

Note de synthèse sur les rapports d'activités 2024 des mandats de LNR portés par l'Anses

En application du code rural et de la pêche maritime ainsi que 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. Elle porte par ailleurs un mandat relatif aux matrices 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.

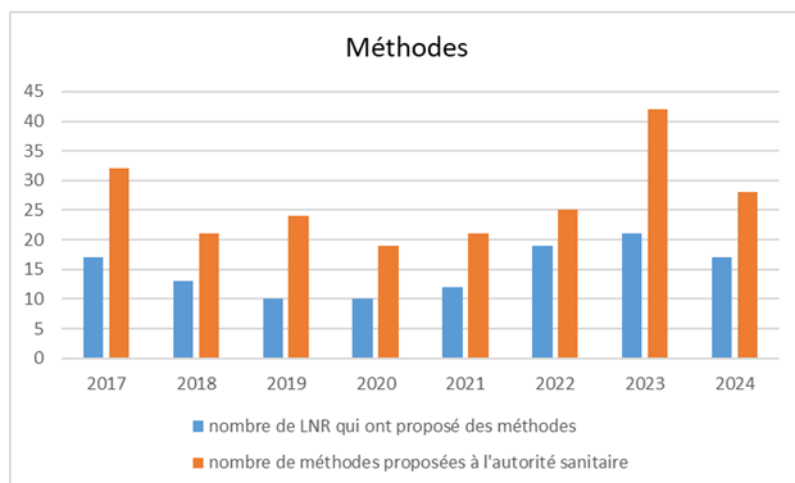
En 2024, l'Agence portait 66 mandats de LNR. En particulier elle portait 63 des 96 LNR désignés par arrêté du ministre chargé de l'agriculture en date du 30 mars 2023 dont 36/41 en SA, 15/37 en SSA et 12/18 en SV. L'Anses porte aussi 2 des 3 mandats de LNR qui relèvent du domaine du ministère de la santé : 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 du 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 précocement 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 et lorsque cela est applicable :

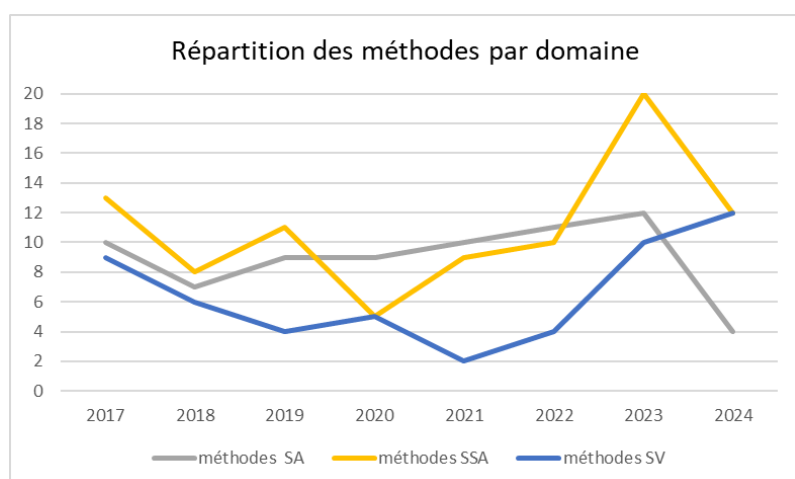
- le développement, l'optimisation et la validation des méthodes d'analyse destinées à être utilisées dans ce cadre ;
- l'animation technique du réseau des laboratoires agréés ou le cas échéant reconnus par l'Etat, y compris la vérification de l'aptitude de ces laboratoires à travers notamment l'organisation 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'épidémiosurveillance.

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

Le renforcement des capacités d'analyse 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 et utilisation pour la surveillance et le contrôle sanitaire.



Ainsi, en 2024, 28 méthodes ont été développées ou révisées et proposées à l'autorité sanitaire par 17 de nos LNR. Ces nombres sont en diminution par rapport à 2023, mais restent dans la fourchette habituelle.



Le nombre de méthodes développées ou révisées et proposées à l'autorité sanitaire a continué d'augmenter en 2024 en SV et reste élevé en SSA malgré la diminution observée par rapport à 2023. En SA une diminution marquée interrompt l'augmentation constante observée depuis 2021.

