



## Note de synthèse sur les rapports d'activités 2017 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 différents mandats de laboratoire national de référence (LNR) dans les domaines de la santé animale (SA), de la santé végétale (SV) et de la sécurité sanitaire des aliments (SSA) y compris des eaux destinées à la consommation. Ces activités de référence sont mises en œuvre dans le cadre des unités spécialisées des laboratoires de l'agence.

En 2017, ces mandats de LNR étaient au nombre de : 37 en SA, 16 en SSA et 12 en SV, soit un total de 65 mandats.

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 :

- 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 (notamment les laboratoires départementaux) agréés 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 cas échéant, la réalisation d'analyses officielles et notamment la confirmation de résultats d'analyses réalisées par des laboratoires agréés.

Trois LNR se sont vus en outre confier la mission d'animation de réseaux de laboratoires reconnus par l'Etat pour les analyses d'autocontrôle des acteurs de la chaîne alimentaire.

Certains LNR réalisent par ailleurs des contrôles de kits de diagnostic commerciaux (cela a concerné 16 LNR en 2017), produisent et fournissent des réactifs (pour 12 LNR sur l'année), produisent et fournissent des matériaux de référence (pour 33 LNR) à usage de leurs réseaux de laboratoires agréés. A souligner que le nombre de contrôles de kits commerciaux augmente. Ces contrôles sont réalisés par un nombre globalement constant de LNR d'une année sur l'autre : pour mémoire, en 2016, 17 LNR ont contrôlé des kits. En 2015, cela a concerné 15 LNR. En revanche, le nombre de LNR produisant et fournissant des réactifs ou matériaux de référence est en légère diminution : en 2016, 13 LNR ont produit et fourni des réactifs et 35 LNR ont produit et fourni des matériaux de référence. En 2015, cela a concerné respectivement 15 et 36 LNR.

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 des plateformes d'épidémiosurveillance. En 2017, ce ne sont pas moins de 79 fiches d'alerte ou de signal qui ont été émises par 21 de nos LNR.

Les LNR apportent aussi un appui scientifique et technique aux tutelles.

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

Le renforcement des capacités de détection et de contrôle sur toute la chaîne alimentaire ainsi qu'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 puis publier sur le site de l'Anses des méthodes avant de les proposer à l'autorité sanitaire pour officialisation.

Ainsi, en 2017, 32 méthodes ont été développées ou révisées et proposées à l'autorité compétente par 17 de nos LNR, réparties selon les champs comme suit : 13 en SSA, 10 en SA et 9 en SV. Ce nombre est en diminution par rapport à 2016 où 48 méthodes avaient été développées ou révisées et proposées à l'officialisation par 27 LNR (14 en SSA, 13 en SA et 21 en SV) et revient à un niveau similaire à celui de 2015 où 17 LNR de l'Anses avaient proposé 36 méthodes (14 en SSA, 18 en SA et 4 en SV).

On peut noter à titre d'exemples quelques méthodes développées et/ou proposées à l'officialisation en 2017 :

- *En sécurité sanitaire des aliments*

Le LNR pesticides DAOA a été fortement mobilisé dès la mi-août 2017 pour apporter son expertise scientifique dans le cadre du mésusage du Fipronil et de la contamination accidentelle d'œufs sur le territoire français et européen. A la demande de la DGAI, le LNR a mis en place et validé une méthode pour mesurer cette molécule et ses métabolites dans les œufs et les viandes de volaille. La méthode a été diffusée au réseau de laboratoires officiels, ainsi qu'aux laboratoires d'autocontrôle. La méthode a ensuite été éprouvée lors d'essais inter laboratoires organisés par le JRC (Laboratoire de de recherche scientifique et technique de l'UE), et la performance du laboratoire ressort comme l'un des tout meilleurs, tous participants confondus, avec des résultats parmi les plus proches de la valeur assignée sur l'ensemble des échantillons testés.

Le LNR a également développé 3 méthodes multirésidus en GC-MS/MS pour la recherche de pesticides dans le pain d'abeilles, le pollen et le miel. Ces méthodes reposent sur une extraction par broyage puis une séparation liquide/liquide suivie d'une purification sur phase solide (SPE dispersive). Pour la recherche de pesticides dans le miel, la préparation repose sur la méthode QuEChERS (séparation liquide/liquide suivie d'une purification sur phase solide (SPE dispersive)). Les extraits sont ensuite analysés en GC-MS/MS pour le dosage des organochlorés, des organophosphorés, des pyréthriinoïdes de synthèse et d'un dicarboximide. Ces méthodes sur le miel, le pain d'abeilles et le pollen ont été développées en 2017 et seront validées en 2018.

