités de surveillance et de lutte contre la brucellose des bouquetins dans les massifs du Bargy et des Aravis ») ; participation au groupe de travail « Brucellose Bargy-Aravis »

\*Nouvelle matrice PCR ajoutée à accréditation : souches et organes (dont nœuds lymphatiques)

\*Accréditation AFNOR sur la méthode « Recherche d'anticorps contre l'épididymite contagieuse du bélier par la technique de fixation du complément »

\*Avancées du projet LFB (Lait Fromage *Brucella*) : développement des méthodes moléculaires permettant d'obtenir une limite de détection < 100 UFC / mL dans le lait

\* Pour la première fois, isolats de *B. microti* chez des petits ruminants domestiques ;

## **1. Méthodes développées ou révisées**

### **Activités relatives au développement de méthodes**

pas de développement méthodologique

### **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**

275 analyse(s)

#### **Détail par type d'analyse de première intention**

\*Sérologie : 28 épreuves à l'antigène tamponné (EAT); 67 ELISA ; 35 Fixation du complément (FC) *B. ovis* ; 60 lateral flow immunoassay (LFIA) *B. canis* ; 6 rapid slide agglutination test (RSAT) *B. canis* ; 44 Microplate Agglutination Test (MAT) *B. canis*

\*Recherche de Brucella par culture (échantillons d'origine animale) : 35 échantillons  
Evolution générale : diminution par rapport à 2023, à considérer comme un retour à une activité « normale » (diminution des cas déclarés de brucellose canine, diminution de la sous-traitance diagnostique pour les chiens par mise à disposition d'un antigène RSAT *B. canis* sur le marché et transfert de la méthode MAT transférée par le LNR à son réseau au cours de l'année 2023)

### **3.2 Analyses officielles de seconde intention**

#### **Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année**

190 analyse(s)

#### **Détail par type d'analyse de seconde intention**

Confirmations sérologiques : 58 confirmations de laits bovins ; 84 confirmations de sérums bovins par ELISA de confirmation et 10 FC

Identification et typage de souches reçues au LNR : 38 (dont 23 souches de bouquetins ; 1 souche de chamois ; 10 souches de lièvres ; 1 souche d'ovin et 3 souches porcines)

Evolution générale : augmentation des souches de bouquetins, (beaucoup de bouquetins infectés capturés pendant le printemps 2024), diminution de confirmations sérologiques sur les laits bovins

### **3.3 Autres analyses**

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

216 analyse(s)

#### **Détail par type d'autres analyses**

\*130 PCR détection du genre Brucella sur prélèvements/souches (dont 81 prélèvements et 49 souches)

\*33 PCR-HRM sur souches (identification de l'espèce) : 27 classiques (18 *B. melitensis*, 0 *B. abortus*, 9 *B. suis*), 5 *B. microti* et 1 *B. canis*

\*Séquençage du génome complet : 53 souches séquencées

Evolution générale : diminution de l'utilisation des méthodes moléculaires pour la détection et l'identification.

### **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**

\*National : 0

\*UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 0

\*International : 2 en sérologie et 1 en bactériologie (organisé par Sciensano)

### **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)**

Milieux de culture sélectifs ou non, solides ou liquides.

Milieux pour le typage (Thionine, Fuchsine, Christensen)

**Nombre de lots produits dans l'année**

\*28 lots de géloses Blood agar base 2 sérum  
\*31 lots de géloses Farrell  
\*4 lots de milieux CITA liquide  
\*5 lots de milieux CITA solide  
\*8 lots de milieux Christensen  
\*4 lots de milieux Blood agar base 2  
\*4 lots de milieux Thionine  
\*4 lots de milieux Fuchsine

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années**  
Stable

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

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

Antigène *Brucella canis* Sérums anti-Brucella : S, R, A, M et négatif Phages pour le typage de *Brucella* (Tb, Wb, Iz, R/C).

**Nombre de lots produits dans l'année**  
0

**Nombre d'unités distribuées au plan national**  
Sérums anti-Brucella : S, R, A, M et négatif (24)

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années**  
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, contrôle positif ou négatif

**Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence**  
Souches/ADN de référence

**Nombre de lots produits dans l'année**  
Pour les souches et les ADN : maintien de la souchothèque et de la ADNthèque de référence

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années**  
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)**

Sérum positif et négatif de référence *B. ovis* (MRI), Panel de sérums bovins et porcins. Les sérums de référence sont destinés aux producteurs de réactifs sur le marché français (quantité limitée).  
Souches de référence et panel non MOT

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

Sérums, souches, ADN

**Nombre de lots produits dans l'année**

0

**Nombre d'unités distribuées au plan national**

Sérum positif et négatif de référence *B. ovis* (15)

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'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)**

Contrôles initiaux et lot par lot

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

\*Contrôle de lots d'antigènes de diagnostic : 11 (EAT) ; 2(FC)

\*Contrôle de lots de kits ELISA sérum : 3

\*Contrôle de lots de kits ELISA lait : 2

\*Contrôle de lots de sérums de contrôle : 4

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'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 ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR**

**Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année**

2 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)

**Détail des demandes d'AST, le cas échéant numéro de saisine pour les demandes de portée nationale ayant fait l'objet d'un traitement en Comité de Traitement des Saisines, et noms des mandataires de ces demandes**