On peut noter à titre illustratif quelques méthodes développées et/ou proposées à l'officialisation en 2024 :

- En SSA le LNR « Biotoxines Marines » a finalisé le développement d'une approche analytique reposant sur un test de viabilité de cellules de neuroblastomes de souris (test Neuro-2a) pour la détermination des ciguatoxines (CTX) dans la chair de poisson. Ces toxines, connues pour s'accumuler dans les poissons, sont responsables d'une intoxication alimentaire appelée la ciguatera. Il s'agit de l'intoxication d'origine non bactérienne associée à la consommation de poissons la plus répandue à travers le monde. Cette méthode constitue une alternative performante au bio-essai sur souris, jusqu'ici méthode officielle pour la détection des CTX. La transition vers ce test *in vitro* de viabilité cellulaire ciblant les canaux sodiques voltage-dépendants (Nav) répond notamment à des considérations d'ordre éthique, puisqu'elle permet de s'affranchir de l'expérimentation animale. Ces travaux, fortement attendus par la Direction générale de l'alimentation (DGAI), ont conduit à la publication en novembre 2024 de la méthode ANSES / LSA/Aliments / LSA-INS-1618 « Détermination des ciguatoxines dans la chair de poisson par test de

cytotoxicité sur lignée cellulaire Neuro-2a. » sur le site internet de l'Agence. Un essai d'inter-comparaison a également été organisé avec le laboratoire du Centre technique de recherche et de valorisation des milieux aquatiques (CITEB) impliqué dans la surveillance au niveau national. Les résultats satisfaisants de cet essai ont permis à la DGAI d'officialiser cette méthode et aux deux laboratoires Anses et CITEB de débiter les analyses prévues dans le cadre d'un plan de surveillance exploratoire incluant des prélèvements effectués aux Antilles (Guadeloupe, Guyane et Martinique) et dans l'Océan Indien (Île Maurice et La Réunion).

Par ailleurs le LNR continue à s'investir dans le développement d'une méthode chimique par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) afin de caractériser les profils toxiques des échantillons contaminés par ces toxines. Le nombre de standards et de matériaux de référence étant réduit, la mise en place de cette méthode représente un véritable challenge.

- En SV l'activité de développement méthodologique du LNR « Tous champignons et oomycètes exceptés les champignons réglementés non de quarantaine sur semences vraies, plants de fraisiers, griffes d'asperge et bulbes du genre *Allium* » a été particulièrement riche. Le LNR a proposé à l'autorité compétente 3 nouvelles méthodes par PCR en temps réel :
 - Détection de *Venturia nashicola* sur fruits ou feuille de nashi. Cette méthode vient s'ajouter au catalogue de méthodes disponibles pour les champignons de quarantaine. Jusqu'à présent, il n'existait pas de méthode officielle ciblant cet agent pathogène sur nashi.
 - Détection de *Ceratocystis platani*, agent du chancre coloré du platane. Cette nouvelle méthode permet de détecter beaucoup plus rapidement ce champignon réglementé attaquant les platanes, et remplacera la méthode officielle actuellement en vigueur basée sur le piégeage biologique du parasite. L'unité a également formé des laboratoires candidats à l'agrément en vue d'un futur transfert.
 - Détection de *Melampsora medusae* f. sp. *Tremuloidae* sur feuille de *P. tremuloides*. Cette méthode permet de détecter spécifiquement la forma specialis de cette espèce qui est la seule capable d'attaquer le peuplier tremble.

Le LNR a aussi proposé une modification majeure d'une méthode par PCR en temps réel multiplex : Détection de *Elsinoë fawcettii*, *Elsinoë citricola*, *Elsinoë australis* et *Pseudocercospora angolensis* sur agrumes. Cette méthode officielle a été modifiée pour permettre de ne pas rechercher systématiquement les quatre espèces, mais de s'adapter à la demande du contrôleur phytosanitaire. Elle permet par ailleurs de détecter la troisième espèce d'Elsinoe de quarantaine, i.e. *E. citricola*.

