

Note de synthèse sur les rapports d'activités 2021 des mandats de LNR portés par l'Anses

En application du code rural et de la pêche maritime et du code de la santé publique, l'Anses porte un ensemble de mandats de laboratoire national de référence (LNR) dans les domaines de la santé animale (SA), la santé des végétaux (SV), la sécurité sanitaire des aliments (SSA) y compris des eaux destinées à la consommation humaine, et désormais la sécurité de l'environnement avec un mandat relatif aux matières eaux usées et boues de stations d'épuration. Ces activités de référence sont mises en œuvre dans le cadre des unités spécialisées des laboratoires de l'Agence.

En 2021, l'Agence portait 66 mandats de LNR. En particulier elle portait 63 des 92 LNR désignés par arrêté du ministre chargé de l'agriculture en date du 29/12/2009 (dernière modification le 6 novembre 2020), dont 36/41 en SA, 15/33 en SSA et 12/18 en SV. L'Anses porte aussi 2 des 3 mandats de LNR qui relèvent du domaine du ministère de la santé : paramètres microbiologiques d'une part et paramètres chimiques d'autre part des eaux destinées à la consommation humaine, des eaux de piscines et eaux de baignades. Au deuxième semestre 2021, l'Anses a été par ailleurs désignée LNR sur la thématique « surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de station d'épuration » par la Direction Générale de la Santé et la Direction de l'Eau et de la Biodiversité. Ce mandat s'inscrit dans la mise en place d'un nouveau réseau de laboratoires en charge d'effectuer la surveillance de ce virus dans les eaux usées, nommé SUM'EAU (surveillance microbiologique des eaux usées) auquel participent l'Anses et Santé publique France. La désignation du LNR et la mise en place du réseau répondent aux préconisations de la Recommandation (UE) 2021/472 de la Commission du 17 mars 2021 qui vise à ce que chaque État membre se dote d'un système de surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées, de manière à compléter les outils déjà disponibles, notamment dans un contexte de faible circulation virale, et détecter préocurement les (ré) émergences du virus dans la population.

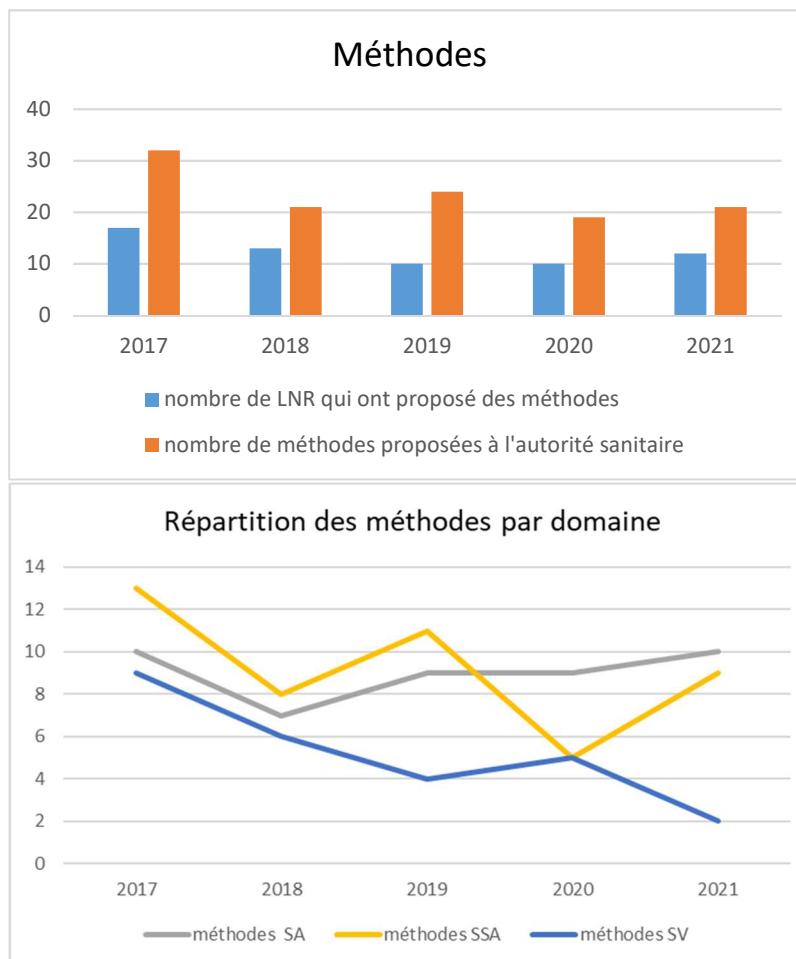
Les missions des LNR visent à assurer la fiabilité des analyses officielles réalisées pour le compte des autorités sanitaires dans ces différents domaines, à travers, notamment, lorsque cela est applicable :

