



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Diarrhée virale bovine (BVD)

Nom du responsable du LNR

GUY KOUOKAM

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort -- site de Niort

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

Unité Pathologie et Bien-être des Ruminants

Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

Sans objet

Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

sans objet

Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat

Diarrhée virale bovine (Danger sanitaire de catégorie 2)

Le règlement UE 2016/149 « loi santé animale » est entré en application le 21/04/2021 les modifications relatives à la catégorisation de ce(s) danger(s) sanitaire(s) seront prises en compte dans le RALNR 2023 pour les activités 2022

Les faits marquants de l'année

L'année 2021 a été marquée par quatre faits marquants :

- Obtention de l'accréditation COFRAC pour la réalisation des analyses virologiques (PCR et ELISA antigène) BVD sur matrices biopsie auriculaire et matrice sérum et analyse sérologique BVD (extension d'accréditation pour la technique ELISA anticorps matrice sérum). Les méthodes concernées par ces accréditations font référence à des protocoles de kits commerciaux de diagnostic BVD.
- Organisation de deux Essais interlaboratoires d'aptitude portant sur la matrice biopsie auriculaire (ELISA antigène E0 sur matrice biopsie auriculaire, PCR sur matrice biopsie auriculaire)
- Etude portant sur la résolution des défauts de spécificité des kits de diagnostic sérologiques BVD (kit ELISA anticorps matrice sérum , kit ELISA anticorps matrice lait)
- Etude de la faisabilité des analyses virologiques BVD (PCR et ELISA antigène) sur matrice biopsie auriculaire incubée en tampon de prélèvement/conservation ALLFLEX

Abréviations

EILA : essais interlaboratoires d'aptitude

COFRAC : comité français d'accréditation

PCR : polymérase chain reaction (pour réaction de polymérisation en chaîne)

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

LDA : laboratoire départemental d'analyse

1. Méthodes développées ou révisées

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

0 méthode(s)

Informations complémentaires

Etude portant sur la résolution des défauts de spécificité des kits de diagnostic sérologiques BVD : les analyses sérologiques ont une grande importance dans le cadre du plan BVD. Elles permettent de détecter une circulation virale au sein des cheptels bovins, laquelle peut être confirmée par des analyses virologiques complémentaires dont le but est d'identifier et d'éliminer les animaux infectés permanent immunotolérants. Les tests ELISA anticorps BVD se font sur sérums individuels, sur mélanges de sérums et sur laits de mélanges. Suite au déploiement sur le terrain des kits ELISA anticorps BVD contrôlés par le LNR, des défauts de spécificité ont été observés au cours des campagnes de prophylaxie 2019-2020 et 2020-2021. Ainsi plusieurs cheptels connus historiquement négatifs ont été qualifiés positifs à tort, entraînant ainsi la mise en place de dépistages virologiques coûteux. Cette situation a été à l'origine d'une crise de confiance des éleveurs vis-à-vis des gestionnaires (GDS) et des laboratoires. L'enquête sérologie BVD menée par le LNR-BVD a eu pour but d'identifier les raisons expliquant le défaut de spécificité des outils sérologiques et a mobilisé plus d'une vingtaine de binômes GDS/laboratoires. A l'issue de l'étude des recommandations ont été émises en direction des GDS et des laboratoires pour une meilleure interprétation des résultats d'analyse sérologiques.

