



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Fièvre Q

Nom du responsable du LNR

Elodie ROUSSET

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

Laboratoire de Sophia-Antipolis

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

Fièvre Q animale

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

Selon la catégorisation de la nouvelle « Loi de Santé Animale » (Règlement 2016/429 relatif aux maladies animales transmissibles), la fièvre Q est catégorisée « E » pour les ruminants (*Bison ssp.*, *Bos ssp.*, *Bubalus ssp.*, *Ovis ssp.*, *Capra ssp.*), c'est-à-dire « Une maladie répertoriée à l'égard de laquelle une surveillance est nécessaire au sein de l'Union ».

Pour mémoire, les mesures de surveillance en matière de fièvre Q étaient jusqu'à présent « volontaires » (danger sanitaire de catégorie 3 dans l'arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la catégorisation des dangers sanitaires), à l'exception des élevages en lien épidémiologique avec des cas humains groupés, pour lesquels des mesures de surveillance et de gestion pouvaient être imposées par l'Administration (Note de service 2011-8124).

Les faits marquants de l'année

Diagnostic sérologique :

- Une publication majeure (dans la revue *Veterinary Research*) sur les estimations des performances diagnostiques des 3 kits ELISA utilisés en France et distribués à l'international. Thèse de Thibaut Lurier (Soutenance à Lyon le 5 octobre 2021)

Ce travail constitue une première valorisation d'un patrimoine biologique acquis lors d'un programme pilote de la plateforme ESA. Il ressort de cette étude de bonnes spécificités pour les 3 kits et des sensibilités variant fortement selon le kit et l'espèce de ruminant. Les estimations réalisées à l'échelle du groupe ont permis de définir un nombre optimal d'individus à tester, selon chaque kit et chaque espèce, afin de maximiser les performances.

- Une application web R Shiny libre d'accès (prototype pour le moment) a été développée à destination des acteurs de terrain pour permettre d'estimer la probabilité que l'individu testé ou le troupeau dépisté soit réellement séropositif, sachant les caractéristiques de l'élevage, le contexte épidémiologique et les résultats du plan de dépistage réalisé (suite de la Thèse de Thibaut Lurier).

- La poursuite du projet sur la calibration des lots de kits.

Un suivi des lots a été conduit grâce à des données de variabilité, autour de la zone seuil de chaque kit, produites par les 3 fabricants concernés, selon un plan d'expérience établi par le LNR. Les résultats sur plusieurs années ont permis de fixer en 2021, avec l'aval des producteurs, des spécifications quantitatives pour l'acceptation des lots. Des cartes de contrôle par les utilisateurs pourront être établies avec les lots successifs. Cette calibration des lots est importante pour la comparabilité des données car plusieurs lots peuvent être utilisés pour des investigations portant sur des années différentes (investigations en élevages lors de cas humains groupés, enquêtes transversales, dépistages ciblés) ou pour la surveillance de la fièvre Q catégorisée « E » à mettre en place sur l'ensemble du territoire (remontée à l'EFSA de données annuelles issues des LVD).

Risques d'exposition (renforcer l'épidémiologie d'intervention et l'approche "Une seule santé" préventive):

- Poursuite des recherches sur la contamination environnementale, en termes de charges et de persistance en élevages et en lieux publics, mais aussi, de dispersion des bactéries lors des chantiers de traitement des fumiers (compostage, transport et épandage). Les perspectives sont de contribuer à mieux connaître les zones et activités à risque, et à développer *in fine* des indicateurs pour le suivi et la levée des mesures de gestion sanitaire (projet "ExpAirCox", démarré suite à l'épisode de cas humains groupés en 2017 dans le secteur de Niort, bassin d'élevages caprins, régulièrement confronté à la fièvre Q).

- Un second volet, complémentaire au premier volet d'études « biologiques », est en cours de réalisation : large étude en sciences humaines et sociales (SHS) afin de décrire la perception des risques sanitaires par les parties prenantes, grâce à des enquêtes socio-anthropologiques auprès de l'ensemble des acteurs de santé (éleveurs, scientifiques, institutions non-scientifiques). La finalité est de tenir compte des constats, et notamment des

incertitudes, pour inventer ensemble et construire une démocratie sanitaire en ce qui concerne la gestion de la fièvre Q (projet "ZooJeu").

Abréviations

AFNOR, Association française de normalisation
ECDC : European Center for Disease Prevention and Control (Centre européen de prévention et de contrôle des maladies)
EFSA, European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)
ESA, Epidémiologie et santé animale
DGS, Direction générale de la santé
FC, Fixation du complément
HCSP, Haut conseil de la santé publique
LSA, Loi de santé animale
LVD : laboratoire vétérinaire départemental
MLVA, Multiple Loci VNTR Analysis (méthode de génotypage)
MR, Matériau de référence
MRI, Matériau de référence interne
MRSI, Matériau de référence au seuil d'interprétation
NGS, Next generation sequencing (séquençage de génomes complets)
NSB3, Niveau de sécurité biologique 3 (voir P3 ci-dessous)
OIE, Office international des épizooties (Organisation mondiale de la santé animale)
OSCAR, Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants (dispositif déployé sur 26 départements volontaires et visant à standardiser et valoriser les résultats de Diagnostic Différentiel des Avortements (D.D.A.))
PCRq : PCR quantitative
P3, Laboratoire de niveau 3 (niveau de risque biologique)
SHS, Sciences humaines et sociales
WGS, Whole genome sequencing (séquençage de génomes complets)

1. Méthodes développées ou révisées

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

0 méthode(s)

Informations complémentaires

Le nombre de kits commerciaux recommandés par le LNR pour la réalisation des analyses officielles est de 24 méthodes PCR équivalentes pour le diagnostic d'avortement et 3 kits ELISA pour la sérologie. Le LNR s'est investi depuis 2011 dans un accompagnement des fabricants de façon équitable pour permettre la validation de tous ces kits.

<https://www.anses.fr/fr/content/activit%C3%A9s-de-r%C3%A9f%C3%A9rence-du-laboratoire-de-sophia-antipolis>

PCR

Les méthodes PCR sont basées sur 9 kits PCR couplés à des méthodes d'extraction (6 méthodes chez BioSellal, 6 chez BioX Diagnostics, 6 chez IdVet et 6 chez ThermoFisher(LSI)). Un autre fabricant s'intéresse à ce marché.

En 2021 pour le Fabricant ThermoFisher l'actualisation du dossier de validation des méthodes PCR a porté sur :

- nouvelle méthode d'extraction MagMAXCore, autorisée à temps pour les participants de l'EILA PCR *Coxiella* en septembre

- suppression prochainement des méthodes d'extraction Nucleospin Tissue (Macherey) et MagVet

L'examen du dossier a été formalisé par le LNR sous forme d'une attestation de validation des kits. Cette attestation peut être demandée par tout utilisateur.

ELISA

Les travaux d'accompagnement avec le Fabricant BioX Diagnostics sont en suspens sur le/les développements et validation de nouveaux kits ELISA. Il est envisagé d'organiser le prochain EILA sérologie ELISA fièvre Q avec une session prototype parallèle avec ces kits.

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...)

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Les analyses officielles de détection/quantification par PCR (écouvillon vaginal / endocervical / cotylédonaire bovin, ovin, caprin) et de sérologie par ELISA (sérum bovin, ovin, caprin) sont prioritairement réalisées par les laboratoires LVD agréés (depuis 2012). Le LNR peut réaliser des analyses de première intention non pratiquées par les laboratoires de diagnostic, par exemple dans le cadre d'une investigation autour de la survenue de cas humains groupés : analyse de PCR sur des matrices particulières (ex des poussières collectées sur chiffonnettes), analyses de typage de souches, analyses sérologiques de dépistage chez d'autres animaux que les ruminants.

En 2021, 21 analyses PCRq sur poussières et laines de mouton ont été réalisées pour suivre l'évolution des niveaux de contamination environnementale, suite à une alerte dans un lycée agricole en 2020.

Il s'agit de la première alerte de fièvre Q en absence de signalement de cas humains. Le risque d'exposition de cet élevage cliniquement atteint a été investigué dans la mesure où il est ouvert au public.

Au terme de l'investigation relative à une alerte, le LNR participe à une vigilance et un appui, mais aussi à apporter des connaissances et collecter des prélèvements sur des situations épidémiologiques particulières.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Des analyses de confirmation de LVD peuvent être soumises au LNR dans le cadre du diagnostic d'avortement, voire pour des demandes d'analyses de contrôle à l'achat en

France (introductions, reproducteurs) ou pour l'exportation (demande par certains pays). Elles sont ponctuelles et elles sont demandées directement par un LVD ou un vétérinaire. Pour ces demandes, le LNR réalise les analyses de PCRq (le plan d'échantillonnage est discuté en amont avec le demandeur).

En revanche, il ne réalise plus les analyses de sérologie avec les 3 kits ELISA disponibles sur les sérums à caractériser, du fait de la connaissance acquise sur les performances diagnostiques de ces tests utilisés pour les analyses officielles (publication de Thibaut Lurier en 2021, travaux de thèse). Ces travaux ont montré que déterminer le statut à l'aide des 3 kits n'est pas pertinent, chacun des trois tests ELISA commercialisés présentant un risque d'erreurs diagnostiques (i.e. avec des résultats faussement positifs ou négatifs). Une autre approche a été proposée pour pallier à l'absence de méthode gold standard permettant de déterminer avec certitude le statut sérologique des individus. Elle consiste à interpréter le(s) résultat(s), produit(s) par le LVD qui demande la confirmation, en se basant notamment sur la connaissance de l'incertitude diagnostique du kit utilisé sur l'espèce concernée. Une application web R Shiny libre d'accès (prototype pour le moment) à destination des acteurs de terrain a été développée pour permettre d'estimer cette probabilité que l'individu testé ou le troupeau dépisté soit réellement séropositif sachant les caractéristiques de l'élevage, le contexte épidémiologique et les résultats du plan de dépistage réalisé.

3.3 Autres analyses

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

456 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le nombre d'analyses oscille selon les projets d'EILA notamment.

- Les analyses ELISA (40 analyses) sont réalisées pour des évaluations techniques ou pour des enquêtes épidémiologiques en élevages ou des suivis d'expérimentations animales en collaboration et pour la préparation des supports des EILA et des MRs. Elles sont aussi consacrées à des dépistages dans d'autres espèces animales que les ruminants domestiques. Les analyses réalisées en 2021 ont porté sur un suivi annuel de chevreuils et une demande ponctuelle pour des chevaux en Guyane suspectés d'avoir contaminé le propriétaire.

- Les analyses PCR (416 analyses) sont réalisées également pour des enquêtes, des travaux de recherche et pour la préparation des supports des EILA et des MRs. En 2021, la majorité correspondait aux besoins pour l'organisation d'un EILA et pour la production d'un nouveau lot de MR bactérien. A noter également une surveillance de l'évolution de la contamination environnementale réalisée dans un élevage (bovins, ovins) d'un lycée agricole, à l'aide de PCRq sur des prélèvements de type poussières et laines.

- Peu d'isollements et génotypages ont été réalisés ces dernières années ; les tâches actuelles sont vouées à l'amplification des isolats obtenus pour la souchothèque. Des développements de méthodes de génotypage rapides et harmonisables sont réalisés et devraient remplacer le génotypage MLVA, classiquement utilisé dans le domaine de la fièvre Q animale. De l'ordre de 20 séquences de génomes complets (WGS) ont été produites ces dernières années et les analyses bio-informatiques sont poursuivies en collaboration (INRAE, CNR).

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**

2 EILA :

- Un EILA organisé par Sciensano (Belgique) sur les méthodes de détection par PCR (organes et laits de ruminants domestiques, PCR qualitative)
- L'EILA que le LNR a organisé sur les méthodes PCR temps réel validées pour le diagnostic d'avortements chez les ruminants domestiques (matrice cible : suspension vaginale, 3 types de PCR proposés : PCR qualitative, relative au seuil clinique et quantitative)

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

Oui

Types de matériaux de référence produits (MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

- Des sérums MRI de reproductibilité correspondant à 2 niveaux d'anticorps proches du seuil de positivité de chacun des 3 kits ELISA disponibles sur le marché, préparés à partir d'un sérum calibrant pour l'ELISA. Ces MRI de reproductibilité sont proches du seuil (donc donnant des résultats positifs et négatifs) et servent de traceurs de carte de contrôle.
- Souches purifiées pour les préparations des MR et pour le développement et la validation de méthodes de biologie moléculaire
- MRI bactérien comme traceur et MRSI de la PCR
- Gamme de quantification de 6 concentrations d'ADN en dilution pour la PCR quantitative
- Suspensions d'écouvillons vaginaux négatives ou dopées avec quantités connues de bactéries pour les préparations de supports EILA (voire d'autres matrices en fonction des besoins de validation de PCR)

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

Sérum, ADN, suspension de souche bactérienne, suspension de matrice

Nombre de lots produits dans l'année

4 MRI pour l'ELISA : extemporanément à chaque essai (2 traceurs pour une méthode)

Souches : amplification d'isolats en continu

Souche Nine Mile purifiée : 1 purifié en 2019 (selon les besoins)

MRI bactérien : de l'ordre de 0,5 à 2 lots par an

Gamme PCR : 0,5 à 2 lots par an

Suspension d'écouvillons vaginaux : selon les projets d'EILA, les demandes d'essais bilatéraux

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

L'activité est stable par rapport à 2020. La période 2020-2021 correspond plus à une période de routine (organisations EILA et quelques demandes d'analyses ponctuelles).

Le volume d'analyses de sérologie (ELISA) et de biologie moléculaire (PCR et génotypage) dépend des types de projets et des besoins en cas d'alertes de cas humains groupés. Quelques essais sont effectués pour accompagner les laboratoires en cas de problème analytique ou de mise en place de méthodes.

Les demandes de clients restent rares, les essais pour le diagnostic étant pratiqués dans les laboratoires d'analyses vétérinaires.

Le nombre d'analyses ELISA est amené à être le plus limité possible, en raison d'une réorganisation des ressources humaines suite à un départ à la retraite (mars 2020) et au recrutement d'une technicienne.

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 de référence qualifiés par le LNR

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

Sérum, ADN, souche bactérienne.

Nombre de lots produits dans l'année

Suspension bactérienne dosée (format : bactéries purifiées), nombre de lots : 1 pour 2 à 4 ans.

MR qualifiés par les EILA : à chaque EILA

Nombre d'unités distribuées au plan national

Sérum étalon FC : 0 unité

Sérum calibrant ELISA-Ac : 53 unités

Standard ADN génomique dosé PCR-Q : 11 unités

Suspension bactérienne dosée inactivée pour PCR-Q : 40 unités

Souche de référence Nine Mile (phase 2) pour culture : 0 unité

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

L'activité est relativement stable. La distribution a baissé en 2020 fort probablement en raison de l'activité diminuée durant la pandémie.

- Pour le "sérum calibrant ELISA", les demandes proviennent surtout de laboratoires d'analyses de France (8 unités à d'autres pays sur les 53 fournies). Les fabricants des 3 kits distribués en France utilisent aussi ce sérum dans leur contrôle qualité de lots. Un quatrième kit à venir sur le marché met en place ce contrôle basé sur le MR du LNR.

- Avant 2011, seul l'étalon FC était proposé en sérologie. Aucune demande de matériau de référence (FQ3) pour la FC n'a été reçue par le LNR depuis 2017. On compte pour les années précédentes : 10 unités en 2016, 15 en 2015, 11 en 2014, 8 en 2013 et 4 en 2012 essentiellement adressées à un même laboratoire. La méthode FC est vouée à ne plus être utilisée car ses performances sont limitées. Elle n'est plus recommandée par l'OIE, aucune méthodologie n'est indiquée comme test individuel de statut indemne avant échange ("individual animal freedom from infection prior to movement"), correspondant à l'ancienne liste des "prescribed tests for international trade". A la demande de l'AFNOR en 2021, le LNR a présenté ses motivations à proposer la suppression de la norme relative à la FC utilisée pour le diagnostic de la fièvre Q.

- Le Standard ADNg et le MR bactérien sont employés pour les méthodes PCR. Ces MR s'adressent à la fois aux laboratoires (adoption, carte de contrôle) et aux fabricants de kits (validations de méthodes ou de modifications). Le MR bactérien est le plus distribué à des laboratoires en France (3 sur 40 à d'autres pays) et le MR ADN intéresse plutôt les

fabricants de kits.

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

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...).

Interne :

GT Anses sur les contrôles des réactifs (depuis mars 2019)

Externes :

Expertise OIE

Dans le but de la notification à l'OIE, un draft pour définir un cas confirmé a été élaboré, sur la base de 3 éléments que sont le pathogène, l'hôte et les critères diagnostiques et épidémiologiques ("OIE Report of the development of the case definition for infection with *Coxiella burnetii* (Q fever)").

Les réunions se sont tenues entre mai et octobre 2021. Le projet sera examiné par une commission de l'OIE début 2022.

Expertise EFSA:

Un projet EFSA (OC-EFSA-BIOCONTAM-2020-03 / rapport européen zoonoses), mené de 2021 à 2024, vise à améliorer la qualité des données de surveillance et leur exploitation, pour le rapport européen annuel EFSA/ECDC de notifications des zoonoses .

En 2021, les 2 experts du LNR ont examiné les données fièvre Q, proposé des améliorations, et contribué à la rédaction du chapitre « Q fever », en lien avec les experts homologues de l'ECDC. Il est également prévu de mettre en œuvre une visualisation des dynamiques de données.

Expertise AFNOR :

-Elaboration d'un argumentaire pour la suppression de la norme relative à la fixation du complément utilisée pour le diagnostic de la fièvre Q (une réunion et un rapport)

-Contribution au GT pour la révision de la norme U47-019 relative aux méthodes ELISA. Il a débuté en décembre 2021

Autres expertises nationales :

Membre du Groupe de suivi (GS) OSCAR (Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants) en lien avec :

-La Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale (ESA): "Surveillance des maladies abortives d'intérêt pour l'Etat en élevage de ruminants", et Sous-Groupe T3-3 Fièvre Q (pilote par GDS France), Cellule d'animation associée.

-Les Groupes de Travail Diagnostic différentiel des avortements des petits ruminants et des bovins

Comité de la thèse de Thibaut Lurier (2018-2021), intitulée « Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique pour évaluer de façon probabiliste les statuts infectieux à l'échelle individuelle et collective chez les ruminants : Application au diagnostic sérologique de la fièvre Q chez les ruminants domestiques » (thèse AERC Inrae - VetAgro Sup, école doctorale SVSAE, université Clermont Auvergne)

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

Conseils, appuis scientifiques et techniques spécialisés fièvre Q (en dehors du réseau de la Plateforme ESA) en réponse à des demandes de laboratoires d'analyses, vétérinaires, gestionnaires.

Un enregistrement synthétique des principaux échanges est effectué sur un fichier indiquant la date de demande, le type de contact, le lieu, le nom, la structure, l'objet et comment les réponses ont été prodiguées (discussions téléphoniques et renseignements par email). Les principaux conseils ou réalisations au niveau international sont consignés dans le rapport annuel de laboratoire de référence de l'OIE. De l'ordre de 20-30 sollicitations sont comptabilisées chaque année.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

11 laboratoires dont les agréments se répartissent comme suit : 10 pour l'analyse de sérologie par ELISA et 7 pour l'analyse PCR

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

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

1 EILA

Nom de l'EILA

PCR *Coxiella burnetii* pour le diagnostic d'avortement chez les ruminants

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

Non

Nombre de laboratoires participants

57 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

7 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

2 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

47 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

29 laboratoires français

18 laboratoires étrangers

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

4 laboratoire(s)

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

1 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)

Défaut fidélité marqué, ponctuel sur un des échantillons en 3 exemplaires

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

Investigations entreprises selon une étude approfondie (selon analyse 5M en gestion de la qualité : Matière, Matériel, Méthodes, Main d'œuvre, Milieu)

Vérification à l'aide de l'analyse en aveugle d'un nouveau panel

Suivi de décisions sur l'agrément

Maintien de l'agrément

Evolution du réseau dans le temps

Nombre stable, des mutualisations concernant 2 laboratoires nécessitant un transfert d'agrément

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**

En l'absence de réglementation, plusieurs autres actions sont proposées pour permettre de vérifier la qualité des résultats sérologiques par ELISA et de diagnostic direct par PCR obtenus par les laboratoires agréés ou non, ou encore dans le cadre du dispositif OSCAR.

** Au sens de la norme 17043

1- D'une part, pour différencier la part « conditions de laboratoire » de la part « méthodes », le LNR fièvre Q a mis en place des consignes avec les fabricants de kits concernés sur l'utilisation des MR qu'il distribue (le sérum calibrant pour l'ELISA, les MR bactériens et ADN pour la PCR) :

- Suivi inter-lot de chaque kit ELISA

En ELISA, chacun des 3 kits utilisés a connu des modifications après leur mise sur le marché, en particulier sur la préparation de l'antigène. Les 3 méthodes ne sont pas harmonisées entre elles et peuvent produire des résultats discordants. Néanmoins, le LNR a demandé un contrôle qualité de chaque lot avec le sérum MR calibrant. Les fabricants réalisent donc des essais pour avoir un suivi inter-lot de chaque kit et observer la qualité standardisée avec des données chiffrées. Les données de variabilité autour du seuil de positivité ainsi obtenues sont transcrites sur chaque certificat de lot des différents kits. Les laboratoires peuvent s'appuyer sur ces valeurs pour l'acceptation d'un lot.

En 2021, les échanges du LNR avec chacun des 3 fabricants ont permis de fixer des critères d'acceptabilité des lots en terme de justesse et de reproductibilité au seuil de positivité.

Dorénavant, un seul niveau au seuil est considéré. Les laboratoires utilisateurs pourront élaborer une carte de contrôle avec tous les lots successifs du kit employé.

- Support pour les validations de méthodes PCR

Les méthodes de PCR quantitative ont été validées par les fabricants selon la norme U47-600 (AFNOR) et les consignes du LNR pour répondre aux besoins du diagnostic d'avortement chez les ruminants.

De mi-2016 à mi-2017, les différents fabricants ont produit les données de validation de PCR relative par rapport à un MRSI (seuils d'interprétation pour le diagnostic d'avortement).

Le LNR examine les dossiers de validation et leurs évolutions et retourne une attestation sur la conformité des différents critères. Ce dispositif permet de connaître les performances et de garantir des méthodes des différents fabricants, validées et harmonisées entre elles.

Pour d'autres méthodes commerciales non validées (2 valences *Chlamydia* et *Coxiella*, 8 valences dont *Coxiella*), le LNR a autorisé les méthodes suite à la réalisation par les fabricants concernés d'une étude de comparaison à une méthode PCR *Coxiella* validée.

Une liste des méthodes recommandées aux laboratoires pour le diagnostic d'avortements a été établie et est actualisée au besoin (elle a été mise en accès sur la page internet du laboratoire).

2- D'autre part, un accompagnement des laboratoires est poursuivi pour la bonne mise en œuvre des analyses ELISA et PCR et pour le maintien de l'aptitude :

- Essais bilatéraux d'aptitude en ELISA pour la sérologie

En dehors de la campagne d'EILA, si un laboratoire souhaite mettre en place une méthode ELISA ou investiguer une dérive, le LNR propose un essai en aveugle et retourne une attestation sur l'aptitude. Un exercice en 2021, 13 réalisés depuis 2014 (autres pays en majorité).

- Essais bilatéraux d'aptitude en PCR

Un laboratoire en 2016 a réalisé un tel essai pour vérifier son aptitude vis-à-vis d'un laboratoire expert, tel que le propose la norme ISO 17025 en l'absence d'EILA.

- Essais d'adoption de méthodes PCR validées

Le LNR peut organiser la vérification initiale des performances (consignes, formulaire de résultats, retour d'une attestation après examen des résultats). Depuis 2012, 15 laboratoires ont adopté une méthode PCR validée en concertation avec le LNR (10 agréés en 2012 et 3 laboratoires non agréés en PCR quantitative, 2 laboratoires non agréés en PCR quantitative et relative).

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

1 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

Présentation à la Journée Anses des LNR et réseaux de laboratoires agréés en santé animale.

Session - Retours d'expérience : collaborations entre LNR et laboratoires de leurs réseaux.

27 mai 2021 :

« LNR fièvre Q et réseaux de laboratoires : une association symbiotique. »

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

Sans objet

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

Non

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
EXPAIRCOX	Amélioration des connaissances sur l'exposition aérienne des professionnels agricoles et de la population générale à <i>Coxiella burnetii</i>	en cours
KitEval4500	Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique pour évaluer de façon probabiliste les statuts infectieux à l'échelle individuelle et collective chez les ruminants : Application au diagnostic sérologique de la fièvre Q chez les ruminants domestiques (une publication parue, un manuscrit en préparation)	terminé
ZOOJEU	Un jeu sérieux pour élaborer des scénarios de prévention et de gestion des zoonoses : exploration de la méthode sur l'exemple de la fièvre Q (démarré en 2021, partenaire en tant qu'expert fièvre Q côté animal)	en cours
WGSCOX	Etudes bio-informatiques sur les données génomiques de <i>Coxiella burnetii</i> : caractéristiques de diversité	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du CNR

Rickettsies, *Coxiella* et *Bartonella*

Organisme porteur du CNR

IHU Méditerranée-Infection à Marseille

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Implication sur les investigations en santé publique, coordonnées par la DGS et la DGAL, concernant des situations de cas humains groupés ou de situations critiques dans des sites ouverts au public.

Un groupe Fièvre Q d'investigation (GI) au sein de la Plateforme ESA a été créé pour une mobilisation encore plus concertée et plus réactive sur l'exploration et la gestion au niveau des élevages. Ce GI devra aussi s'attacher à partager des retours d'expériences pour prendre en compte le plus en amont possible les réflexions des deux volets, à la fois santé animale et santé humaine.

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Une convention de partenariat scientifique avec le CNR est établie (depuis 2020). La collaboration avec le CNR va permettre de progresser dans une approche « One Health » préventive, plus particulièrement sur la comparaison des génomes de souches environnementales ou issues d'animaux (tiques comprises), versus de patients, et sur les

méthodes de génotypage, pour une meilleure compréhension des conditions d'émergence des cas humains et d'amplification en épidémie.

Le développement de PCR ciblées pourrait être nécessaire pour certaines investigations ou une surveillance de souches avec des profils particuliers.

Un projet est envisagé pour la réalisation de séquençages directement sur des ADNs extraits de prélèvements environnementaux (séquençage par Nanopore ou hybride Nanopore et Illumina, technique SWGA (Selective Whole Genome Amplification) et optimisations d'étapes préalables rapides).

Egalement, cette collaboration inclut de poursuivre le développement et l'évaluation d'outils sérologiques adaptés à la recherche des réservoirs bactériens chez d'autres espèces que les ruminants domestiques.

Depuis 2018, des échanges ont lieu aussi dans le cadre d'une enquête sérologique chez les donateurs de sang pour le projet multipartenarial ExpAirCox. En 2021, une seconde enquête a été envisagée dans la zone des Pyrénées Atlantiques en vue de comparaison. Ce secteur a connu une alerte en 2019 dans un lycée agricole.

Ces connaissances et outils devraient contribuer à mieux comprendre l'émergence d'épisodes humains et les scénarios de transmission (zones à risque, attribution de sources, effets de facteurs environnementaux sur l'exposition, caractéristiques des souches).

Transfert de matériel biologique

Oui

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

Laboratoire de Référence OIE

Intitulé(s) officiel(s)

Fièvre Q

Annexe

Liste des publications et communications 2021 dans le cadre du mandat de LNR Fièvre Q animale

Publications destinées aux professionnels ou au grand public ('journal article', classement « RPro »)

Lurier, T., E. Rousset, F. Ayrat, E. Jourdain et C. Barde. 2021. "Fièvre Q : De la fiabilité des tests sérologiques." *La semaine vétérinaire* 1902: 26-27.

Lurier, T., E. Rousset, F. Ayrat, E. Jourdain et V. Herve-Quartier. "Fièvre Q : Bonne fiabilité des tests sérologiques." *Réussir la chèvre Technique Santé*. 365, juillet-août 2021.

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

Lurier, T., E. Rousset, P. Gasqui, C. Sala, C. Claustre, D. Abrial, P. Dufour, R. de Crémoux, K. Gache, M-L. Delignette-Muller, F. Ayrat et E. Jourdain. 2021. "Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants." *Vet Res* 52 (1): 56 <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00926-w>.

Mioni, M. S. R., L. C. Henker, W. S. R. Teixeira, M. P. Lorenzetti, M. B. Labruna, S. P. Pavarini, D. Driemeier, E. Rousset, K. Sidi-Boumedine, R. Thiéry et J. Megid. 2021. "Molecular detection of *Coxiella burnetii* in aborted bovine fetuses in Brazil." *Acta Trop* 227: 106258. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106258>.

Rousset, E., A. Couesnon et A. Ciervo. 2021. "Chapter on Q fever In: European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC) Annual EU One Health zoonosis report, The European Union One Health 2020 Zoonoses Report | EFSA (europa.eu) " *EFSA Journal* 19 (12): 275-280. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6971>.

Ouvrages et Chapitres d'ouvrage ('book' ou 'book section')

Communications nationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Fournier, P., X. Lafarge, M. Perroquin, R. Pouget, M. Robert, B. Amphoux, L. Luciani, D. Abrial, I. Lebert, E. Rousset et E. Jourdain. 2021. "Séroprévalence de la fièvre Q chez les donneurs de sang de l'agglomération niortaise, bassin d'élevage caprin récemment confronté à des cas humains groupés." Congrès de la Société Française de Transfusion Sanguine (SFTS), Marseille, 24- 26 novembre 2021.

Jourdain, E., M. Treilles, S. Barry, C. Maingourd, M. Massot, V. Thibaut-Poisson, F. Tardy, P. Chaigneau, M. Robert, R. Cenicerros, M. Tabouret, J. Vialard et E. Rousset. 2021. "Extraction d'ADN et amplification PCR sur des poussières prélevées en élevages de ruminants et en lieux publics : exemple du projet EXPAIRCOX." Rencontres nationales de santé publique vétérinaire et environnementale. Tours, France, 30 septembre - 1^{er} octobre, 2021.

Lurier, T., E. Rousset, P. Gasqui, M. L. Delignette-Muller, F. Ayrat et E. Jourdain. " A probabilistic approach based on latent class models to interpret Q fever serological test results at the individual and herd levels in domestic ruminants." Journée scientifique de l'Ecole Doctorale SVSAE. 27 et 28 Mai 2021.

Lurier, T., E. Rousset, P. Gasqui, M-L. Delignette-Muller, F. Ayral et E. Jourdain. 2021. "Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique pour évaluer de façon probabiliste les statuts infectieux à l'échelle individuelle et collective chez les ruminants : Application au diagnostic sérologique de la fièvre Q chez les ruminants domestiques." Réunion d'avancement USC1233, VetAgroSup, Lyon, France, 29 janvier 2021.

Lurier, T., E. Rousset, P. Gasqui, C. Sala, C. Claustre, D. Abrial, P. Dufour, R. de Crémoux, K. Gâche, M. L. Delignette-Muller, F. Ayral et E. Jourdain. 2021. "Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants" 17ème Congrès des Microbiologistes du Pôle Clermontois, Clermont Ferrand, 8 avril 2021.

Lurier, T., E. Rousset, C. Sala, K. Gache, M. L. Delignette-Muller, E. Jourdain et F. Ayral. 2021. "Incertitude diagnostique des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques". Agrowebinaire, webinaire organisé par Agreenium et Acta : "Plateforme d'épidémiologie en santé animale et zoonoses". France, 14 décembre 2021.

Tabouret, M., M. Treilles, R. Lamothe, K. Sommier, R. Ceniceros, R. Pouget, X. Lafarge, P. Fournier, E. Ramillien, X. Fourt, P. Cayre, E. Rousset et E. Jourdain. 2021. "Fièvre Q : état d'avancement du projet EXPAIRCOX sur les risques de transmission et la perception de ces risques. 35° Comité Technique du Cluster REXCAP (Réseau d'Excellence Caprine) «Etat des lieux et enjeux sanitaires en filière caprine en Grand-Ouest », Visio Conférence. 3 mars 2021."

Communications internationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Conférences sur invitation

Rousset, E. 2021a. "Diagnostic methods for Q fever in ruminants: contributions to the validation of performances and to their harmonization. Meeting of the National Reference Laboratory of Chlamydiae, Paratuberculosis, Bovine tuberculosis and Q fever (FLI)." Web conferences. Jena, Allemagne, 21-23 avril 2021.

Rousset, E. 2021b. "LNR fièvre Q et réseaux de laboratoires : une association symbiotique." *Journée Anses des LNR et réseaux de laboratoires agréés en santé animale. Session - Retours d'expérience : collaborations entre LNR et laboratoires de leurs réseaux.* Maisons Alfort, France, 27 mai 2021.

Jourdain, E., M. Tabouret, M. Treilles, P. Cayre, R. Lamothe, K. Sommier, R. Ceniceros, R. Pouget, X. Lafarge, E. Ramillien, X. Fourt, S. Barry, D. Abrial, I. Lebert, X. Bailly et E. Rousset. 2021. "Présentation du projet transdisciplinaire EXPAIRCOX visant à l'amélioration des connaissances sur l'EXPosition Aérienne des professionnels agricoles et de la population générale à *Coxiella burnetii* : études épidémiologiques et sociologiques dans une région régulièrement confrontée à la fièvre Q." Webinaire coanimé par l'UMT PSR et l'OMACAP (ANICAP). France, 14 octobre, 2021.

Autres (thèses, rapports de projets, d'expertise, et documents d'appui scientifique et technique)

Lurier, T. 2021. "Evaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique des tests utilisés pour le dépistage sérologique des infections par *Coxiella burnetii* chez les ruminants domestiques." Doctorat, VetoAgroSup Lyon.