

Note de synthèse sur les rapports d'activités 2020 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 des végétaux (SV) et de la sécurité sanitaire des aliments (SSA) y compris des eaux destinées à la consommation humaine. Ces activités de référence sont mises en œuvre dans le cadre des unités spécialisées des laboratoires de l'Agence.

En 2020, l'Agence 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). Ces mandats de LNR portés par l'Agence étaient au nombre de 36/41 en SA, 15/33 en SSA et 12/18 en SV. L'Anses porte aussi deux des trois 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.

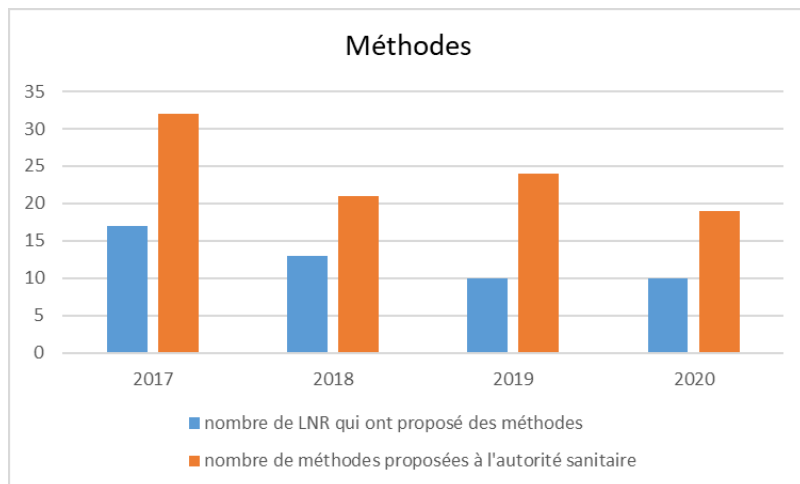
Les missions des LNR visent à assurer la fiabilité des analyses officielles réalisées pour le compte des autorités sanitaires dans ces différents domaines, à travers notamment lorsque cela est applicable :

- 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 (notamment laboratoires départementaux) 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 et 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.

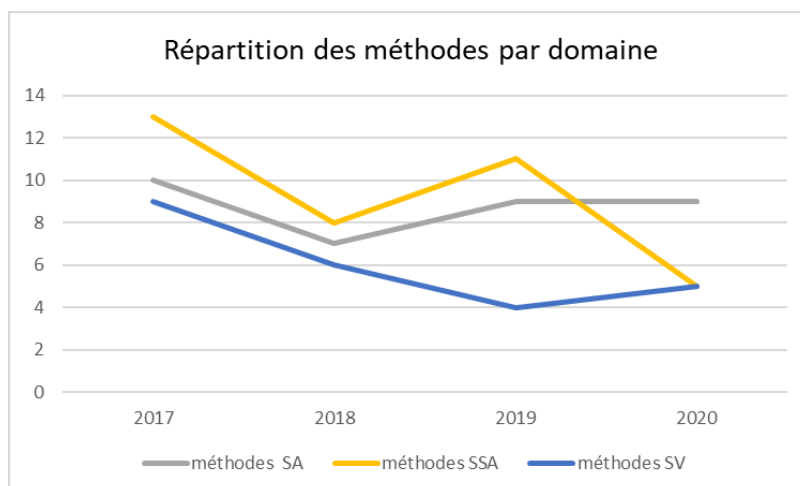
Le fait marquant de l'année 2020 est la mise en œuvre par les LNR de leur plan de continuité d'activités pendant le confinement instauré en mars 2020 au regard de l'épidémie de Covid-19 et la poursuite tout au long de l'année de leurs activités dans le contexte de la crise sanitaire engendrée.

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

Le renforcement des capacités de détection 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 à 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 2020, 19 méthodes ont été développées ou révisées et proposées à l'autorité sanitaire par 10 de nos LNR. Ces nombres se stabilisent depuis 2018 avec une vingtaine de méthodes développées ou révisées et proposées à l'officialisation par une dizaine de LNR.