- le développement, l'optimisation et la validation des méthodes d'analyse destinées à être utilisées dans ce cadre ;
- l'animation technique du réseau des laboratoires agréés ou le cas échéant reconnus par l'Etat, y compris la vérification de l'aptitude de ces laboratoires à travers notamment l'organisation d'essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) ;
- le contrôle de réactifs de diagnostic commerciaux, ainsi que la production et la fourniture de réactifs et matériaux de référence ;
- la réalisation d'analyses officielles, notamment la confirmation de résultats d'analyses réalisées par des laboratoires agréés ;
- les réponses aux demandes d'appui scientifique et technique (AST) issues des ministères ;
- la contribution à la veille et l'épidémirosurveillance.

Le fait marquant de l'année 2021 est l'élaboration par les LNR de l'Agence, en concertation avec la DGAI, d'une approche visant à rationaliser la fréquence des EILA au regard de la maturité des réseaux pour les méthodes d'analyse concernées.

Développement, optimisation et validation des méthodes d'analyse proposées à l'autorité sanitaire

Le renforcement des capacités d'analyse sur toute la chaîne alimentaire, y compris en SA et SV, est un enjeu majeur et l'une des missions premières des laboratoires de référence de l'Anses. Dans ce cadre, nos LNR sont amenés à développer, valider, soumettre à consultation de la communauté des laboratoires, puis publier sur le site de l'Anses, des méthodes d'analyse avant de les proposer à l'autorité sanitaire pour officialisation.



Ainsi, en 2021, 21 méthodes ont été développées ou révisées et proposées à l'autorité sanitaire par 12 de nos LNR. Ces nombres se stabilisent depuis 2018 avec chaque année une vingtaine de méthodes développées ou révisées et proposées à l'officialisation, ceci par une dizaine de LNR.

Le nombre de méthodes développées ou révisées et proposées à l'autorité sanitaire diminue en SV après une stabilisation en 2020, augmente en SSA pour revenir à une valeur moyenne et reste stable en SA.

Au total, parmi les méthodes proposées à l'autorité sanitaire cette année ou les années précédentes, 14 méthodes ont été transférées par 9 LNR à leurs réseaux de laboratoires en 2021. Cinq d'entre elles ont fait l'objet d'un essai interlaboratoires de transfert (EILT).

On peut noter à titre illustratif quelques méthodes développées et/ou proposées à l'officialisation en 2021 :

- En SSA, suite au développement d'une extension pour le lait de la méthode analytique pour le contrôle par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem (CL-SM/SM) des résidus de 70 antibiotiques dans les viandes et produits d'aquaculture, le LNR « résidus de médicaments vétérinaires » a validé la méthode dans le lait pour le dépistage de 73 antibiotiques. La nouvelle méthode est officialisée et, en

accord avec les bureaux de la DGAI, son application sera effective pour les plans de contrôle 2022. Cette méthode sera mise en œuvre dans le cadre d'un nouveau plan de dépistage et de contrôle Antibiotiques-Lait qui aura vocation à remplacer progressivement au cours des 3 à 4 années à venir le plan de contrôle appliqué sur 1200 prélèvements de lait par an et réalisé jusqu'à présent exclusivement au moyen d'une méthode biologique commerciale basée sur un test en ampoule utilisant des souches de *Bacillus stearothermophilus* var *calidolactis*. Le LNR « résidus de médicaments vétérinaires » est en charge de valider, diffuser puis contrôler la bonne mise en œuvre de 19 méthodes analytiques disséminées au global sur une trentaine de Laboratoires Départementaux d'Analyse (LDA) agréés tant sur leurs analyses chimiques (1er réseau) que sur leurs analyses microbiologiques (2e réseau) pour la réalisation de 80 plans de contrôle officiel sur un ensemble de 11 catégories d'espèces animales (bovins, porcins, ovins, caprins, équins, volailles, lapins, gibiers, poissons d'élevage) ainsi que leurs produits (lait, œufs, miel) et totalisant chaque année plus de 30 000 échantillons collectés par les services d'inspection déconcentrés de l'Etat.