\*2024-AST-0131 \*2024-AST-0146

2024-AST-0131 : note relative aux « éléments nécessaires pour le traitement des suspicions en prophylaxies » ;

2024-AST-0146 : note relative aux « modalités de surveillance et de lutte contre la brucellose des bouquetins dans les massifs du Bargy et des Aravis »

**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, CEN, ISO...).**

\*AFNOR : Commission santé animale (U47A), révision de normes brucellose en cours et groupe de travail (GT immunosérologie) ;

\*CEN/TC 469 et WG1 (contrôle de réactifs) \*CES SABA ;

\*finalisation de l'avis (2024-SA-0099) ; participation au groupe de travail « Brucellose Bargy-Aravis » Estimation du temps consacré à ces activités : 35 jours

**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**

**Description de ces activités et estimation du temps consacré**

Echanges de mails et appels téléphoniques quotidiens (1 appel ou 1 email / jour)

**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**

84 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 ELISA 2024, il s'agit d'un réseau de laboratoires agréés EILA mutualisé avec le LRUE

**L'EILA est-il réalisé sous accréditation (norme NF EN ISO/CEI 17043) ?**

Non

**Nombre de laboratoires participants**

33 laboratoire(s)

**Nombre de laboratoires agréés participants**

13 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 laboratoires) en demande d'agrément

**Nombre d'autres laboratoires participants**

19 laboratoire(s)

**Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers**

Etrangers : 17 labos LNRs EU, 2 LNRs autre que EU

**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 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**

Panel non MOT

**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

(\*\*) Au sens de la norme 17043

## **6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)**

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

1 EILV

**Nom de l'EILV et détail du nombre de laboratoires ayant participé pour chaque EILV**

Brucella identification HRM-PCR validation assay

**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**

Biotox - Piratox ; SAGIR (analyses de lièvres)

**Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de "Biotox - Piratox"**

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

**Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de SAGIR (analyses de lièvres)**

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
DTRA	Biosurveillance of Brucellosis in Azerbaijan, Georgia and Turkey	en cours
LFB (CASDAR)	Développer et optimiser les méthodes d'analyse de Brucella dans le lait et le reblochon	en cours
SCC-AGRIA	Estimation de la circulation de Brucella canis dans les élevages canins et facteurs associés au risque d'infection en France	en cours
BAMAR	Identifying the reservoirs for <i>B. amazoniensis</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**

CNR-LE Brucella

**Organisme porteur du CNR**

Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes

**Rencontre organisée dans l'année avec le CNR**

Oui

**Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance**

Projet de collaboration avec le CNR en Guyane (*B. amazoniensis*)

**Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche**

Mise à disposition d'un scientifique du LNR pour une mission d'une semaine en Guyane pour participation à l'analyse des prélèvements (octobre 2024)

**Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant**

Sans objet

**Transfert de matériel biologique**

Oui

## 10. Relations avec le LRUE

**Détention par l'Anses 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 OMSA

**Intitulé(s) officiel(s)**

\*Laboratoire de référence OMSA pour *Brucella abortus*, *B. melitensis* et *B. suis*

\*Laboratoire de référence OMSA pour l'épididymite contagieuse du bœvier

## ANNEXES

### Liste des publications et communications 2024 dans le cadre du mandat de LNR Brucelloses animales (y compris pour le contrôle des brucellines)

*Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont publiées.*

#### Article

Girault G, Freddi L, Jay M, Perrot L, Dremeau A, Drapeau A, Delannoy S, Fach P, Vicente AF, Mick V, Ponsart C, Djokic V. Combination of in silico and molecular techniques for discrimination and virulence characterization of marine *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. Front Microbiol. 2024 Sep 18;15:1437408. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1437408>

#### Conférence et webinaire

Girault G, Freddi L, Ferreira AC, Garofolo G, Arais L, Whatmore A, Djokic V, Ponsart C, Ashford RT. 2024. « Results of inter-laboratory proficiency test for whole genome sequencing of atypical *Brucella* spp. » 76th Annual Brucellosis Research Conference, 18-19 mai 2024, Texas, USA (USA).

Girault G, Djokic V, Petot-Bottin F, Perrot L, Bourgoin T, Hoffmann S, Vicente AF, Ponsart C, Freddi L. 2024. « Molecular investigations of two first *Brucella suis* biovar 2 infections cases in French dogs ». 76th Annual Brucellosis Research Conference, 18-19 mai 2024, Texas, USA (USA).

Girault G, Freddi L, Jay M, Perrot L, Dremeau A, Delannoy S, Fach P, Vicente AF, Mick V, Ponsart C and Djokic V. 2024. « Combination of *in silico* and molecular techniques for discrimination and virulence characterization of marine *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis* » 76th Annual Brucellosis Research Conference, 18-19 mai 2024, Texas, USA (USA).

Ponsart C. 2024. « Key points for the control of brucellosis and vaccination in ruminants. » 5th International Scientific Day of the HASAQ Research Laboratory (ENSV) of the National Veterinary School - Rabie BOUCHAMA, 10 février 2024, Algeria (Algeria).

Ponsart C. 2024. « Brucellosis of Ruminants: epidemiology and control strategies. » "Health in the Mediterranean". Congress of the Francophone Society of Tropical Medicine and International Health, 22-24 mai 2024, Saint Raphaël, France (France).