Le LNR a d'autre part terminé le travail de validation d'une méthode de détection par PCR en temps réel de la lignée *Triticum* de *Pyricularia oryzae*, agent du wheat blast. Cette méthode développée en 2020-2021 a fait l'objet de travaux de validation désormais complets pour mesurer ses critères de performance. Elle aboutira à une nouvelle méthode d'analyse qui permettra de disposer d'un protocole de détection de cet agent pathogène émergent responsable du wheat blast en Amérique du Sud, au Bangladesh et en Zambie, dont l'introduction en Europe doit absolument être évitée. En effet, la méthode mise au point permet de détecter le champignon sur des semences de blé contaminées, qui représentent la principale voie de dissémination de cet agent pathogène à l'échelle internationale.

- En SA la saison de transmission du virus West Nile (WNV) a été très intense en Europe en 2024 avec 488 foyers équins et 411 foyers aviaires rapportés par les états membres. En France hexagonale, la circulation du virus West Nile a été historique et la plus intense observée sur le territoire. Un total de 89 cas équins symptomatiques a été diagnostiqué et déclaré ainsi que 5 cas aviaires. La majorité des cas équins étaient localisés sur le pourtour méditerranéen, zone historique de circulation du WNV. La hausse du nombre de cas est à corréler avec la circulation de deux souches de WNV lignée 2 (nouvelles introductions sur

le territoire). Depuis 2022, le WNV circule également sur la face Atlantique et sa distribution géographique s'étend au fil des années. Les Antilles ont également été le témoin d'une circulation virale puisque 19 cas équins et 1 cas aviaire se sont avérés positifs pour WNV en Guadeloupe ainsi que des cas asymptomatiques équins en Martinique (enquête de séroprévalence). L'année 2024 a été également synonyme d'une circulation non négligeable du virus Usutu puisque 18 cas aviaires répartis sur 10 départements ont été diagnostiqués. A la suite du développement d'une méthode RT-PCR triplex (WNV/USUV/ β Actine) en 2023-2024, le LNR « Encéphalites virales des équidés : encéphalite West Nile » a constitué un dossier de validation qui a permis l'accréditation de la méthode par le Cofrac sur les matrices organes équins et aviaires, écouvillons (oro-pharyngé et cloacal), urine et sang. Par ailleurs la méthode RT-PCR duplex (WNV – β Actine) a été mise à jour et accréditée sur de nouvelles matrices comme les écouvillons (oro-pharyngé et cloacal), les urines et sera prochainement aussi sur les organes : foie et rate. Ces deux virus partagent un cycle commun et co-circulent sur le territoire français. Le WNV représente un risque pour la santé humaine et USUV une menace grandissante, le développement et la validation d'un outil permettant la détection simultanée de WNV et USUV sur différentes matrices est un bon moyen plus rapide à plus faible coût pour leur surveillance par le LNR qui réalise les analyses de première intention en biologie moléculaire.

Au total, parmi les méthodes proposées à l'autorité sanitaire cette année ou les années précédentes, 14 méthodes ont été transférées en 2024 par 10 LNR à leurs réseaux de laboratoires. Trois de ces méthodes ont fait à ce titre l'objet d'un essai interlaboratoires de transfert (EILT) afin de vérifier la performance des laboratoires auxquels la méthode a été transférée.

Animation de réseaux

Caractéristiques des réseaux de laboratoires agréés ou reconnus

En 2024, ont été répertoriés 12 réseaux de moins de 5 laboratoires agréés, 13 réseaux de 5 à 9 laboratoires, 6 réseaux de 10 à 19 laboratoires et 19 réseaux de plus de 20 laboratoires. Le nombre de réseaux de moins de 10 laboratoires se stabilise (25 en 2023, 24 en 2022, 23 en 2021), le nombre de réseaux de 10 à 19 laboratoires reste stable (6 en 2023 et 2022, 7 en 2021) et le nombre de réseaux de plus de 20 laboratoires augmente très légèrement (18 en 2023, 17 en 2021 et 2022). Le plus grand réseau animé par l'Anses réunit 124 laboratoires. Quatorze LNR n'animent aucun réseau de laboratoires.