- En SV, le LNR « Bactéries sur bananier, agrumes et plantes tropicales » a validé et publié une nouvelle méthode de détection de '*Candidatus Liberibacter spp.*', responsable de la maladie du Huanglongbing (HLB), par la technique PCR en temps réel, sur nervures et pétioles de plantes hôtes de la famille des Rutaceae. Cette méthode permet un gain de sensibilité analytique, de temps d'analyse et de coûts par rapport à la méthode mise en œuvre jusqu'à présent pour les analyses officielles, qui était basée sur la technique de PCR conventionnelle. La maladie du Huanglongbing, causée majoritairement par la bactérie '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', demeure la contrainte majeure pour la filière agrumes aux Antilles et à la Réunion, avec de fortes répercussions sur la production, des replantations limitées, et des cas de HLB en pépinière aux Antilles. A La Réunion, le plan de surveillance coordonné par la DAAF s'est poursuivi avec pour objectif de cartographier la maladie et de confirmer les zones indemnes ou à moindre prévalence de la maladie, destinées aux nouvelles plantations. Aux Antilles, la situation est inchangée avec une prévalence assez homogène de la maladie, et une tendance à la reprise des plantations. En Guyane, une suspicion d'émergence a conduit à une surveillance renforcée du HLB sur le territoire, depuis le second semestre 2021. Enfin, en Polynésie française, un programme de relance de production d'agrumes a conduit à des demandes d'analyses notamment pour la détection du HLB, visant à assurer le caractère indemne des plantes-mères.
- En SA, Le LNR « Rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) » a développé un test ELISA basé sur plusieurs antigènes recombinants (glycoprotéines virales gD et gE) dérivés de différents alphaherpèsvirus (BoHV-1 et 2) pour utilisation en diagnostic de confirmation. Le programme français d'éradication de l'IBR, fixé par l'arrêté ministériel du 31 mai 2016, a été reconnu par la Commission européenne en novembre 2020 (Décision d'exécution (UE) 2020/1663 du 6 novembre 2020). La mise en cohérence du programme français avec la Loi de Santé Animale renforce les conditions d'octroi et de maintien du statut indemne d'IBR. Notamment, la découverte de nouveaux cas de positivité gE au sein de cheptels qualifiés entraîne une perte systématique de statut, indépendamment du nombre de bovins positifs. La vitesse de propagation de l'IBR au sein d'un cheptel est très variable. Elle peut être fulgurante avec un grand nombre de bovins positifs, ou à l'inverse limitée à un seul animal, en raison de phases de latence virale au cours desquelles le virus n'est pas exprimé. Si l'existence de plusieurs bovins positifs plaide incontestablement en faveur d'une circulation virale, la présence de positifs isolés peut être évocatrice de réactions non spécifiques. Face aux lourdes conséquences induites par la découverte de nouveaux positifs, et afin de prévenir d'éventuelles déqualifications à tort, le gestionnaire du programme IBR (GDS France) a sollicité le LNR pour le développement d'un nouvel outil de confirmation. Cet outil est proposé aux GDS depuis janvier 2022 pour la confirmation des positifs isolés.

Animation de réseaux

Caractéristiques des réseaux de laboratoires agréés ou reconnus

La taille des réseaux de laboratoires agréés ou reconnus animés par les LNR de l'Anses est très variable en fonction de l'agent pathogène ou du contaminant concerné.

En 2021, ont été répertoriés 7 réseaux de moins de 5 laboratoires agréés, 16 réseaux de 5 à 9 laboratoires, 7 réseaux de 10 à 19 laboratoires et 17 réseaux de plus de 20 laboratoires.

