



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

**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

## **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 », la tuberculose liée au complexe *Mycobacterium tuberculosis* est classée B+D+E pour les bovidés. Cela signifie que la maladie, présente dans l'Union européenne, est à éradication obligatoire en ce qui concerne ces espèces. Des mesures sanitaires sont également prévues pour d'autres espèces sensibles.

## **Les faits marquants de l'année**

En 2024, nous avons progressé dans les analyses de séquençage génomique complet de souches de *Mycobacterium bovis* issues de notre collection (foyers rétrospectifs), tout en caractérisant les souches provenant des foyers de l'année.

Ainsi, nous avons poursuivi notre soutien aux administrations régionales dans l'élucidation de l'origine des nouveaux foyers de tuberculose bovine. À cet effet, nous avons réalisé des restitutions de notre projet et de ses résultats à l'échelle locale, lors de l'assemblée générale du Groupement de défense sanitaire (GDS) de l'Orne (11/06/24), d'un séminaire organisé par le Groupement technique vétérinaire (GTV) et le GDS en Côte-d'Or (26/11/24), ainsi que lors de deux réunions en Charente : l'une organisée par le GDS 16 et l'autre lors du Copil Tuberculose, organisé par la DDPP 16 et le préfet du département (02/12/24). Des réunions virtuelles avec la DGAL et les DD(ETS)PP concernées ont également été tenues pour les départements de la Gironde (également avec la DRAAF Nouvelle-Aquitaine) (22/01/24), ainsi qu'avec les deux départements de la Corse (20/09/24). Une restitution de notre projet a également été réalisée lors d'une journée thématique sur la tuberculose, organisée par le CGAAER à la fin de l'année (09/12/24).

Concernant les analyses de modélisation de l'évolution (phylodynamie), qui intègrent des données épidémiologiques et de WGS, une étude a été menée dans le cadre d'un travail de Master 2, portant sur la Haute Corse, et plus précisément sur le Cap Corse. En effet, cette région concentre un nombre important de foyers bovins et porcins, avec des cas avérés également chez des sangliers, des chèvres, et même chez un chat. Grâce à ce type d'approche, nous avons mis en évidence que, dans ce cas particulier — et unique en France —, ce sont les suidés, sauvages et domestiques, qui jouent un rôle central dans le maintien et la transmission inter-espèces de l'infection. C'est donc sur ces deux composantes du réservoir multi-hôte de l'île que le contrôle de la tuberculose devrait se concentrer. La surveillance Sylvatub pour les sangliers, ainsi que la surveillance par sérologie dans les cheptels de porcs, sera renforcée en 2025 à cette fin.

## **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**

88 analyse(s)

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

\* Sérologie tuberculose de suidés : 6

\* Mises en culture tuberculose (NF U47 104) : 23

\* Recherche de mycobactéries par diagnostic moléculaire (animaux de compagnie et parc zoologiques) : 59

Activité stable mais faible car les analyses de première intention sont principalement réalisées par les laboratoires agréés.

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

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

2834 analyse(s)

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

\* Diagnostic moléculaire expertise (au moins 4 PCR / échantillon) :

- Confirmation tuberculose sur ADN positif complexe de *Mycobacterium tuberculosis* : 480

- Confirmation tuberculose sur tissu douteux complexe de *Mycobacterium tuberculosis* : 43

- Infirmité tuberculose sur ADN négatif complexe de *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) mais avec un résultat positif en histologie : 344

- Infirmité tuberculose sur tissu des échantillons négatif MTBC mais avec un résultat positif en histologie ou autre : 341

\* Identification de souches isolées :

- PCR (au moins 4 PCR / échantillon) : 369

- Identification de souches séquençage hsp65 Sanger : 75

- Typage moléculaire par spoligotypage (souches et ADN) : 1056

- Typage moléculaire par MLVA (*Multiple locus variable-number-tandem-repeat assay*) (souches) : 126

Activité de confirmation plutôt stable par rapport aux années précédentes. Augmentation dans le nombre de typage moléculaire par spoligotypage : validation d'une nouvelle méthode interne LNR qui a permis de rattraper le retard de génotypage de l'année 2023 en 2024.

#### **3.3 Autres analyses**

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

644 analyse(s)

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

\*Séquençage complet de souches : 576

\*Analyse moléculaire de prélèvements de l'environnement : 47

\*Analyses bactériologiques autres : 21

Activité stable par rapport aux années précédentes

**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**

- UE: participation à 2 EILA organisés par le LRUE tuberculose bovine : *Gamma interferon release assay, Direct extraction and microbiological culture*

**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**

Oui

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

Contrôle positif PCR (MRI) : ADN, broyats de tissus, souches

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

Solutions

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

Contrôle positif PCR (MRI) : 1 broyat et 1 ADN

**Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'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 (Norme Afnor NF U47-104) et artificiellement contaminés avec un matériel dosé (souche de collection) : MRE Tuberculose.

\* Plasma interféron gamma (IFNg) : MRI sérum de suidé positif, MRI buvard avec sang de suidés

**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**

Broyats de ganglions (MRE tuberculose) : 1

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

- \* Broyats de ganglions (MRE tuberculose) : 1
- \* Plasma (MRI IFNg) : 18
- \* Sérum (ELISA tuberculose) : 16
- \* Buvards avec sang de suidés (ELISA tuberculose) : 380

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

Activité stable par rapport aux années précédentes

**Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux**

Oui

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

- \*contrôles initiaux
- \*contrôles lot par lot

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

- \*contrôle initial d'un kit IFNg : 1
- \*contrôle lot/lot :
  - kits PCR : 3
  - kits ELISA IFNg : 4
  - kits ELISA tuberculose de suidés : 2
  - Tuberculines : 2

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

Activité stable par rapport aux années précédentes

**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**

0 demande(s)

**Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente**

1 rapport(s)

*Mycobacterium bovis* : infection des cheptels caprins en Corse, alternative à l'abattage total

**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...).**

Participation de l'équipe du LNR aux instances suivantes :

- \* Anses : GT Contrôle de réactifs, °GT Tuberculose caprine
- \* Membre du GT OMSA pour la création d'un standard tuberculinique
- \* Membre du TB *Microbiology & Immunology Research Advisory Panel* (TB MIRAP), DEFRA, Royaume Uni

\* Membre du *Consejo Asesor Externo del Programa Nacional de Salud Animal* (PNSA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentine

\* Membre de la Commission de normalisation AFNOR U47 A Santé animale

Estimation du temps passé : 14 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**

- Appels téléphoniques, diffusion d'informations scientifiques via différents supports (publications scientifiques ou de divulgation, comptes rendus de réunions ou événements scientifiques, etc.)
- Participation à des journées thématiques tuberculose ou des réunions ad hoc : activités du LNR Tuberculose et actualités scientifiques concernant le diagnostic de la tuberculose :
  - o Assemblée générale du GDS de l'Orne (11/06/24),
  - o Séminaire organisé par le GTV et le GDS en Côte-d'Or (26/11/24)
  - o Réunion organisée par le GDS de la Charente (02/12/24)
  - o Réunion organisée par la DDPP 16 et le préfet de la Charente (02/12/24).
  - o Réunions virtuelles avec la DGAL et les DD(ETS)PP concernées pour les départements de la Gironde et de la Corrèze (également avec la DRAAF Nouvelle-Aquitaine), ainsi qu'avec les deux départements de la Corse.
  - o Journée thématique sur la tuberculose, organisée par le CGAAER (06/12/24)
- Participation à tous les groupes de suivi Tuberculose de la Plateforme Epidémiosurveillance en santé animale (ESA), des cellules d'animation et des comités de pilotage de Sylvatub.

Temps consacré 1 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**

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**

Un audit d'un des laboratoires du réseau a été effectué sur place (04-05/03/24), suite à un problème technique concernant le diagnostic par PCR de la tuberculose. Un rapport a été par la suite rédigé et communiqué au Bureau de laboratoires et au Bureau de la santé animale de la DGAL.

### **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**

1 session(s) de formation

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

Stage agrément tuberculose - bactériologie (NF U47 104) et PCR : durée de la session : 2 jours, nombre de participants : 8

#### **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**

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 le cadre de Sylvatub**

Pilotage ; Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de première intention ; Réalisation d'analyses de confirmation ; Réalisation d'analyses de caractérisation ; 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:**

1 fiche(s)

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

Acronyme	Titre	Statut
Mbovis-WGS	Séquençage complet de génomes de souches de <i>M. bovis</i> françaises	en cours
Innotub II	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**

Mycobactéries et 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)

\* Antibiotypage de souches de mycobactéries non tuberculeuses

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

Pas à l'heure actuelle

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

Oui

**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**

Non

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

Oui



**Intitulé du LRUE et nom de l'organisation détenant le mandat**

*Bovine Tuberculosis*

VISAVET, *Health Surveillance Centre, Universidad Complutense*, Madrid, Espagne

**Le LNR a participé à l'atelier organisé par le LRUE**

Oui

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

Non

**Raison pour laquelle le LNR n'a pas participé**

Pas besoin, activité non réalisée par le LNR français

**Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année**

\* Questions techniques relatives au dépistage et diagnostic de la tuberculose caprine

\* Questions techniques relatives à la méthode de purification d'ADN de souches de *Mycobacterium bovis* pour effectuer du WGS

\* Questions relatives à la circulation de génotypes de *M. bovis* dans l'UE

\* Questions relatives aux nouvelles données concernant des méthode innovantes pour le diagnostic de la tuberculose bovine

**Points particuliers ou d'actualité sur l'année, à signaler**

**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)**

Tuberculose de mammifères

## ANNEXES

### Liste des publications et communications 2024 dans le cadre du mandat de LNR Tuberculose

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

#### Articles

Boschioli, M. L., F. J. Salguero, G. Jones et J. Bezos. 2024. "Editorial: Tuberculosis in domestic ruminants: towards eradication of zoonotic tuberculosis." *Front Vet Sci* 11: 1453876.

<https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1453876>.

Melgarejo, C., A. Cobos, M. Domingo, G. Cantero, X. Moll, I. A. Sevilla, J. M. Garrido, L. Michelet, M. L. Boschioli, E. Vidal et B. Perez de Val. 2024. "Experimental infection of goats with *Mycobacterium microti* induces subclinical pulmonary tuberculosis and mild responses to tuberculin skin tests." *Vet Microbiol* 290: 110009. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110009>.

#### Conférences

Boschioli, M. L. 2024. "Mycobactéries, à la croisée des interactions multiples entre espèces." Humanimal. Relations humain-animal : mêmes maladies, même environnement et même sensibilité ? , Maisons-Alfort, 17 et 18 octobre 2024.

Boschioli, M. L. 2024. "De la Tuberculose Bovine à la Tuberculose de Mammifères: les raisons du changement terminologique survenu ces dernières années." Symposium pour la biodiversité 8ème édition, thème : "Faune sauvage et activités humaines : une relation conflictuelle?", Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 2 mars 2024.

Boschioli, M. L. 2024. "Zoonoses respiratoires." 12èmes journées du GREPI, Chantilly, 14 et 15 novembre 2024.

Boschioli, M. L. 2024. "La mycobactérie et ses conditions de survie." Conférence « Tuberculose bovine en élevage et interface avec la faune sauvage. Actualités scientifiques et sanitaires », Institut Agro Dijon, 26 novembre 2024.

Boschioli, M. L., A. Hartmann et L. Michelet. "Études sur la présence et la survie des mycobactéries dans l'environnement : Résultats et recherches en cours." Conférence « Tuberculose bovine en élevage et interface avec la faune sauvage. Actualités scientifiques et sanitaires », Institut Agro Dijon, 26 novembre 2024.

Michelet, L. 2024. "Intérêt de la génomique pour la gestion de la tuberculose bovine. Conférence « Tuberculose bovine en élevage et interface avec la faune sauvage. " Conférence « Tuberculose bovine en élevage et interface avec la faune sauvage. Actualités scientifiques et sanitaires », Institut Agro Dijon, 26 novembre 2024.

Michelet, L. 2024. "Modélisation de la transmission de *Mycobacterium bovis* entre animaux domestiques et sauvages : comparaison de plusieurs zones d'endémie." Conférence « Tuberculose bovine en élevage et interface avec la faune sauvage. Actualités scientifiques et sanitaires », Institut Agro Dijon, 26 novembre 2024.