Le nombre de méthodes développées ou révisées et proposées à l'autorité sanitaire diminue depuis 2017 en SSA pour des raisons principalement conjoncturelles, se stabilise en SA après une diminution depuis 2017 et reste stable en SV.

Au total, parmi les méthodes proposées à l'autorité sanitaire cette année ou les années précédentes, 9 méthodes ont été transférées par 6 LNR à leurs réseaux de laboratoires en 2020. Un essai interlaboratoires de transfert (EILT) a notamment été organisé par le LNR « Santé des abeilles » pour transférer la méthode de recherche et de quantification des virus d'abeilles par RT- qPCR à 3 laboratoires agréés.

On peut noter à titre illustratif quelques méthodes développées et/ou proposées à l'officialisation en 2020 :

- En vue du lancement de la campagne nationale de mesure des polluants émergents dans les eaux destinées à la consommation humaine portant sur environ 800 échantillons et 200 molécules incluant des métabolites de pesticides, des résidus d'explosifs et le 1,4 Dioxane, l'unité physicochimie des eaux du Laboratoire d'hydrologie de Nancy a développé, validé et mis sous accréditation dans le cadre de la portée flexible du laboratoire, 3 méthodes en vue du dosage de :

- Métabolites de pesticides par injection directe LC-MS/MS, séparation par chromatographie en phase liquide et détection par spectrométrie de masse triple quadripôle (ID-LC-MS/MS). Les limites de quantification vont de 5 à 200 ng/L, en fonction des molécules.
- Résidus d'explosifs par le même principe analytique (ID-LC-MS/MS). Les limites de quantification vont de 1 à 50 ng/L, en fonction des molécules.
- 1,4 Dioxane par extraction SPE (extraction en phase solide), séparation par chromatographie en phase gazeuse et détection par spectrométrie de masse triple quadripôle (SPE-GC-MS/MS). La limite de quantification est de 150 ng/L.

Ce sont ainsi 22 000 analyses (110 échantillons X 200 paramètres) qui ont été réalisées par le laboratoire en 2020 dans le cadre du démarrage de la campagne nationale dans les eaux destinées à la consommation humaine. La DGS a confié au LHN l'organisation d'une nouvelle campagne nationale de mesure de polluants sur la période 2020-2021, afin de recueillir des données d'exposition nécessaires à l'évaluation des risques sanitaires. Le plan d'échantillonnage est appliqué à tous les départements français y compris les DOM. Au niveau national, environ 300 sites sont échantillonnés, à raison de 3 par département : le site fournissant le plus gros débit du département, un site tiré au sort et un ou plusieurs sites d'intérêt sélectionnés par l'ARS en fonction de critères proposés par le LHN et des polluants recherchés. Pour chaque site, le couple eau brute/eau traitée est prélevé, représentant un total d'environ 800 échantillons. Les prélèvements sont réalisés par les ARS ou le laboratoire agréé en charge du contrôle sanitaire et les analyses sont exclusivement réalisées par le LHN. La campagne a commencé à l'automne 2020 et devrait s'achever fin 2021. La publication des résultats globaux est prévue pour le premier semestre 2022.

- Suite à la détection de *Xylella fastidiosa* en Corse, en PACA puis en 2020 en Occitanie, les LNR du domaine de la Santé des végétaux restent mobilisés depuis 2015 et poursuivent leurs travaux sur les méthodes analytiques. Ainsi en 2020, le LNR « Bactéries sur autres matrices » a :
 - proposé à la DGAI la 1ère version de la méthode de détection de *Xylella fastidiosa* par PCR temps réel sur insectes vecteurs, basée sur la publication Cuntly et al., 2020. Après officialisation, le LNR a formé un réseau de laboratoires et a évalué leur compétence en organisant un EILT. Les résultats ont contribué à l'agrément de ces laboratoires;
 - poursuivi des essais d'optimisation de la méthode officielle sur matrices végétales. L'aptitude à l'utilisation de cette nouvelle version de méthode a été vérifiée en novembre 2020 via un EILA organisé sous accréditation ISO/CEI 17043 ;
 - validé la méthode PCR en temps réel « Ouyang *et al.*, 2013 » en tant que méthode complémentaire de la PCR « Harper *et al.*, 2010 » permettant de confirmer avec une sensibilité équivalente, des cas positifs détectés dans une nouvelle zone (exigence européenne de 2 tests positifs) ;
 - commencé la caractérisation des critères de performance de la méthode de détermination de la sous-espèce par la PCR Tetraplex Dupas *et al.*, 2019;
 - validé la méthode de détection « Harper *et al.*, 2010 » sur échantillons composites d'*Helichrysum italicum* en réponse à la demande de la DGAI.