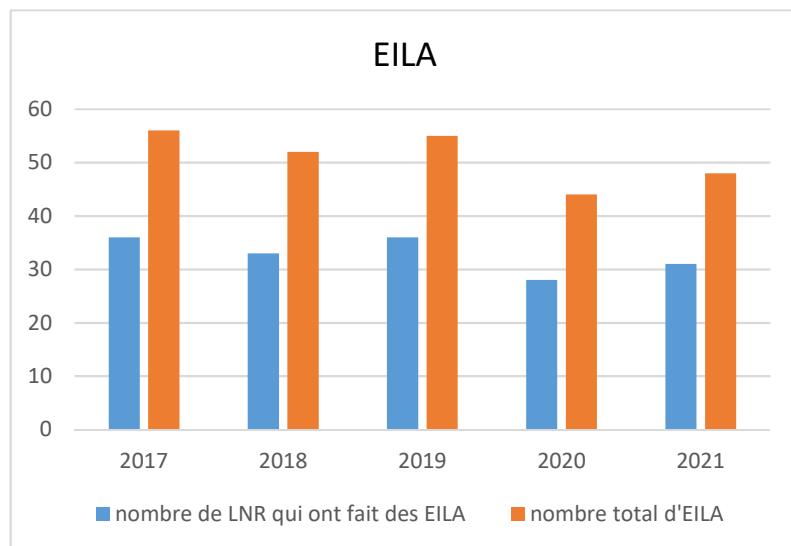
Le nombre de réseaux de moins de 10 laboratoires augmente légèrement (21 en 2020, 22 en 2019, 23 en 2018), le nombre de réseaux de 10 à 19 laboratoires diminue légèrement (8 en 2020, 7 en 2019, 5 en 2018), et le nombre de réseaux de plus de 20 laboratoires reste stable (17 en 2020, 17 en 2019, 19 en 2018). Le plus grand réseau animé par l'Anses réunit 125 laboratoires (130 en 2020 et 2019, 136 en 2018).

Le nombre de LNR qui animent un réseau passe de 46 en 2020 à 47 en 2021 suite au déploiement par le ministère chargé de l'agriculture d'un réseau de surveillance des vecteurs potentiels dans les régions contaminées par *Xylella fastidiosa* : 6 laboratoires agréés ont été formés au tri de certains insectes vecteurs potentiels de la bactérie, selon la méthode du LNR. Dix-sept LNR n'animent aucun réseau de laboratoires. Ce nombre reste inchangé par rapport aux années précédentes.

Quatre LNR ont assuré en 2021 une mission d'animation de réseaux de laboratoires reconnus par l'Etat pour les analyses d'autocontrôle des acteurs de la chaîne alimentaire. Ces réseaux sont constitués de 11 à 20 laboratoires.

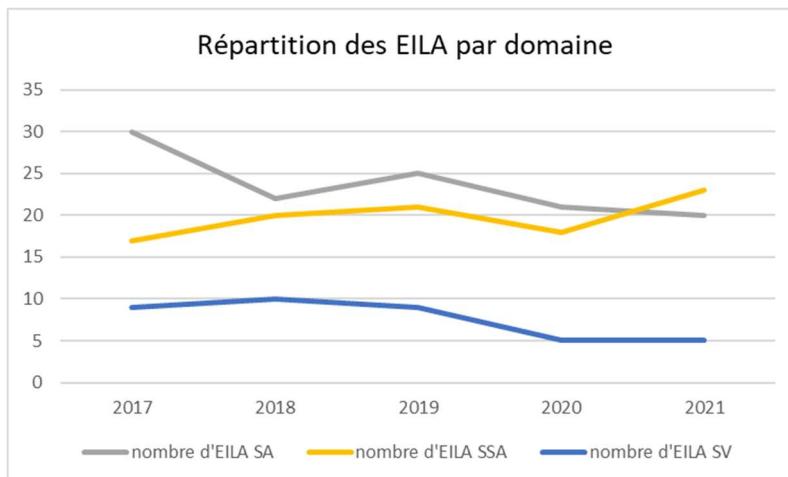
Essais inter-laboratoires d'aptitude

Pour s'assurer de la bonne maîtrise des différentes méthodes d'analyse utilisées par les laboratoires agréés ou reconnus, les LNR organisent notamment des EILA. Il s'agit de faire parvenir à tous les laboratoires agréés ou reconnus un panel d'échantillons préparés par le LNR pour analyse, permettant de détecter d'éventuels écarts de résultats entre le LNR et les laboratoires du réseau.



Le nombre d'EILA organisés en 2021 est en augmentation par rapport à 2020. Cette augmentation s'explique par le report en 2021 de 6 EILA initialement programmés en milieu ou fin d'année 2020 et qui ont été décalés, en concertation avec la DGAI, du fait de la crise sanitaire Covid-19. La tendance est toutefois globalement à la baisse par rapport aux années précédentes, au regard de la maturité des réseaux concernés.