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 (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

73 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Analyses de génotypage de souches de virus BVDV : 8 (relativement stable par rapport à 2021)

Analyse ELISA matrice lait : 20

Analyses ELISA matrice sérum : 40

Analyse PCR : 5

Les tests PCR et ELISA ont été effectués par le LNR en complément d'analyses effectuées en première intention par les laboratoires départementaux d'analyse lorsque des questions se posaient suite à l'utilisation de certains outils de diagnostic. Les échantillons concernés dans la plupart des cas étaient nouvellement prélevés. Les analyses ont permis de resituer les résultats dans leur contexte épidémiologique et de conforter ou d'infirmier, dans certains cas, des résultats précédents.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

144 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Analyses ELISA matrice lait : 141 (en augmentation)

Analyse CR : 3 (stable)

3.3 Autres analyses

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

7784 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

L'essentiel (plus de 80%) des analyses concerne des échantillons de laits individuels, des laits de tank issus du terrain ainsi que des échantillons de laits de mélange reconstitués au sein du laboratoire. Des analyses de sérums individuels issus du terrain et de mélange de sérums ont également été réalisées. Ces analyses ont été réalisées dans le cadre des EILA, de la caractérisation de l'échantillonnage de référence, de l'enquête sérologie BVD ainsi que dans le cadre d'une étude de faisabilité d'analyses virologiques BVD sur matrice biopsie auriculaire humidifiée par tampon ALLFLEX.

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

Le LNR-BVD a participé à 3 EILA organisés par le laboratoire SCIENSANO au cours de l'année 2019 :

-ELISA antigène, matrice biopsie auriculaire

-ELISA anticorps, matrice sérum

-PCR matrice biopsie auriculaire

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

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)

Matériaux NED (niveau exigible de détection) :

- ELISA anticorps BVD sur matrice sérum (SERAC BVD)

- ELISA anticorps BVD sur matrice lait (LASAC BVD)

- PCR BVD et ELISA antigène sur matrice sérum (SVir BVD)

- PCR BVD et ELISA antigène sur matrice biopsie auriculaire (Biopsie NED)

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

Sérums, biopsies auriculaires, lait issus de bovins

Nombre de lots produits dans l'année

- NED ELISA anticorps BVD sur matrice sérum (SERAC BVD) : 1 lot produit dans l'année
- NED PCR BVD et ELISA antigène sur matrice sérum (SVir BVD) : 1 lot produit dans l'année

Nombre d'unités distribuées au plan national

- ELISA anticorps BVD sur matrice sérum (SERAC BVD) : 56
- ELISA anticorps BVD sur matrice lait (LASAC BVD) : 20
- PCR BVD et ELISA antigène sur matrice sérum (SVir BVD) : 53
- PCR BVD et ELISA antigène sur matrice biopsie auriculaire (Biopsie NED) : 70

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

La demande en matériau de référence est en augmentation depuis 5 ans

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

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

A ce jour les kits ELISA et kit PCR BVD font l'objet uniquement d'un contrôle initial. Il n'existe pas de contrôle lot par lot. Ce type de contrôle est prévu à partir de l'année 2022.

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

Le bilan des contrôles de kits initiaux sur l'année 2021 est le suivant :

- Deux kits pour l'ELISA anticorps matrice lait
- Deux kits pour la PCR sur matrice biopsie auriculaire

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Le nombre de contrôles initiaux de kits a connu un pic au cours des années 2019 et 2020 en raison du lancement du plan national BVD et du souci d'harmonisation des outils de diagnostic. Ce nombre est en forte diminution sur l'année 2021. Le laboratoire sera fortement sollicité à partir de l'année 2022 pour des contrôles de lots de kits ELISA anticorps BVD.

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé, etc...) 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...).

Le LNR-BVD, via son responsable adjoint a contribué à la révision de la norme NF U47-027 (Méthodes d'analyse en santé animale - Recherche d'anticorps contre la maladie des muqueuses par la technique de neutralisation virale et immunochimie sur culture cellulaire (IF ou IP)).

