



Rapport annuel d'activité, année 2023

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

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

Épidémiologie génomique au service de la surveillance de la tuberculose animale en France: En 2022, la DGAI a conclu une convention avec l'Anses afin de financer le séquençage génomique complet de souches de *Mycobacterium bovis*. Cette initiative vise, d'une part, à mener des études d'épidémiologie génomique pour fournir un soutien supplémentaire aux administrations régionales dans l'élucidation de l'origine des nouveaux foyers de tuberculose bovine. D'autre part, elle vise à réaliser des études de phylodynamie permettant de déchiffrer le rôle des différentes espèces animales dans les cycles de transmission multi-hôte de cette maladie, région par région. En 2023, le LNR pour la tuberculose a séquencé 384 souches, complétant ainsi les 384 autres séquencées en 2022. Ces travaux ont permis de présenter les résultats des analyses phylogénétiques, éclairant la dynamique épidémiologique de la maladie dans les départements de la Charente, la Gironde, le Calvados, l'Orne, les Pyrénées-Atlantiques, les Landes et les Ardennes, notamment rétrospectivement. Les analyses des souches séquencées fin 2023 sont en cours, avec pour objectif de présenter des résultats pour de nouveaux départements.

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Pas de développement de méthode en 2023

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

30 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

- Sérologie tuberculose de suidés : 23 mises en culture tuberculose (NF U47 104)
- Recherche de mycobactéries par diagnostic moléculaire (animaux de compagnie et parc zoologiques): 7

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

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

2025 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

- Diagnostic moléculaire expertise (au moins 4 PCR / échantillon) :
 - o Confirmation tuberculose sur ADN positif complexe de *Mycobacterium tuberculosis* : 488
 - o Infirmité tuberculose sur ADN négatif complexe de *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) mais avec un résultat positif en histologie : 364
 - o Infirmité tuberculose sur tissu des échantillons négatif MTBC mais avec un résultat positif en histologie ou autre : 381
- Identification de souches isolées PCR (au moins 4 PCR / échantillon) :
 - o Identification de souches séquençage hsp65 Sanger : 516
 - o Typage moléculaire par spoligotypage (souches et ADN): 60
 - o Typage moléculaire par MLVA (souches): 216

Activité de confirmation stable par rapport aux années précédentes.

3.3 Autres analyses

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

723 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- Séquençage complet de souches : 384
- Analyse moléculaire de prélèvements de l'environnement: 19
- Analyses bactériologiques autres: 320

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 : EILA organisé par le LRUE tuberculose bovine : typage moléculaire du complexe *Mycobacterium tuberculosis*
- Au plan national : EILA organisés par le LNR: bactériologie/PCR

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) : ADN (4 broyats de tissus), 4 souches

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 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) : 20
- Plasma (MRI IFNg) : 11
- Sérum (ELISA tuberculose) : 12
- Buvards avec sang de suidés (ELISA tuberculose) : 35

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)

Lot par lot

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

- Kits PCR: 3
- Kit ELISA IFNg : 1
- Kits ELISA tuberculose de suidés : 4
- 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

1 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)

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

Saisine n° « 2023-AST-0130 » et saisine liée n° 2023-SA-0146 Surveillance et lutte contre l'infection par le complexe *Mycobacterium tuberculosis* des cheptels caprins en Corse (DGAL)

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 ...).

- Anses : membre des GT contrôle de réactifs, GT Tuberculose caprine GT Essais bilatéraux d'aptitude, GT Autoparticipation aux EILA
- Externes
 - o Membre du GT OMSA pour la création d'un standard tuberculique
 - o Membre du TB Microbiology & Immunology Research Advisory Panel (TB MIRAP), DEFRA, Royaume Uni
 - o Membre du Consejo Asesor Externo del Programa Nacional de Salud Animal (PNSA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentine
 - o Membre de la Commission 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.)
- Webinaire pour GDS France et GDS régionaux: activités du LNR Tuberculose et actualités scientifiques concernant le diagnostic de la tuberculose (16/11/2023)
- Participation à tous les groupes de suivi Tuberculose de la Plateforme 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

1 EILA

Nom de l'EILA

Bactériologie-PCR Tuberculose

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

Non

Nombre de laboratoires participants

19 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

16 laboratoire(s) agréé(s) pour les analyses de bactériologie et PCR

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

3 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

Français : fournisseurs de kits PCR

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)

(**) Au sens de la norme 17043

Evolution du réseau dans le temps

Réseau stable

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

Evaluation complémentaire des résultats de l'EILA organisé par le LNR avec le S-score défini sur la base d'un modèle logit prenant en compte le niveau de compétence des laboratoires et le niveau de difficulté des échantillons du panel. Cette méthodologie « Assessment of laboratory performance with S-score for binary data in qualitative PT » vient d'être publiée (Baudry C. *et al*, *Accreditation and Quality Assurance*, <https://doi.org/10.1007/s00769-023-01561-y>). L'analyse des résultats est réalisée à l'aide d'une application Anses « QualiScore.xlam », une macro complémentaire d'Excel, validée sous Excel (2016).

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

2 session(s) de formation

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

- Stages agrément tuberculose - bactériologie (NF U47 104) et PCR
- Durée de chaque session: 3 jours
- Nombre de participants: 8/session

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

Dans ce cadre

Pilotage ; Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de première intention ; 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
Mbovis-WGS	Séquençage complet de génomes de souches de <i>M. bovis</i> françaises	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)

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Pas à l'heure actuelle

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Echanges techniques

Transfert de matériel biologique

Oui

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

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 au Workshop 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 de besoin particulier du LNR concernant la participation à ces formations.

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Questions sur la production d'interféron gamma chez les chèvres (sensibilité de la méthode vis-à-vis de celle chez les bovins)

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

Publication de deux articles en collaboration avec le LRUE (doi: 10.1038/s41598-023-30147-4. et doi: 10.1186/s13567-023-01187-5)

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 2023 dans le cadre du mandat de LNR Tuberculose (y compris pour le contrôle officiel des réactifs destinés aux analyses notamment des tuberculines)

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

Publications destinées aux professionnels ou au grand public

Forfait, C., M. L. Boschioli, S. Carles, P. Chaigneau, B. Dufour, C. Dupuy, B. Durand, K. Gache, F. Garapin, J. Jachacz, N. Keck, M. Moussu, S. Philizot, A. Pieus, T. Rambaud, JF. Ravise, E. Réveillaud, C. Richomme, J. Rivière, F. Chevalier et S. Desvaux. 2022. "Surveillance de la tuberculose due à *Mycobacterium bovis* en France métropolitaine pour la campagne 2019-2020 : résultats et indicateurs de fonctionnement." Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 97 (Special MRE).

Publications scientifiques nationales et internationales

Appegren, A., M. L. Boschioli, K. De Cruz, L. Michelet, G. Hery-Arnaud, M. Kempf, P. Lanotte, P. Bemer, O. Peuchant, M. Pestel-Caron, S. Skalli, L. Brasme, C. Martin, C. Enault, A. Carricajo, H. Guet-Revillet, M. Ponsoda, V. Jacomo, A. Bourgoïn, S. Trombert-Paolantoni, C. Carriere, C. Dupont, G. Conquet, L. Galal, A. L. Banuls et S. Godreuil. 2023. "Genetic Diversity and Population Structure of *Mycobacterium bovis* at the Human-Animal-Ecosystem Interface in France: "A One Health Approach"." Pathogens 12 (4). <https://doi.org/10.3390/pathogens12040548>.

Boschioli, M. L. 2023. "Animal tuberculosis control in a disease-free country, France: does the long and winding road really lead to eradication?" Ir Vet J 76 (Suppl 1): 25. <https://doi.org/10.1186/s13620-023-00258-5>.

Bouchez-Zacria, M., S. Ruelle, C. Richomme, S. Lesellier, A. Payne, M. L. Boschioli, A. Courcoul et B. Durand. 2023. "Analysis of a multi-type resurgence of *Mycobacterium bovis* in cattle and badgers in Southwest France, 2007-2019." Vet Res 54 (1): 41. <https://doi.org/10.1186/s13567-023-01168-8>.

Charles, C., C. Conde, F. Vorimore, T. Cochard, L. Michelet, M. L. Boschioli et F. Biet. 2023. "Features of *Mycobacterium bovis* Complete Genomes Belonging to 5 Different Lineages." Microorganisms 11 (1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010177>.

Fernandez-Veiga, L., M. Fuertes, M. V. Geijo, B. Perez de Val, E. Vidal, L. Michelet, M. L. Boschioli, A. Gomez-Buendia, J. Bezos, G. J. Jones, M. Vordermeier, R. A. Juste, J. M. Garrido et I. A. Sevilla. 2023. "Differences in skin test reactions to official and defined antigens in guinea pigs exposed to non-tuberculous and tuberculous bacteria." Sci Rep 13 (1): 2936. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30147-4>.

Gomez-Buendia, A., B. Romero, J. Bezos, J. L. Saez, I. Archetti, M. L. Pacciarini, M. L. Boschioli, S. Girard, E. Gutu, F. Barbuceanu, O. Karaoulani, A. Stournara, L. de Juan et J. Alvarez. 2023. "Evaluation of the performance of the IFN-gamma release assay in bovine tuberculosis free herds from five European countries." Vet Res 54 (1): 55. <https://doi.org/10.1186/s13567-023-01187-5>.

Michelet, L., J. Tambosco, F. Biet, P. Fach, S. Delannoy et M. L. Boschioli. 2023. "Deciphering the evolution of the temporal and geographic distribution of French *Mycobacterium bovis* genotypes

using a high throughput SNP-targeted amplicon sequencing method." *Infect Genet Evol* 114: 105497. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2023.105497>.

Communications internationales

Boschioli, M. L., N. Keck, E. Gueneau et J-L. Moyen. 2023. "The history of a successful diagnostic tool for bovine tuberculosis detection and control in France: the IFN- γ test." International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (ISWALVD 2023), Lyon, France, 29 June-1 July 2023.

Michelet, L., L. Canini, B. Durand et M. L. Boschioli. 2023. "Contribution of whole genome sequencing of *Mycobacterium bovis* strains for epidemiological monitoring and surveillance of bovine tuberculosis in France." International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (ISWALVD 2023), Lyon, France, 29 June-1 July 2023.

Autres

Michelet, L. 2023. "Approches moléculaires au service de la compréhension de l'évolution des pathogènes : du ténia aux mycobactéries." Habilitation à diriger des recherches HDR, Université Paris-Est.