Quatre LNR ont assuré en 2024 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 40 laboratoires.

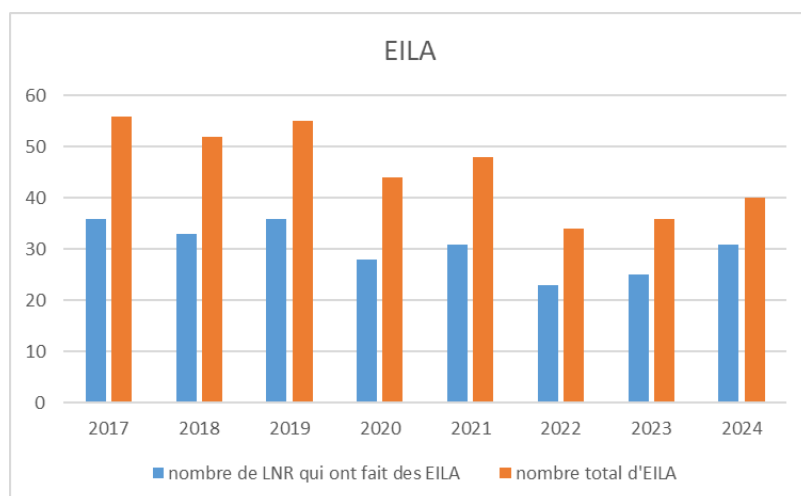
A ces réseaux de laboratoires agréés ou reconnus s'ajoute un réseau de 80 laboratoires « reconnus compétents » animés par le LNR Diarrhée Virale Bovine (BVD).

Le fait marquant de l'année 2024 est l'extension du réseau de laboratoires (7 laboratoires agréés et 4 laboratoires reconnus supplémentaires par rapport à 2023) pour la détection de génome de virus influenza aviaire selon les méthodes de RT-PCR temps réel gènes M, H5, H7 et H5 HP clade 2.3.4.4b (biologie moléculaire).

Essais inter-laboratoires d'aptitude

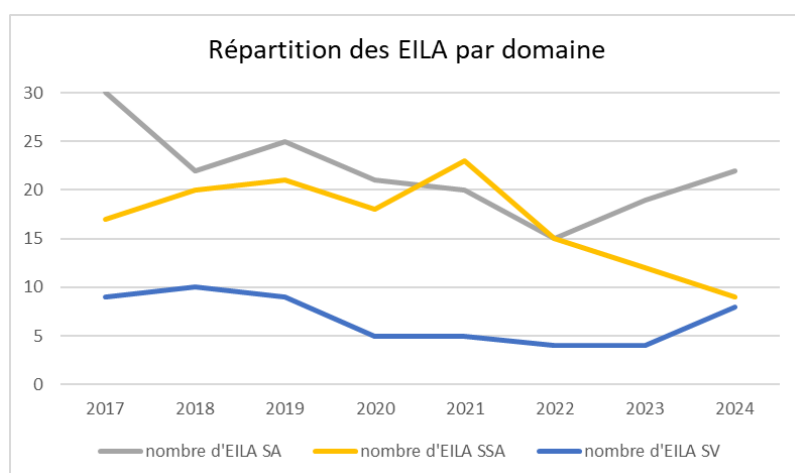
Pour s'assurer de la bonne maîtrise des différentes méthodes d'analyse utilisées par les laboratoires agréés ou reconnus, les LNR organisent notamment des EILA. Il s'agit de faire parvenir à tous les laboratoires agréés ou reconnus un panel d'échantillons préparés par le

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 2024 est en légère augmentation par rapport à 2022 et 2023 mais reste inférieur à celui des années précédentes. Cette diminution s'explique par la mise en œuvre par les LNR de l'Agence de la démarche concertée avec la DGAI visant à rationaliser la fréquence des EILA au regard de la maturité des réseaux pour les méthodes d'analyse concernées.