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 ou de conseil aux autorités ou aux professionnels

Le LNR-BVD répond régulièrement à des demandes d'expertise de la fédération nationale des groupements de défense sanitaire. Une de ces demandes a entraîné la mise en place d'une étude sur les défauts de spécificité des kits ELISA anticorps BVD en 2021 qui a mobilisé environ 10 à 15 % du temps consacré aux différentes activités du LNR-BVD

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Non

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Oui

Nom du réseau et/ou description de l'activité du réseau

Laboratoire reconnu compétent pour les analyses BVD (liste non officielle pour l'instant)

Nombre de laboratoires reconnus dans le réseau

90 laboratoires

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

2 EILA

Dans la série de questions qui suit il faut comprendre laboratoire « reconnu compétent » et non pas « agréé »

Nom de l'EILA

EILA PCR Biopsie auriculaire

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

Non

Nombre de laboratoires participants

53 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

53 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 laboratoire(s) 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**

2 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

2 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés) de cet EILA

Laboratoire 1 : erreur opérateur et/ ou contamination croisée

Laboratoire 2 : erreur du laboratoire suite à un problème d'interprétation des valeurs de Ct d'échantillon inhibé sur méthode d'extraction d'ARN par lyse rapide

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

Pour les deux laboratoires concernés la vérification des causes a été faite dans un premier temps via une discussion portant sur les différentes étapes du processus analytique puis par reprise d'analyses sur les extraits d'ARN issus d'échantillons du panel EILA. Ces extraits ont été ré-analysés soit purs et de façon individuelle (laboratoire 2), soit dilués au 1/10 (laboratoire 1). Dans le cas du laboratoire 1 l'analyse des extraits d'ARN dilués a permis de confirmer un problème d'inhibition non décelé lors de l'analyse des échantillons purs. Le fabricant du réactif utilisé a été contacté pour complément d'information. Dans le cas du laboratoire 2 l'analyses des différents résultats a permis de confirmer un problème de contamination croisé et/ou d'erreur opérateur. En attente d'une meilleure clarification des procédures de détection de phénomène d'inhibition la laboratoire 1 a reçu un nouveau panel EILA à analyser. Le laboratoire 2, après sensibilisation du LNR a mis en place des procédures internes pour limiter les contaminations en PCR et a analysé également un nouveau panel envoyé par le LNR. L'analyse des nouveaux panels par les deux laboratoires a permis de générer des résultats conformes.

Suivi de décisions sur l'agrément pour cet EILA

Notification envoyée à la DGAL. Pas de retour de l'administration à ce jour.

(**) Au sens de la norme 17043

Evolution du réseau dans le temps

Pas d'évolution depuis l'année dernière, stabilité du réseau en termes de performances et de nombre de laboratoires. Le nombre de laboratoires est amené à évoluer en fonction des conditions d'agrément qui seront exigées par le ministère de l'agriculture à l'avenir.

Nom du 2ème EILA

EILA ELISA antigène matrice biopsie auriculaire

Cet EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Non

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

40 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

40 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à cet EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants à cet EILA, en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants à cet EILA

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

1 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

1 laboratoire(s) agréé(s)

(**) Au sens de la norme 17043

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés) de cet EILA

Un seul laboratoire non satisfaisant en raison d'une erreur dans le mode de production et de gestion des résultats. Contamination croisée des échantillons.

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

Identification des causes avec le responsable du laboratoire et mise à disposition d'un nouveau panel par le LNR. Mesures de vérification internes mise en place par le laboratoire pour éviter des problèmes de contamination à l'avenir. L'analyse d'un nouveau panel EILA a permis de générer des résultats conformes et d'attester l'efficacité des mesures correctives mises en place.

Suivi de décisions sur l'agrément pour cet EILA

Notification envoyée à la DGAL. Pas de retour de l'administration à ce jour.

Evolution du réseau de cet EILA dans le temps

Pas d'évolution depuis l'année dernière, stabilité du réseau en termes de performance et de nombre de laboratoires

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

Néant

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

Aucune

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

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
PESTIDOU	Pestivirus, communautés antigéniques et applications en diagnostic sérologique	en cours
ETUDE ALLFLEX	Etude de faisabilité des analyses virologique BVD sur biopsie auriculaire humide	terminé
Séquençage BVDV	Séquençage de souches circulantes du virus BVDV	en cours

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

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

Non

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun