

## Chapitre III

## Le Laboratoire National de Santé

01.	Division d'anatomie pathologique
01.bis	Service du registre morphologique des tumeurs (RMT)
02.	Division de bactériologie et parasitologie
02.bis	Service épidémiologique des maladies infectieuses (SEMI)
03.	Division de cytologie clinique
04.	Division d'hématologie
05.	Division de virologie, immunologie et cytogénétique
05.bis	Service d'immunologie
06.	Division de chimie biologique et hormonologie
06.bis	Service d'hygiène du milieu et de surveillance biologique
07.	Division de chimie toxicologique et pharmaceutique
07.bis	Service du contrôle des médicaments
08	Division du contrôle des denrées alimentaires
09	Service d'identification génétique (SIG)

D'après la loi du 21 novembre 1980, le Laboratoire national de santé a pour mission:

- d'étudier les problèmes d'épidémiologie et d'hygiène concernant la santé publique;
- d'effectuer, sur demande des autorités publiques, des collectivités et des particuliers, des travaux de laboratoire se rapportant à l'hygiène et à la médecine humaine;
- d'assurer le contrôle des denrées alimentaires et les analyses de laboratoire qui s'y rapportent;
- d'effectuer des analyses toxicologiques de laboratoire ainsi que les analyses de laboratoire concernant le contrôle des médicaments;
- de collaborer sur le plan national et international, à l'élaboration et à l'application de la politique sanitaire;
- d'exécuter des travaux de recherche intéressant ces divers domaines et d'assurer en collaboration avec les laboratoires des établissements hospitaliers et les laboratoires médicaux privés du pays, l'élaboration et l'harmonisation de méthodes et de techniques de laboratoire.

## 01. Division d'anatomie pathologique

### Missions

La division d'anatomie pathologique a pour but :

- le diagnostic du cancer et des lésions précancéreuses dans les différents organes d'un patient.
- le diagnostic de lésions inflammatoires banales ou spécifiques et des lésions pseudo-tumorales.
- le diagnostic de malformations.

### 1. Activités

En 2012 ont été techniqués et interprétés 78.677 cas de biopsies, frottis non-gynécologiques et pièces opératoires de 53.048 patients(es). Ce travail correspond entre autres à 180.295 coupes histologiques, 9.335 frottis cytologiques non-gynécologiques, 31.521 lames avec des colorations spéciales.

Parallèlement ont été réalisés 313 blocs pour des examens extemporanés préopératoires intéressant 214 patients, 16.823 examens immunohistochimiques et 214 blocs de paraffine pour 16 cas d'autopsies médicales à visée scientifique.

Dans le cadre des démarches d'assurance de qualité, l'équipe de la division a participé aux tests de contrôle de l'Association Française d'Assurance de Qualité en Anatomie et Cytologie Pathologique (AFAQAP). Les tests en question intéressaient aussi bien les procédures techniques standards (H.E.) que les techniques spéciales histochemiques (P.A.S. et réticuline) et immunohistochimiques (récepteurs hormonaux oestrogéniques et progestéroniques respectivement la surexpression de la protéine HER-2/neu).

### 2. Conclusion

Il y a une augmentation globale de 4% du nombre de patients/comptes rendus, une augmentation du nombre des biopsies de 6% ainsi qu'une augmentation de 5% du nombre des coupes histologiques et des examens immunohistochimiques par rapport à l'année 2011.

## 01.bis Service du registre morphologique des tumeurs

### Missions

Le Registre Morphologique des Tumeurs (RMT) a pour premier but celui de collecter les données nécessaires pour établir les statistiques annuelles des nouveaux cas de cancer diagnostiqués au Luxembourg sur des bases morphologiques à partir des résultats des examens de pathologie fournis par les divisions d'anatomie pathologique et d'hématologie.