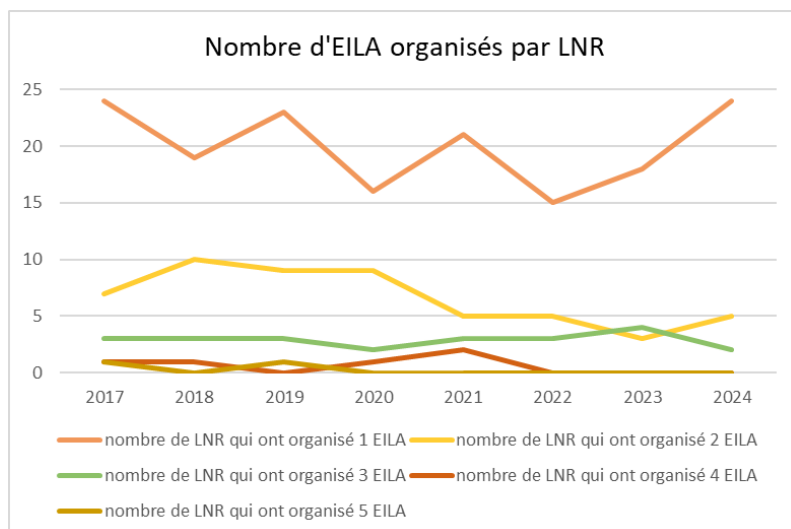
Le nombre de LNR organisateurs d'EILA varie de même d'une année sur l'autre, en fonction de la maturité des réseaux, des évolutions de méthodes, des crises sanitaires, ce qui explique les variations annuelles constatées à nombre de mandats stable.



Une baisse du nombre d'EILA avait été enregistrée en 2020 dans chacun des trois domaines. Le nombre d'EILA en SV, stable depuis lors, a fortement augmenté en 2024 pour revenir à son niveau précédent. En SSA la tendance à la diminution se poursuit après le pic de 2021. En SA le nombre d'EILA augmente de nouveau depuis 2023 mais reste inférieur aux années précédentes.

Les EILA organisés par nos LNR sont tous réalisés dans le respect des exigences de la norme NF EN ISO 17043. Sept EILA ont été réalisés sous accréditation en 2024, nombre qui reste dans la fourchette des années précédentes (9, 11, 4 et 8 respectivement en 2020, 2021, 2022 et 2023). Ces variations s'expliquent non pas par l'arrêt ou de nouvelles 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).

Les 40 EILA réalisés en 2024, ouverts aussi à des laboratoires non agréés/reconnus pour un grand nombre d'entre eux, ont concerné de 2 à 72 participants (tous types de laboratoires confondus : agréés/reconnus, non agréés/reconnus, français, étrangers), soit un total de 876 participations dont 661 par des laboratoires agréés. En fonction des EILA, jusqu'à 70 laboratoires agréés ont participé, un même laboratoire agréé pouvant participer à plus d'une vingtaine d'EILA organisés par l'Anses.



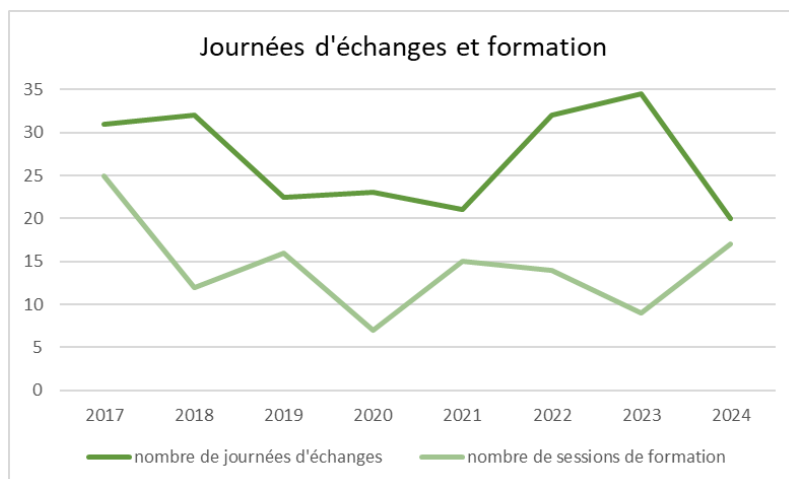
Depuis 2022 un LNR donné réalise au plus 3 EILA dans l'année grâce à la mise en œuvre de la démarche élaborée en concertation avec la DGAI en 2020 visant à rationaliser la fréquence des EILA.