Le nombre de LNR organisateurs d'EILA varie de même d'une année sur l'autre, en fonction de la maturité des réseaux, des évolutions de méthodes, des crises sanitaires, ce qui explique les variations annuelles constatées à nombre de mandats stable (le nouveau LNR surveillance SARS-Cov-2 n'ayant pas réalisé d'EILA en 2021).



Le nombre d'EILA est stable en SA et en SV par rapport à 2020 et interrompt la diminution constatée depuis 2017 dans ces deux domaines. En SSA l'augmentation du nombre d'EILA par rapport à 2020 est légèrement plus importante que la diminution constatée en 2020 par rapport à 2019. En SSA le nombre d'EILA est en augmentation depuis 2017.

Les EILA organisés par nos LNR sont tous réalisés dans le respect des exigences de la norme NF EN ISO 17043. Le nombre d'EILA réalisés sous accréditation selon cette norme a augmenté régulièrement : 12 en 2017, 13 en 2018, 19 en 2019 mais a chuté en 2020 et 2021, avec respectivement 9 et 11 EILA réalisés sous accréditation. Cette diminution s'explique non pas par l'arrêt d'accréditations mais par la temporalité des EILA et en particulier ceux sous accréditation, à savoir d'une part la périodicité de certains EILA sous accréditation (une année sur deux ou une année sur trois), et d'autre part la diminution du nombre total d'EILA réalisés, qui est en baisse par rapport aux années précédentes.

Les 48 EILA réalisés en 2021, ouverts aussi à des laboratoires non agréés/reconnus pour un grand nombre d'entre eux, ont concerné de 3 à 75 participants (tous types de laboratoires confondus : agréés/reconnus, non agréés/reconnus, français, étrangers), soit un total de 1200 participations. En fonction des EILA, jusqu'à 65 laboratoires agréés ont participé, soit un total de 911 participations de laboratoires agréés, un même laboratoire agréé pouvant participer à plus d'une vingtaine d'EILA organisés par l'Anses.

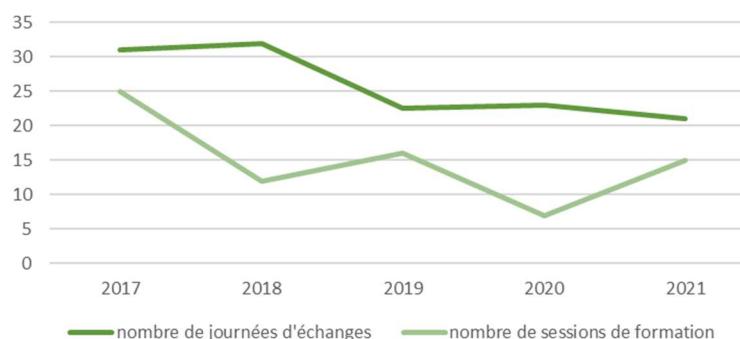
A noter cette année l'organisation par le LNR « Tuberculose » d'un EILA pour 12 laboratoires en demande d'agrément en vue de la constitution d'un réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic de la tuberculose chez des suidés par sérologie, dans le cadre du programme national de surveillance de la tuberculose dans la faune sauvage, Sylvatub, et de l'arrêté du 7 décembre 2016 relatif à certaines mesures de surveillance et de lutte contre la tuberculose, lors de la mise en évidence de cette maladie dans la faune sauvage. Cette méthode de diagnostic indirect a par ailleurs permis d'identifier le premier foyer de tuberculose chez des sangliers d'un élevage dans une zone d'enzootie de tuberculose bovine, ce qui confirme la grande utilité de l'outil pour une détection efficace des contextes de circulation de la maladie, méconnus jusqu'à présent.

En 2021, 4 LNR de l'agence ont exploité les résultats de 5 EILA organisés par des tiers pour évaluer les performances des laboratoires de leur réseau (4 LNR en 2020 pour 6 EILA). Les 4 LNR ont participé à l'EILA avec les laboratoires agréés du réseau.

Journées d'échanges et formations

Les journées d'échanges et de restitution sont des moments de partage privilégiés avec les laboratoires agréés ou reconnus des réseaux, afin, notamment, de faire le bilan des EILA organisés dans l'année et de présenter les travaux de développement/validation de méthodes en cours.