### 1. Activités

- Dans le cadre de l'assurance qualité en anatomie pathologique il y a eu révision quotidienne de tous les comptes-rendus et le cas échéant des coupes et frottis avec des résultats douteux ainsi qu'un enregistrement de la nature et du nombre des changements à saisir.
- Révision de 53.048 dossiers de patients comportant 78.677 comptes-rendus en relation avec d'éventuels antécédents (soit 4.815 nouveaux cas de cancer et informations complémentaires pour 5.527 cas connus).
- Etablissement des statistiques annuelles des nouveaux cas de cancer diagnostiqués au Luxembourg et vérifiés sur des bases morphologiques.
- Pour le programme mammographie il y a eu révision mensuelle d'une liste de femmes nécessitant une procédure diagnostique (groupe d'âge de 50 à 69 ans).
- Documentation des procédures internes du registre en vue d'une future certification de la division d'anatomie pathologique.

### 2. Publications

- Le Cancer au Grand-Duché de Luxembourg 1980-2009. R. Scheiden, K. Abeywickrama (éditeurs) [en cours d'impression].
- Registre Morphologique des Tumeurs: nouveaux cas de cancer, année 2010, Luxembourg. C. Capesius, R. Scheiden, P. Groff, B. Golinska, C. Wehenkel, J.P. Juchem.
- P. Pescatore, R. Scheiden, K. Abeywickrama, C. Capesius, M. Braun. Evolution of colorectal cancer epidemiology in a setting of opportunistic screening. A 20 year national survey in Luxembourg. Acta Gastroenterol Belg. 2013, 76 (1).

### 3. Conclusion

A part la saisie et l'évaluation statistique à visée épidémiologique des cas de cancer diagnostiqués par des moyens morphologiques au Luxembourg, les activités en 2012 du RMT se sont axées aussi comme les années précédentes surtout sur des études d'assurance de qualité dans le domaine de l'anatomie pathologique.

## 02. Division de bactériologie et parasitologie

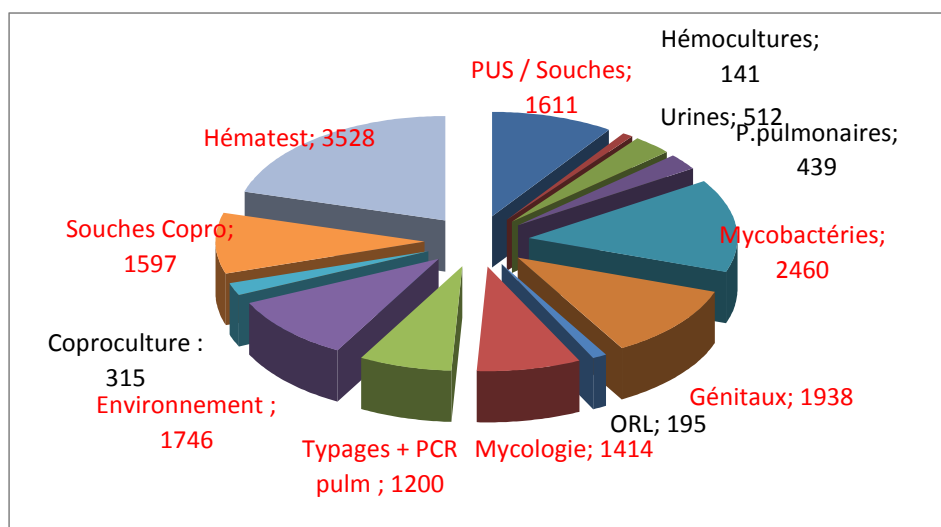
- Missions
- Diagnostic de maladies bactériennes, mycologiques et parasitaires par recherche de pathogènes et/ou mise en évidence d'anticorps spécifiques ;
- caractérisation moléculaire et phénotypique de pathogènes ayant un intérêt de santé publique (*MRSA*, *C.difficile*....) ;
- laboratoire de référence en mycobactériologie (tuberculose et mycobactéries atypiques) ;
- laboratoire accrédité ISO/IEC 17025 pour l'identification, le sérotypage et l'antibiogramme des Salmonelles ;
- surveillance de la colonisation des installations sanitaires par les Legionella ;
- support analytique et logistique au programme de dépistage du cancer du colon.

### 1. Activités

#### 1.1 Aperçu général

- 17.096 demandes ont été traitées en 2012
- Certains postes de travail se détachent vraiment par leur volume d'activité (en rouge sur le graphique). Par rapport à 2011, ces postes ont tous connus une augmentation d'activité, à l'exception de la recherche de légionelles dans les eaux et des Hématests
- 

Recherche de mycobactéries :	+ 37%
Prélèvements génitaux :	+ 31%
Analyses de Mycologie	+ 14%
Typages moléculaires ( <i>MRSA</i> , <i>C.difficile</i> ) + PCR pulm :	+ 5%
Souches Copro ( <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Yersinia</i> ...)	+ 25%
Analyses de Pus + souches :	+ 4%
Détection des légionelles dans les eaux :	- 17%
Programme Dépistage cancer colon (Hématest)	- 9%



- Au total, ce sont 40.931 actes qui ont été réalisés sur l'année 2012, soit une augmentation de 5% par rapport à 2011.

## 1.2 Surveillance de pathogènes spécifiques

- Dans le cadre de la surveillance de pathogènes spécifiques, 425 souches de *Staphylococcus aureus méthicilline résistant* (MRSA) ont été génotypées et le ribotypage de 335 souches de *Clostridium difficile* a été effectué. Par ailleurs, 243 entérobactéries multi-résistantes par production d'ESBL ont été caractérisées.
- Dans le cadre du projet HypoCamp, projet piloté pour la 2<sup>e</sup> année consécutive par le SEMI, 784 antibiogrammes *Campylobacter* ont été réalisés.
- Une collaboration régulière s'est mise en place entre le Centre médico-social de Luxembourg ville, celui d'Esch-sur-Alzette, l'Inspection Sanitaire et notre division, pour la déclaration et le suivi des cas de tuberculose au Luxembourg.

## 1.3 Alerte européenne aux entérobactéries productrices de carbapénémases

- Une alerte européenne concernant l'émergence de bactéries résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémases a été lancée début 2012.
- Un groupe de travail rassemblant l'ensemble des microbiologistes du pays s'est constitué et a élaboré un 'consensus national' de dépistage de ces souches.
- Parallèlement, la division a aussitôt mis au point des méthodes moléculaires permettant de confirmer les cas suspects. 58 analyses ont ainsi été réalisées.

## 1.4 Assurance Qualité

- Dans le cadre de l'accréditation de l'activité 'sérotypage et antibiogramme salmonelles', un audit interne a été réalisé en décembre 2012, pour évaluer la qualité du système mis en place.

## 2. Divers

- Les préparatifs pour le déménagement à Dudelange ont demandé, déjà en 2012, beaucoup de temps et d'investissement de la part du personnel.
- L'ensemble du personnel a été formé sur le Maldi-Tof, permettant désormais son utilisation en routine.
- La division a participé, avec succès, à plusieurs contrôles de qualité nationaux et internationaux.
- Comme chaque année, la division a accueilli et encadré 2 stagiaires futurs technologues de laboratoire (ATM).

## 3. Conclusion

- En 2012, au total 17.096 demandes d'analyses ont été adressées à la division de bactériologie et parasitologie. Ceci correspond à 40.931 actes réalisés, soit à une augmentation de 5% par rapport à 2011.
- Une grande partie de ces analyses est effectuée à visée 'Santé Publique'.