- *En santé animale*

Afin de répondre à l'évolution récente de la réglementation Européenne (Décision d'exécution UE 2015/1554) concernant la reconnaissance officielle des méthodes moléculaires pour le diagnostic des maladies réglementées des poissons, le LNR a développé et validé en 2017 une première méthode de RT-PCR en temps réel qualitative permettant la détection spécifique du virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse (vNHI). Cette méthode intègre l'utilisation de bactériophages à ARN et ADN comme contrôles universels des processus d'extraction et de détection. La méthode complète a été audité par le Cofrac fin 2017. Cette méthode de RTqPCR sera proposée à l'autorité compétente pour officialisation au premier semestre 2018 puis transférée aux laboratoires agréés du réseau.

De plus, comme la NHI, la Septicémie Hémorragique Virale est une maladie réglementée des poissons en Europe (Directive 2006/88/EC). Le développement d'une méthode a été initié en fin d'année 2017, l'objectif étant de valider cette méthode et de la transférer simultanément à la méthode de RT-qPCR vNHI aux laboratoires agréés courant 2018.

En ce qui concerne la métrite contagieuse équine (MCE), le LNR a réalisé la validation selon la norme NF U47-600-2 et obtenu l'accréditation par le Cofrac de la méthode de détection de *Taylorella equigenitalis* par PCR en temps réel à partir de prélèvements génitaux d'équidés et de souches bactériennes. Cette méthode de mise en évidence de *T. equigenitalis* par PCR en temps réel qualitative ciblant un fragment de l'ADN ribosomique 16S s'applique à tous les prélèvements génitaux d'équidés susceptibles de contenir *T. equigenitalis*, et notamment les écouvillons placés en milieu de transport Amies-charbon. Elle s'applique également aux souches bactériennes préalablement isolées de ces prélèvements dans un contexte de confirmation d'un cas de MCE.

- *En santé du végétal*

La méthode de détection du Banana streak virus (BSV), espèces Obino l'Ewaï, Goldfinger, Imové et Mysore par IC-PCR multiplexe a été revue et publiée fin 2017 (MA044V2), ce qui permettra d'envisager le transfert des analyses vers les laboratoires agréés début 2018. Cette méthode présente deux avantages : (i) elle ne nécessite pas d'étape d'extraction du fait de la fixation du virus par une réaction antigène-anticorps (immunocapture), technologie qui permet de ne pas détecter les formes virales intégrées à l'ADN du bananier (eBSV) et (ii) elle permet de détecter les 4 espèces virales en une seule analyse du fait de l'étape d'amplification des ADN par mutiplexage des amorces.

De plus, suite à la mise en évidence fin 2016 du virus du Banana bunchy top (BBTV) sur des échantillons d'*Alpinia purpurata* provenant de Tahiti, des travaux destinés à caractériser ces souches qui jusqu'à présent n'ont pas été retrouvées sur bananier ont été engagés.

Enfin, en parallèle au développement d'une méthode de détection de la maladie du Wilt de l'ananas causée un complexe viral composé principalement de plusieurs espèces de clostérovirus (Pineapple mealybug wilt associated virus, PMWaV) les techniques de séquençage à haut débit ont commencé à être mises en œuvre dans un but d'inventaire et de diagnostic des virus de l'ananas. Ces méthodes pourront servir à la sélection de plantes mères utilisées dans les dispositifs de production de vitroplants.

## **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 extrêmement variable en fonction du pathogène ou du contaminant concerné.

En 2017, on a répertorié 7 réseaux de moins de 5 laboratoires agréés, 11 réseaux de 5 à 9 laboratoires, 9 réseaux de 10 à 19 laboratoires et 20 réseaux de plus de 20 laboratoires.

L'évolution du nombre de réseaux de moins de 10 laboratoires d'une part et celle du nombre de réseaux de plus de 20 laboratoires d'autre part se stabilisent. Le plus grand réseau animé par l'Anses réunit 136 laboratoires (128 en 2014 et 135 depuis 2015). Seize LNR n'animent pas de réseau de laboratoires.

### **Essais inter-laboratoires d'aptitude**

Pour s'assurer de la bonne maîtrise des différentes méthodes d'analyse utilisées par les laboratoires agréés, les LNR organisent notamment des essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA). Il s'agit de faire parvenir à tous les laboratoires agréés 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.

En 2017, 56 EILA ont été organisés par 36 LNR de l'Agence. Le nombre d'EILA reste stable par rapport aux années précédentes (59 EILA ont été organisés en 2016, 55 en 2015). Le nombre de LNR organisateurs d'EILA varie d'une année sur l'autre (35 en 2016 et 49 en 2015) 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 (65 mandats portés en 2016 et 2015).