Journées d'échanges et formation

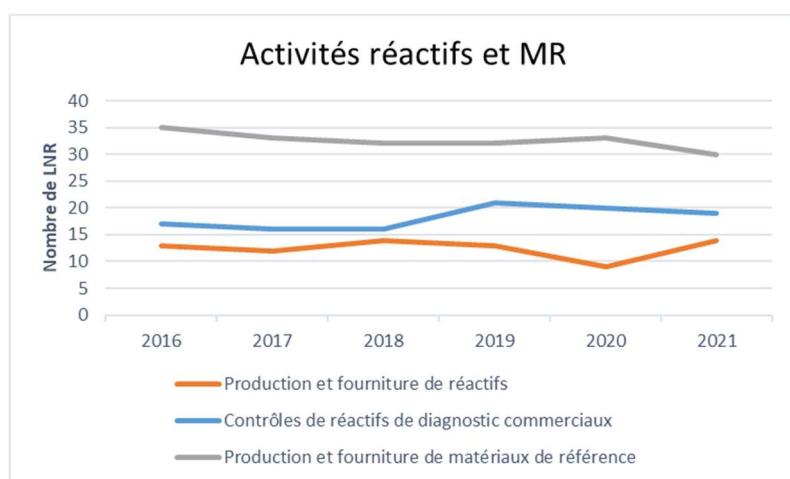


Stratégie et des Programmes (DSP) et les LNR concernés, en collaboration avec l'Association des Directeurs et Cadres de Laboratoires Vétérinaires publics d'Analyses (ADILVA) et avec la contribution de la DGAI, a permis d'échanger sur des sujets d'actualité nationale et européenne en santé animale (nouvelle loi européenne sur la santé animale notamment) et sur les chantiers transversaux en cours à l'Agence en matière de référence (réactifs diagnostiques, EILA, normalisation européenne...).

Par ailleurs, 15 sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels ont été organisées en 2021 par les LNR de l'Anses. Ce nombre est en baisse régulière, laquelle s'explique notamment par le gain en maturité d'un grand nombre des réseaux que l'Anses anime. Toutefois, en 2021, le nombre de formations est revenu au niveau de 2019, après la diminution importante en 2020 consécutive à l'impossibilité de réaliser la partie pratique des formations en présentiel pendant la pandémie de Covid-19.

Contrôle de réactifs de diagnostic commerciaux, production et fourniture de réactifs et matériaux de référence (MR)

Certains LNR réalisent par ailleurs des contrôles de réactifs de diagnostic commerciaux, produisent et fournissent des réactifs, ou produisent et fournissent des matériaux de référence à usage de leurs réseaux de laboratoires agréés.



et fournissant des matériaux de référence enregistre, quant à lui, une diminution lente mais continue.

En 2021, 21 journées d'échanges ont été organisées par les LNR de l'Anses. Après une forte diminution, ce nombre s'est stabilisé depuis 2019, malgré la pandémie de Covid-19, les réunions pouvant se tenir en ligne. A noter la tenue le 27 mai 2021 d'une journée nationale d'échanges des 36 LNR en SA avec leurs réseaux respectifs de laboratoires. Cette journée, co-organisée par la Direction de la

Le nombre de LNR réalisant des contrôles de kits commerciaux, principalement en SA, s'est stabilisé ces deux dernières années après la forte hausse de 2019.

Le nombre de LNR produisant et fournissant des réactifs, qui avait diminué en 2020, sans doute suite aux confinements consécutifs à la pandémie de Covid-19, est revenu à son niveau d'avant 2020, stable depuis 2016.

