

Rapport annuel d'activité, année 2024

Laboratoire National de Référence

Métrite 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 Epidémiologie des Maladies Equines (PhEED)

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 métrite contagieuse équine est classée « D-E » : cela signifie que sa propagation doit être stoppée (dispositions relatives aux mouvements d'animaux dans l'Union, à l'import et à l'export).

Les faits marquants de l'année

- Développement de deux cgMLST, l'une dédiée à l'agent de la MCE (*T. equigenitalis*) et l'autre dédiée à *T. asinigenitalis*, basé sur l'analyse de 482 génomes dont 46% ont été séquencés pour le projet et viennent enrichir les bases de données publiques. L'approche initiale visant à développer une cgMLST commune au genre *Taylorella* a été abandonnée en raison de la forte variabilité génétique observée entre les deux espèces bactériennes ainsi qu'entre les souches de l'espèce *T. asinigenitalis*. La cgMLST, prenant en compte >80% du génome, s'est révélée plus précise et discriminante que la MLST existante, basée sur le typage de sept gènes (<0.5% du génome) ne reflétant pas assez fidèlement les relations génomiques globales. La base MLST actuelle (<https://pubmlst.org/organisms/taylorella-spp/>) reste disponible, cette dernière acceptant aussi bien les régions d'ADN d'intérêt que les génomes complets.
- La réalisation d'un antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon la norme AFNOR NF U47-107 ne pouvait être appliquée en l'état pour le genre *Taylorella* (entre autres, non croissance sur le milieu gélosé préconisé). Après adaptation du protocole, un antibiogramme peut maintenant être réalisé par le LNR pour toute souche du genre *Taylorella* entrant en collection. Les diamètres critiques utilisés sont ceux définis pour *Pasteurellaceae* dans les recommandations vétérinaires du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (édition en vigueur) complétés par les diamètres critiques génériques des recommandations humaines du CASFM (2013).

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*

MLST : Multi-Locus Sequence typing

cgMLST : core-genome MLST

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Sans objet

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

7 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Les analyses officielles de première intention réalisées en 2024 concerne le diagnostic de la MCE par PCR (n=7). Sur les cinq dernières années le nombre d'analyses officielles de première intention réalisées pour la MCE est de 39 (2020 : 4 ; 2021 : 1 ; 2022 : 17 ; 2023 :10 ; 2024 : 7). Ce nombre est faible du fait d'un nombre important de laboratoires agréés en mesure de réaliser ces analyses en France (37 laboratoires pour le diagnostic bactériologique et 25 pour la PCR selon le document la liste des laboratoires agréés en Santé Animale du 21/01/2025).

3.2 Analyses officielles de seconde intention

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

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de seconde intention

Aucune analyse de seconde intention n'a été réalisée en 2024. Sur les cinq dernières années le nombre d'analyses de seconde intention ou biotypage est de 40 (2020 : 2 ; 2021 : 4 ; 2022 : 34 ; 2023 : 0 ; 2024 : 0). Ce nombre est en adéquation avec le faible nombre de cas de MCE confirmés par an (0 en 2020, 2021, 2023 et 2024, et 1 en 2022).

3.3 Autres analyses

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

3770 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

En 2024 l'activité technique hors analyses officielles a été répartie autour des principales missions suivantes :

- Partie technique de l'organisation d'un EILA (LNR) et participation à deux EILA organisés par le APHA (UK) ;
- Contrôle initial de conformité d'un kit PCR commercial (IDCEML)
- Validation et fourniture d'éléments biologiques/réactif avec entre autres la production d'un nouveau lot de sérum anti-T. equigenitalis ;
- Contrôle bactériologique et validation des réactifs utilisés pour les analyses ;
- Projets de recherche : poursuite et finalisation d'une thèse d'Université (CaraTAsi), encadrement d'une étudiante en BTS pour l'étude du métabolisme de T. equigenitalis, participation à la mise en place d'un cheptel d'ânes reproducteurs dans le cadre d'un projet INRAe de sauvegarde de la race Grand Noir du Berry et étude ponctuelle de la prévalence de T. asinigenitalis dans les parcs zoologiques Français.