Les 56 EILA organisés cette année sont répartis comme suit : 17 en SSA, 30 en SA et 9 en SV. Le nombre d'EILA est en diminution en SSA, en légère augmentation en SA et reste stable en SV où les LNR, en accord avec la tutelle, ont organisé d'autres types d'évaluation de l'aptitude (analyses en doublon par exemple) plus adaptés pour les petits réseaux que des EILA.

Les EILA organisés par nos LNR sont réalisés dans le respect des exigences de la norme ISO 17043. Douze EILA ont été réalisés sous accréditation selon cette norme (11 en 2016 et 10 en 2015).

Les 56 EILA réalisés en 2017, ouverts aussi à des laboratoires non agréés pour un grand nombre d'entre eux, ont concerné de 3 à 136 participants (tous types de laboratoires confondus : agréés, non agréés, français, étrangers), soit un total de 1591 participations. En fonction des EILA, jusqu'à 80 laboratoires agréés ont participé, soit un total de 981 participations de laboratoires agréés, un même laboratoire agréé pouvant participer jusqu'à une trentaine d'EILA organisés par l'Anses. En moyenne, un laboratoire agréé participe à 8 EILA organisés par l'agence. Ces nombres sont similaires à ceux des années précédentes.

Plusieurs faits marquants de l'année sont à noter : le développement interne à l'agence d'un logiciel de gestion en ligne des EILA, baptisé LEILA, commun à l'ensemble de nos LNR et LRUE ; la mise en place de journées annuelles internes des coordonnateurs d'EILA et la mise en place d'une formation interne « animer un réseau de laboratoires ». Ces trois actions ont une même et unique vocation : favoriser l'harmonisation des pratiques au sein de l'agence.

### **Journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés ou reconnus du réseau**

Les journées d'échange et de restitution sont des moments de partage importants 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 de méthodes en cours.

En 2017, 31 journées ont été organisées par l'Anses. Ce nombre est globalement stable par rapport aux années précédentes (42 en 2016, 26 en 2015).

### **Formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels**

Vingt-cinq sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels ont été organisées en 2017 par les responsables des LNR de l'Anses. Ce nombre de sessions de formation est en baisse régulière (26 en 2016, 36 en 2015, 29 en 2014, 46 en 2013, 48 en 2012) et s'explique par le gain en maturité d'un grand nombre des réseaux que l'Anses anime.

### **Réalisation d'analyses officielles**

Les LNR de l'Anses sont amenés à réaliser des analyses de seconde intention, afin notamment de confirmer en tant que de besoin les résultats d'analyse des laboratoires agréés. Ils réalisent également des analyses de première intention dans un certain nombre de cas, notamment lorsqu'il n'existe pas de réseau de laboratoires agréés pour le pathogène ou le contaminant considéré. A noter plus particulièrement pour 2017 une très forte mobilisation du laboratoire de Ploufragan-Plouzané pour les analyses de confirmation liée à la crise d'Influenza aviaire (travail 7 jours sur 7 par équipes en horaires décalés, plus de 500 foyers analysés à titre confirmatoire...).

### **Relations avec les CNR**

Les journées d'échange co-organisées en 2016 et 2017 par l'Agence et Santé Publique France, afin de mieux connaître les attentes respectives des LNR et CNR dont les mandats se recoupent et favoriser la coordination et les collaborations, ont renforcé une dynamique partagée.

En 2017, 17 LNR de l'agence sur 20 ont rencontré le CNR dont le mandat recouvre au moins en partie le leur. Quinze des 20 LNR collaborent avec le CNR dans le cadre de la surveillance et 12 collaborent dans le cadre de projets de recherche.

A noter également que l'Anses et Santé Publique France ont travaillé en 2017 à la préparation d'une trame commune et simplifiée d'Accord de Transfert de Matériel (MTA) afin de faciliter au mieux les échanges de matériels biologiques entre LNR et CNR dans le cadre de leurs activités de référence.

### **Conclusion**

Pendant l'année 2017, les LNR de l'Anses ont été particulièrement sollicités dans le cadre de nombreuses crises sanitaires (Fipronil, influenza aviaire...). Au sein de chaque unité des laboratoires qui les accueillent, ils ont assuré les travaux de référence en développant et validant les méthodes *ad hoc* et en garantissant la qualité des analyses des laboratoires agréés et reconnus.

Enfin, pour la première fois cette année, l'Anses a réalisé une enquête de satisfaction client auprès de ses tutelles DGAI et DGS afin de les interroger sur leur niveau de satisfaction sur les activités de LNR de l'Anses. Cette démarche lui a permis de poursuivre son processus d'amélioration continue dans ses actions.