En 2024, 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, ce nombre restant dans l'ordre de grandeur des années précédentes (5 LNR en 2023 pour 8 EILA, 7 LNR en 2022 pour 11 EILA, 4 LNR en 2021 pour 5 EILA et 4 LNR en 2020 pour 6 EILA). Le recours à des EILA tiers, qui s'inscrit dans une démarche d'efficacité, contribue aussi à la diminution du nombre d'EILA réalisés par les LNR de l'Agence.

A noter cette année la participation de 19 laboratoires européens au deuxième EILA organisé par le LNR « Surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de station d'épuration » sur la détection et la quantification du SARS-CoV-2 dans des échantillons d'eaux usées pour les laboratoires du réseau SUM'EAU en charge du suivi de la circulation du SARS-CoV-2 dans les eaux usées sur le territoire français. Ces laboratoires impliqués sur cette thématique dans leurs pays respectifs partagent leur expérience au travers du projet européen EU Wastewater Integrated Surveillance for Public Health (EU-WISH).

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.



En 2024, 20 journées d'échanges ont été organisées par les LNR de l'Anses. Ce nombre qui était revenu à un niveau élevé depuis 2022 après la diminution constatée de 2019 à 2021 diminue de nouveau.

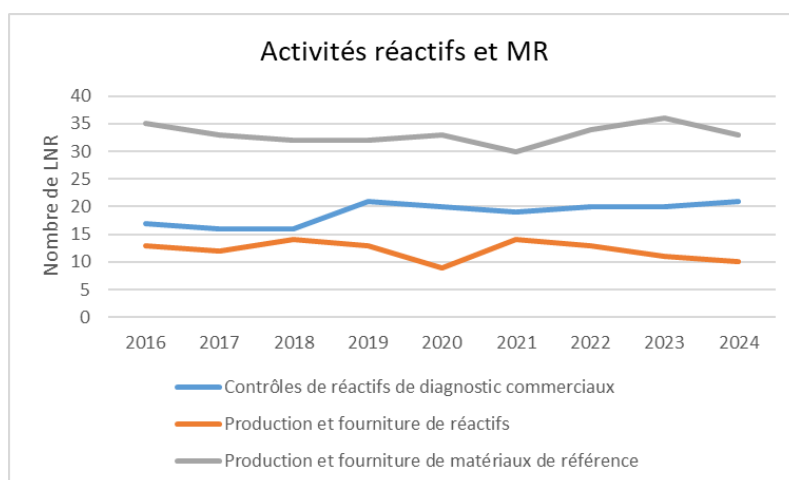
Il convient de noter la diversification des formats d'organisation de ces journées (présentiel, hybride ou distanciel) ainsi que la mutualisation entre LNR dans le domaine de la santé des

végétaux d'une part et de l'eau d'autre part.

Par ailleurs, 17 sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels ont été organisées en 2024 par les LNR de l'Anses. Ce nombre est en augmentation après la diminution observée depuis 2022. Il varie au cours des années en fonction notamment du nombre de nouvelles méthodes transférées par les LNR à leurs réseaux. Ce nombre élevé en 2024 peut expliquer en partie la diminution du nombre de journées d'échanges : les formations étant par essence l'occasion d'échanges il n'est plus forcément nécessaire pour le LNR d'organiser également une journée dédiée (6 LNR ont fait une formation mais pas de journée d'échange).

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

Certains LNR réalisent 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.



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

Le nombre de LNR produisant et fournissant des réactifs poursuit sa légère diminution après le pic de 2021.