Sur les cinq dernières années la tendance de ces activités techniques hors analyses officielles (2020 : 2200 ; 2021 : 1500 ; 2022 : 1300 ; 2023 : 3600 ; 2024 : 3770) montre un pic d'activité en 2023 et 2024 du fait entre autres de travaux en cours sur T. asinigenitalis (i) thèse d'Université CaraTAsi cofinancée par l'IFCE et les Fonds Eperon suite à la remontée en 2019 de signes cliniques d'endométrites chez trois juments inséminées aux Emirats Arabes Unis avec de la semence d'un âne positif à T. asinigenitalis, projet INRAe de sauvegarde de la race Grand Noir du Berry et recherche de T. asinigenitalis dans les parcs zoologiques Français et en 2024 de la validation d'un kit commercial de PCR en temps réel.

Ces chiffres sont à mettre en regard de plusieurs arrêts longue durée du personnel dédié à la MCE en 2020, 2021 et 2022.

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 organisés par Animal and Plant Health Agency (APHA), UK

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)

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

43

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

Sur les cinq dernières années, l'activité de production de réactifs est stable avec la production de sérum polyclonal anti-T. equigenitalis pour l'agglutination sur lame tous les deux à trois ans (2021 et 2024). Chaque production couvre à la fois l'usage interne et les besoins du réseau pour deux à trois années. Le nombre d'unités distribuées au plan national est toujours plus élevé l'année de la production des nouveaux lots, soit en 2021 et 2024 (2020 : 17 ; 2021 : 41 ; 2022 : 14 ; 2023 : 12 ; 2024 : 43).

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)

Souches de contrôle positif (T. equigenitalis) et négatif (T. asinigenitalis, Oligella urethralis)

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

La fourniture de souche de référence se fait sous forme de cryobilles.

Nombre de lots produits dans l'année

2

Nombre d'unités distribuées au plan national

0

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

Sur les cinq dernières années, l'activité de production de matériaux de référence reste très faible car les laboratoires sont déjà dotés en souches de référence qu'ils peuvent récupérer au moment des EILA (2020 : 2 ; 2021 : 1 ; 2022, 2023 et 2024 : 0).

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

1

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'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. En 2024, le LNR a répondu à une demande de contrôle initial de conformité d'un kit PCR commercial (IDCEML).

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

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, CEN, ISO...).

Un membre de l'équipe du LNR MCE est membre de la commission de normalisation AFNOR/U47A Méthodes d'analyse en santé animale. ≤ 0,03 ETP a été consacré à cette activité en 2024, ce qui inclue la participation aux réunions de la commission, la prise de connaissance des documents discutés en séance ainsi que la prise en charge de la révision de la norme NF U47-108 qui a débuté en 2023 et c'est poursuivi en 2024.

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

Des activités d'appui et de conseils aux autorités et aux professionnels sont réalisées en fonction des demandes. Les échanges sont généralement faits en temps réel par téléphone ou par e-mails. En 2024 (et comme chaque année), le LNR a surtout été sollicité par les laboratoires agréés du réseau (exemples de sujets d'intérêt : fourniture de réactifs, quelles analyses réaliser en fonction du contexte du prélèvement ?, gestion de la rupture d'approvisionnement en gélose chocolat enrichie par BioMérieux avant et pendant l'EILA bactériologie, appui technique suite à l'EILA bactériologie, demande d'information sur l'identification d'autres pathogènes bactériens, échanges sur la révision de la norme NF U47-108...) ainsi que par des vétérinaires praticiens (quelles analyses réaliser en fonction du contexte du prélèvement ?).

≤ 0,20 ETP a été consacré à ces activités en 2024.

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

37 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

Diagnostic de la MCE par bactériologie

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

Non

Nombre de laboratoires participants

37 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

37 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 laboratoires) 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**

4 laboratoire(s)

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)

2 participants : rendu d'un résultat faussement négatif (pas le même échantillon entre les deux participants) 1 participant : rendu d'un résultat faussement positif 1 participant : mise en œuvre des analyses hors délai à cause d'un droit de retrait des agents suite à des problèmes de sécurité et sureté des locaux d'essais (mise en œuvre des analyses 14 jours après la réalisation des échantillons malgré leur réception dans les 72 h). Informé de la situation le LNR avait étendu la plage de vérification de la stabilité des échantillons de 3 à 8 jours. Les résultats du participant ont montré une perte importante de la viabilité de l'espèce cible recherchée puisque son isolement a été effectif uniquement dans l'échantillon le plus concentré. De plus, le participant a confondu les deux espèces du genre *Taylorella* (rendu d'un résultat faussement positif) ce qui n'est pas en lien avec la mise en œuvre des analyses hors délai.

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

Quatre fiches de « relevé et suivi de(s) écart(s) » ont été ouvertes et alimentées par le LNR et par chaque participant concerné qui a réalisé une analyse des causes et proposé des actions à mettre en place en fonction de chaque écart constaté :

- 1 participant : observation de colonies suspectes sur les colonies de flore annexe identifiée comme étant *Aeromonas hydrophila* mais incapacité de séparer les deux types de colonies ; même observation que ce qui peut parfois arriver avec *Klebsiella pneumoniae* (Le LNR a également fait cette observation avec l'un des deux échantillons de même composition analysés au moment des tests de stabilité). Action mise en place : en présence de colonies d'*Aeromonas* sp., tout échantillon sera transmis pour une recherche par PCR au LNR ;
- 1 participant : la reprise de l'échantillon a bien permis l'isolement de l'espèce cible. En routine en cas de doute sur un échantillon, une PCR est systématiquement réalisée ce qui aurait dû être fait sur cet échantillon (cela n'a pas été fait au moment de l'EILA afin de rester dans le domaine de la méthode imposée) ;
- 1 participant : suite au rendu d'un résultat faussement positif l'analyse de l'échantillon a été refaite et montre que l'agglutination sur lame à partir d'une colonie isolée sur gélose au sang ne permet pas d'obtenir un résultat conforme pour la différenciation les deux espèces du genre *Taylorella*. Il ne s'agit pas d'une confusion entre ces deux espèces car le participant fait bien la différence. Action mise en place : Prendre en compte le temps de pousse sur la gélose chocolat sélective ; utilisation uniquement de colonies de maximum 48 h isolées sur gélose chocolat (sélective ou non) et pas sur gélose au sang qui n'est pas une gélose reconnue par la norme NF U47-108 (celle-ci peut néanmoins être utilisée en parallèle pour l'isolement de la flore annexe si besoin) ;

(**) Au sens de la norme 17043

- Concernant le participant dont l'EILA a été impacté par un droit de retrait des agents, un second jeu d'échantillons sera envoyé durant l'EILA MCE PCR organisé en mars 2025. Concernant la confusion entre les espèces du genre Taylorella : le participant a refait une sensibilisation du personnel sur la nécessité d'avoir les témoins présents lors du test d'agglutination (absents au moment de l'EILA) avec une partie pratique.

Suivi de décisions sur l'agrément

Sans impact

Evolution du réseau dans le temps

Après une perte de plus de 50% du nombre de laboratoires agréés pour le diagnostic de la MCE par bactériologie entre 2006 et 2020, ce nombre continue à diminuer et est passé de 40 en 2023 à 37 en 2024. La liste des laboratoires agréés pour les analyses officielles de la MCE est présente sur le site <http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale>. Après plus de 25 d'existence, le réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic de la MCE par bactériologie est performant et stable. Le nombre de résultats non conformes lors des EILA est généralement limité.

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

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

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
CaraTAsi	Caractérisation de l'espèce <i>Taylorella asinigenitalis</i> : phylogénie, pathogénicité et résistance aux antibiotiques	terminé

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

Détenzione par l'Anses 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. Détenzione 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 la métrite contagieuse équine

ANNEXES

Liste des publications et communications 2024 dans le cadre du mandat de LNR métrite contagieuse équine

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

Communications internationales

Kozak, S., D. Merda, M.F. Breuil, M. Harrison, I. Zdovc, S. Petry and F. Duquesne. 2024. "Core genome multilocus sequence typing schemes for epidemiological investigation of *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis*." International Equine Infectious Disease Conference, Deauville, September 30 – October 04, 2024 (Communication orale).

Kozak, S., D. Merda, F. Duquesne, M.F. Breuil, C. Sévin, I. Mawhinney and S. Petry. 2024. "Whole genome sequence analysis of the 2018 Persian onager isolate suggests subspecies lineages within the *Taylorella asinigenitalis* species." International Equine Infectious Disease Conference, Deauville, September 30 – October 04, 2024 (Communication affichée).