Par ailleurs, le LNR « Insectes, acariens phytoparasites et auxiliaires sur toutes matrices », quant à lui, a proposé la méthode de détection morphologique des vecteurs de *Xylella fastidiosa* qui permet le tri de certains insectes présents en France et vecteurs potentiels de la bactérie. Cette méthode contribuera à répondre aux exigences de la réglementation européenne et notamment le Règlement d'exécution (UE) 2020/1201 relatif à des mesures visant à prévenir l'introduction et la dissémination dans l'Union européenne de *Xylella fastidiosa*.

- Le LNR « Encéphalites virales des équidés : encéphalite West-Nile » a développé, avec l'appui du LNR « Virus d'origine alimentaire dans les denrées alimentaires d'origine animale hors coquillage », une méthode de détection du virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) par RT-PCR temps réel sur ARN simple brin extrait à partir de lait cru d'origine caprine et bovine, en vue d'une validation de méthode et d'un éventuel transfert de celle-ci aux laboratoires du réseau. En effet, l'année 2020 a été marquée par le premier foyer humain d'encéphalite à tiques (TBE) d'origine alimentaire dans l'Ain en région Auvergne Rhône-Alpes, dans une zone où la présence du virus n'était pas connue. Ce foyer a été responsable de 44 cas de méningites et encéphalites à TBEV dus à la consommation de fromages au lait de chèvre non pasteurisé. Le LNR a participé aux investigations dans l'élevage de chèvres incriminé et les élevages voisins afin d'appuyer les services vétérinaires dans le contrôle de l'infection et la gestion du troupeau. L'enquête réalisée a mis en évidence une séroprévalence de 25% dans l'élevage de chèvres incriminé et une persistance de l'excrétion du virus dans le lait de 14 jours. La présence d'anticorps neutralisants dirigés contre le TBEV dans le sérum des animaux a été mis en évidence par une technique de microneutralisation développée par le LNR. En collaboration avec l'unité virus entériques du laboratoire de sécurité des aliments et l'unité SEEPIAS du laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy, un financement de thèse « Formation Complémentaire par la Recherche » par la DGAI a été obtenu sur le sujet suivant : « Vers une meilleure compréhension du risque de transmission de virus de l'encéphalite à tique (TBEV) pour l'homme via la consommation de produits laitiers non pasteurisés en France ».

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.

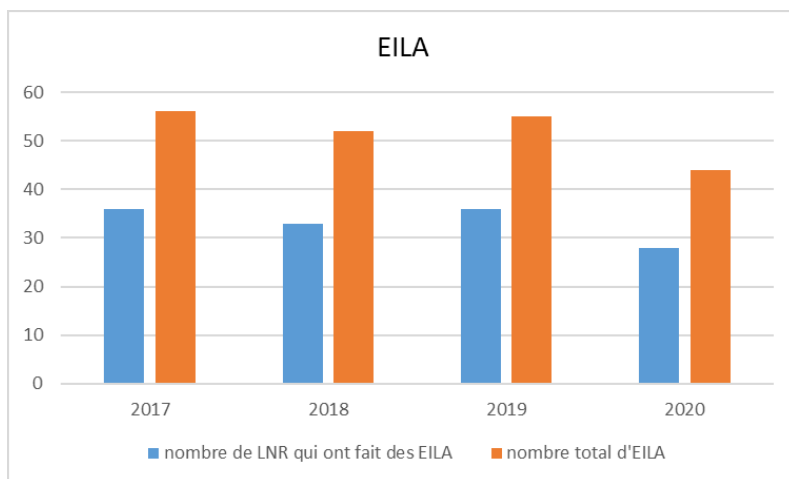
En 2020, on a répertorié sept réseaux de moins de cinq laboratoires agréés, 14 réseaux de cinq à neuf laboratoires, huit réseaux de 10 à 19 laboratoires et 17 réseaux de plus de 20 laboratoires.

Le nombre de réseaux de moins de 10 laboratoires diminue légèrement (22 en 2019, 23 en 2018), le nombre de réseaux de 10 à 19 laboratoires augmente légèrement (7 en 2019, 5 en 2018), et le nombre de réseaux de plus de 20 laboratoires reste stable (17 en 2019, 19 en 2018). Le plus grand réseau animé par l'Anses réunit 130 laboratoires depuis 2019. Dix-sept LNR n'animent aucun réseau de laboratoires.

Quatre LNR ont assuré en 2020 une mission d'animation de réseaux de laboratoires reconnus par l'Etat pour les analyses d'autocontrôle des acteurs de la chaîne alimentaire. Trois de ces réseaux sont constitués de 10 à 19 laboratoires et un comporte 22 laboratoires.

Essais inter-laboratoires d'aptitude

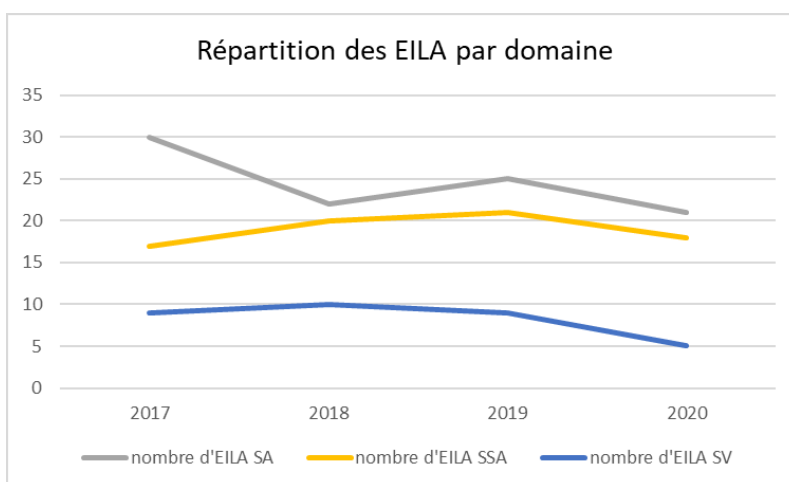
Pour s'assurer de la bonne maîtrise des différentes méthodes d'analyse utilisées par les laboratoires agréés ou reconnus, les LNR organisent notamment des EILA. Il s'agit de faire parvenir à tous les laboratoires agréés ou reconnus un panel d'échantillons préparés par le LNR pour analyse, permettant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



Le nombre d'EILA organisés en 2020 est en diminution par rapport aux années précédentes. Cette diminution s'explique d'une part par la périodicité de certains EILA (une année sur deux), et d'autre part par l'annulation ou le report en 2021 d'EILA initialement programmés en milieu d'année ou fin d'année 2020 et qui ont été décalés, en concertation avec la DGAI, du fait de la crise sanitaire Covid-19. La grande réactivité dont

les LNR ont fait preuve a permis la reprogrammation dès fin juin 2020 de la grande majorité des EILA de l'année avec, au final, peu d'EILA annulés (2) ou reportés en 2021(6).

Le nombre de LNR organisateurs d'EILA varie 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.



La diminution du nombre d'EILA par rapport à 2019 est répartie de façon équilibrée entre les trois domaines (moins trois EILA en SSA et moins quatre EILA respectivement en SA et en SV). Proportionnellement, la diminution est plus accentuée 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 aux petits réseaux que des EILA.

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 augmente régulièrement : 10 en 2015, 11 en 2016, 12 en 2017, 13 en 2018, 19 en 2019 mais a chuté en 2020 avec seulement 9 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 par la périodicité de certains EILA sous accréditation (une année sur deux), et d'autre part par l'annulation ou le report en 2021 d'EILA sous accréditation initialement programmés en milieu d'année ou fin d'année 2020 et qui ont été décalés, en concertation avec la DGAI, du fait de la crise sanitaire Covid-19.

Les 44 EILA réalisés en 2020, ouverts aussi à des laboratoires non agréés/reconnus pour un grand nombre d'entre eux, ont concerné de trois à 113 participants (tous types de laboratoires confondus : agréés/reconnus, non agréés/reconnus, français, étrangers), soit un total de 1265 participations. En fonction des EILA, jusqu'à 78 laboratoires agréés ont participé, soit un total de 753 participations de laboratoires agréés, un même laboratoire agréé pouvant participer à plus d'une vingtaine d'EILA organisés par l'Anses.

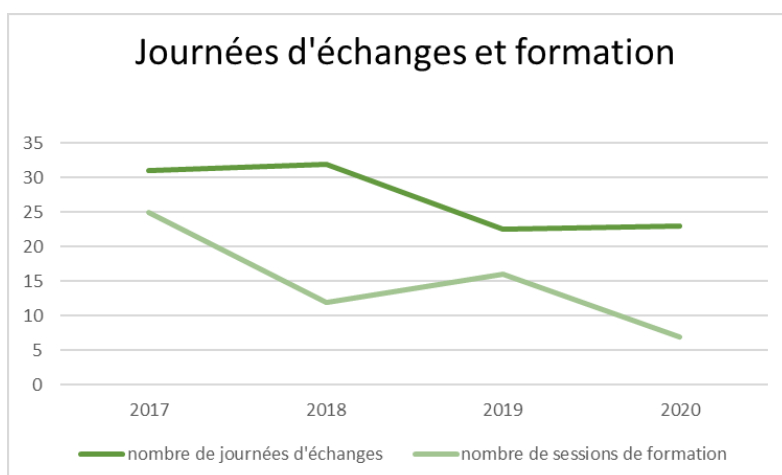
A noter cette année l'organisation :

- ✚ par le LNR « Maladies réglementées des poissons » d'un EILA pour les sept laboratoires du réseau, en demande d'agrément pour une nouvelle méthode récemment publiée par le LNR ;
- ✚ par le LNR « Diarrhée virale bovine (BVD) » de quatre EILA portant sur quatre méthodes d'analyse. Ces EILA étaient organisés pour constituer le réseau des laboratoires reconnus compétents pour la réalisation des analyses BVD, dans la perspective du futur agrément des laboratoires en matière de BVD suite à la parution d'un arrêté ministériel modifié portant sur la lutte contre la BVD pendant la première campagne nationale de prophylaxie officielle. Cet arrêté mentionnait, entre autres, les conditions à remplir par les laboratoires d'analyse afin d'être reconnus compétents pour la réalisation d'analyses de diagnostic BVD.

Quatre LNR de l'agence exploitent les résultats d'un EILA organisé par un tiers pour évaluer les performances des laboratoires du réseau. Trois 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.



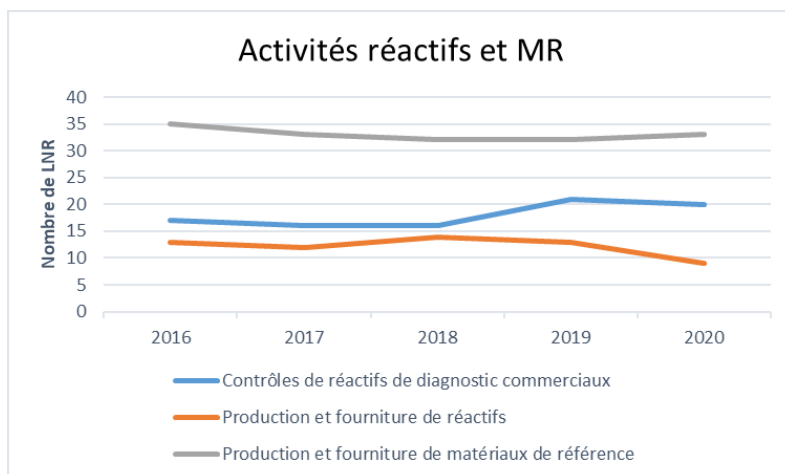
En 2020, 23 journées d'échanges ont été organisées par les LNR de l'Anses. Ce nombre, en diminution depuis 2017, s'est stabilisé en 2020 par rapport à 2019, malgré la pandémie de Covid-19, les réunions pouvant se tenir en ligne.

Sept sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels ont été

organisées en 2020 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 2020, la diminution importante par rapport à 2019 s'explique aussi par 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.



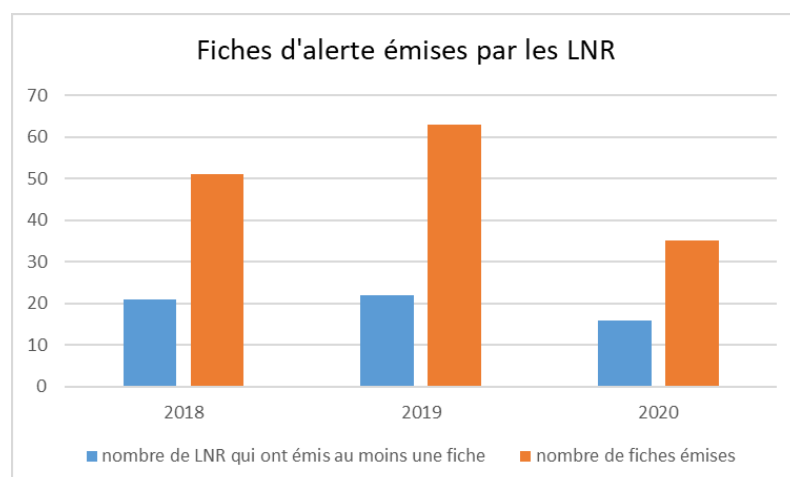
Le nombre de LNR réalisant des contrôles de kits commerciaux, principalement en SA, s'est stabilisé en 2020. Le nombre de LNR produisant et fournissant des réactifs a diminué en 2020 alors qu'il était stable depuis 2016. Le nombre de LNR produisant et fournissant des matériaux de référence est, quant à lui, resté stable.

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 2020, 24 rapports d'AST ont été rendus par 12 LNR (17 rapports rendus par 11 LNR en 2019) en réponse aux demandes de l'année ou de l'année précédente (28 demandes adressées à 15 LNR en 2020 et 29 demandes adressées à 13 LNR en 2019).

Contribution à la veille et l'épidémiologie

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 nationales d'épidémiologie.



En 2020, 35 fiches d'alerte ou de signal ont été émises par 16 de nos LNR via Salsa, le système d'alertes sanitaires de l'Anses mis en place mi-2017. La diminution du nombre de fiches émises est probablement à mettre en relation avec la pandémie de Covid-19.

Relations avec les CNR

En 2020, huit LNR de l'Agence sur 21 concernés ont rencontré le CNR dont le mandat porte sur le même danger sanitaire, en totalité ou partiellement (9 en 2019). Onze des 21 LNR collaborent avec un CNR dans le cadre de la surveillance et 11 collaborent dans le cadre de projets de recherche (13 et 11 respectivement en 2018, 8 et 10 en 2019).

Les journées d'échanges 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 portent sur le même danger sanitaire et de favoriser la coordination et les collaborations, ont renforcé une dynamique partagée.

Conclusion

Pendant l'année 2020, 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 dans l'année, dans un contexte rendu plus difficile que les années précédentes par la crise sanitaire engendrée par l'épidémie de Covid-19.

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 et la validation et transfert de méthodes notamment, ont continué pendant l'année 2020. Ils se poursuivront en 2021, en particulier pour le contrôle des réactifs (à travers la poursuite du groupe de travail interne mis en place à cet effet) et, concernant les EILA, par la mise en œuvre de l'approche élaborée en concertation avec la DGAI en 2020 visant à rationaliser la fréquence de ces derniers.