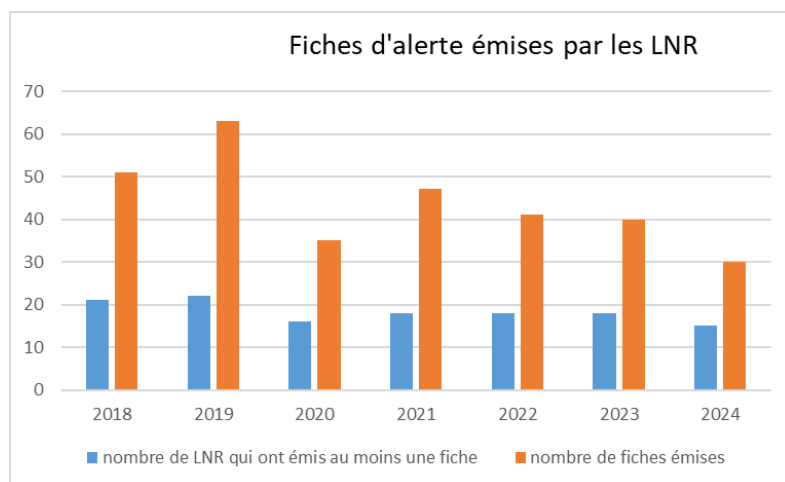
Le nombre de LNR produisant et fournissant des matériaux de référence diminue légèrement pour revenir à son niveau de 2020.

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 2024, 17 rapports d'AST ont été rendus par 9 LNR (26, 17, 15 et 24 rapports rendus par 9, 9, 9 et 12 LNR, respectivement en 2023, 2022, 2021 et 2020) en réponse aux demandes de l'année ou de l'année précédente.

Contribution à la veille et l'épidémiosurveillance

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'épidémiosurveillance.



En 2024, 30 fiches d'alerte ou de signal ont été émises par 15 de nos LNR via Salsa, le système d'alertes sanitaires de l'Anses mis en place en 2017.

Relations avec les CNR

En 2024, 22 LNR de l'Agence ont porté un mandat qui recouvre au moins en partie celui d'un CNR. Treize LNR ont rencontré le CNR dont le mandat porte sur le même danger sanitaire, en totalité ou partiellement (11 en 2023, 7 en 2022 et 10 en 2021). Quinze des 22 LNR collaborent avec un CNR dans le cadre de la surveillance du danger sanitaire concerné et 12 LNR collaborent dans le cadre de projets de recherche (respectivement 14, 13, 10 et 13, 7, 13 LNR en 2023, 2022, 2021).

Conclusion et autres faits marquants

Pendant l'année 2024 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.

Les travaux visant l'amélioration de l'efficacité des activités de l'Anses en matière de référence, déjà largement engagés depuis plusieurs années sur l'organisation d'EILA d'une part et d'autre part l'organisation d'essais bilatéraux proposés dans le cadre de la démarche de rationalisation des EILA, la validation et le transfert de méthodes ainsi que le contrôle des réactifs de diagnostic notamment, ont été poursuivis pendant l'année 2024, avec en particulier la publication du guide pour identifier les écarts et décrire les modalités de leur gestion dans le cadre d'un essai interlaboratoires et la poursuite de la mise en œuvre par les LNR de l'Agence de la démarche engagée en 2022 en concertation avec la DGAI visant à rationaliser

la fréquence d'organisation des EILA au regard de la maturité des réseaux pour les méthodes d'analyse concernées.

En 2024 l'Anses a par ailleurs finalisé, en s'appuyant sur une cellule opérationnelle dédiée, sa préparation à l'implication de l'Agence dans les Jeux Olympiques et Paralympiques (JOP) Paris 2024, à laquelle les LNR principalement concernés, travaillant sur les risques liés aux aliments, chevaux et eaux, ont participé activement. Ces LNR étaient susceptibles d'intervenir dans l'investigation d'alertes sanitaires, notamment pour assurer des analyses de confirmation ou de caractérisation des agents pathogènes isolés, dans le cadre de leurs mandats sur les bactéries, virus ou parasites transmis par les aliments ou par les eaux destinées à la consommation humaine ou les eaux de baignade, sur les contaminants chimiques des aliments, ainsi que sur le diagnostic de maladies des chevaux. Au final, aucune alerte sanitaire majeure n'est survenue pendant les JOP. Un document de bilan et retour d'expérience a été rédigé fin 2024, mettant en lumière les acquis pour l'Agence en termes de modes d'organisation pour son implication dans la sécurité sanitaire de futurs événements de grande ampleur qui se dérouleront en France.