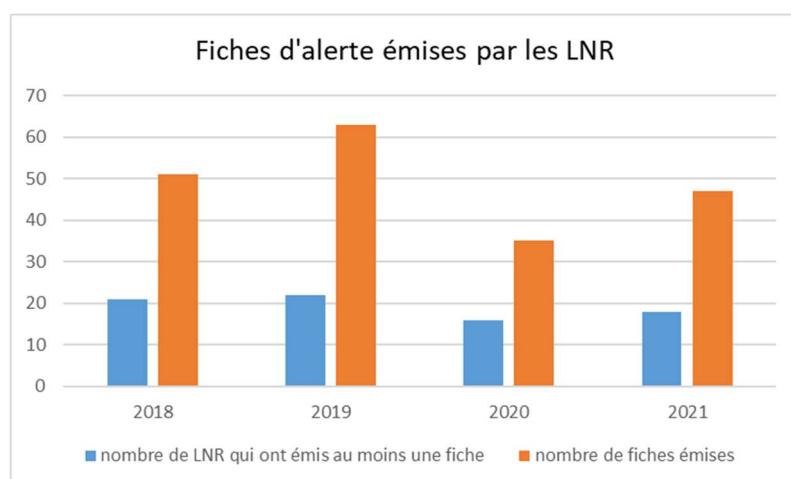
Le nombre de LNR produisant

Appui scientifique et technique

Les LNR apportent aussi, en tant que de besoin, un appui scientifique et technique aux tutelles, conformément à leurs missions définies réglementairement. En 2021, 15 rapports d'AST ont été rendus par 9 LNR (24 et 17 rapports rendus par 12 et 11 LNR, respectivement en 2020 et 2019) en réponse aux demandes de l'année ou de l'année précédente (20, 28, et 29 demandes adressées à 11, 15 et 13 LNR en 2021, 2020 et 2019).

Contribution à la veille et l'épidémosurveillance

Les LNR contribuent par ailleurs à la surveillance épidémiologique et à la veille des dangers sanitaires dont ils ont la charge, le cas échéant dans le cadre de réseaux de surveillance ou des plateformes nationales d'épidémosurveillance.



En 2021, 47 fiches d'alerte ou de signal ont été émises par 18 de nos LNR via Salsa, le système d'alertes sanitaires de l'Anses mis en place en 2017.

Relations avec les CNR

En 2021, le nombre de LNR de l'Agence dont le mandat recouvre au moins en partie celui d'un CNR est porté à 22 avec la désignation du LNR SARS-CoV-2. Dix d'entre eux ont rencontré le CNR dont le mandat porte sur le même danger sanitaire, en totalité ou partiellement (8 en 2020 et 9 en 2019). Dix des 22 LNR collaborent avec un CNR dans le cadre de la surveillance du danger sanitaire concerné et 13 LNR collaborent dans le cadre de projets de recherche (respectivement 11, 8, 13 et 11, 10, 11 LNR en 2020, 2019, 2018).

Conclusion

Pendant l'année 2021 les LNR de l'Anses ont continué d'assurer leurs missions de référence en développant et validant les méthodes *ad hoc* et en garantissant la qualité des analyses des laboratoires agréés et reconnus, tout en fournissant un appui, parfois dans l'urgence, dans la gestion d'incidents et crises sanitaires qui ont pu survenir ou perdurer dans l'année, dans un contexte encore difficile engendré par l'épidémie de Covid-19.

On soulignera par ailleurs la mise en place du LNR « surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de station d'épuration », dont les missions sont en premier lieu d'assurer la fiabilité des données issues de la surveillance en harmonisant les méthodes utilisées, depuis l'échantillonnage jusqu'à l'analyse et à la standardisation des données. Ces travaux s'appuient notamment sur des travaux normatifs menés au sein de l'Afnor et dans

lesquels le LNR est impliqué. La mise en place en 2022 d'une étude pilote nationale fondée sur l'analyse simultanée du SARS-COV-2 dans les eaux de 12 stations d'épuration pendant 11 semaines consécutives devrait permettre à terme de définir une stratégie analytique à utiliser par les laboratoires. Le LNR accompagnera les laboratoires en charge des analyses en leur recommandant des bonnes pratiques et évaluera leur capacité à mettre en œuvre de façon satisfaisante les méthodes de détection par l'organisation d'EILA. Le LNR sera également impliqué dans l'élaboration des plans de surveillance élaborés par Santé publique France ainsi que dans la mise en place de nouveaux indicateurs du suivi de la circulation du SARS CoV-2 dans cette matrice complexe. La caractérisation de variants émergents via l'emploi de nouveaux outils de séquençage sera également un thème sur lequel le LNR travaillera en collaboration avec des acteurs du domaine de la recherche.

Les travaux visant l'amélioration de l'efficience des activités de l'Anses en matière de référence, déjà largement engagés depuis plusieurs années sur l'organisation d'EILA et la validation et transfert de méthodes notamment, ont été poursuivis pendant l'année 2021, notamment par la révision du guide méthodologique et statistique pour l'organisation des EILA. Ils se poursuivront en 2022, en particulier par la publication de ce guide révisé et pour le contrôle des réactifs de diagnostic, à travers la finalisation de documents guides par le groupe de travail interne mis en place à cet effet.