## 02.bis Surveillance et Epidémiologie des Maladies Infectieuses (SEMI)

- Missions
- Surveillance de maladies infectieuses d'un intérêt de santé publique particulier (notamment au niveau européen par l'European Center for Disease Control (ECDC), p.ex. pathogènes entériques et grippe ;
- maintien d'un registre des maladies infectieuses ;
- détection d'épidémies et notification des autorités sanitaires compétentes ;
- soutien épidémiologique et microbiologique pour caractériser les pathogènes à l'origine d'une épidémie afin d'identifier/retracer la source ;
- échange de données avec les autorités sanitaires compétentes (inspection sanitaire, administration des services vétérinaires, OSQCA, ASTA, ECDC, OMS) ;
- développement d'une microbio-banque contenant des souches bactériennes à des fins épidémiologiques et scientifiques (d'origine humaine et non humaine).

### 1. Activités

#### 1.1. Activités de laboratoire

##### 1.1.1. Campylobacter

- Caractérisation moléculaire de 1.335 souches de *Campylobacter* (+20,4% par rapport à 2011) dont 597 souches d'origine humaine (-15%), 153 souches vétérinaires/alimentaires, 585 souches environnementales. Identification/Confirmation par PCR de l'espèce sur 683 souches, essentiellement celles d'origine environnementales et toutes les souches présentant des profils atypiques en spectrométrie de masse (MALDI-TOF).
- Caractérisation par MLST, *gyrA* et *porA* (séquençage de 9 gènes) de toute la collection de souches reçues (12 015 analyses) dans le cadre du projet de recherche HypoCamp financé par le FNR (C09/BM/09) et de la Priorité Nationale définie par les autorités compétentes du pays (INSan) sur la thématique « Campylobacter ».

##### 1.1.2. Salmonelles

- Caractérisation moléculaire de 231 souches de salmonelles (+21,6% par rapport à 2011) dont 147 souches d'origine humaine (+22,5%), 26 souches vétérinaires, 13 souches alimentaires, 9 environnementales, 5 d'aliments pour animaux et 31 souches de référence. Méthodes utilisées pour la caractérisation moléculaire : PFGE (99 analyses) ; MLVA sur *S. Typhimurium* (79 tests) et *S. Enteritidis* (53 tests).

##### 1.1.3. Escherichia coli

- Il n'y a pas eu de caractérisation moléculaire de souches VTEC (Vero cytotoxin producing *E. coli*) en 2012. Le SEMI maintient ses compétences en matière de typage des VTEC en participant à l'EQA organisé par l'ECDC 2012-2013 (PFGE et détermination du sous-type des toxines *vtx1* et *vtx2*) de façon à rester opérationnel en cas de recrudescence épidémique.

##### 1.1.4. Listeria monocytogenes

- Etablissement d'une microbio-banque *Listeria* alimentaire pour la surveillance, 275 souches de *Listeria monocytogenes* d'origine alimentaire pour investigation épidémiologique.
- Caractérisation par PFGE de 20 souches alimentaires pour comparaison avec 2 cas humains en 2012 et recherche de liens possibles (source non identifiée).

##### 1.1.5. Influenza

- Séquençage des gènes HA et NA de 21 souches Influenza

## 1.2. Activités de surveillance

### 1.2.1. Pathogènes alimentaires

Les informations ci-dessous ont été transmises pour enquêtes auprès de l'INSan et/ou du LMVE.

- Identification d'un cas groupé de gastro-entérites à *Campylobacter* avec le même génotype (257-1-32) concernant 19 personnes au total au mois d'avril 2012 (source non identifiée).
- Identification d'un lien entre 9 cas humains de Salmonellose (serotype Enteritidis) et des souches vétérinaires provenant de contrôles officiels (juin 2012).
- Enquête sur 2 cas de Listeriose survenus sur une même période (juin 2012). Les données moléculaires montrent clairement qu'il n'y a pas de lien épidémiologique entre ces 2 cas. Les sources n'ont pas été identifiées.
- Identification d'un génotype *Salmonella Enteritidis* récurrent (présent depuis 2010, toujours sur la même période de l'année entre avril et septembre) avec un cluster début juillet (8 cas humains au total en 2012).
- Dans le cadre de la priorité nationale « Campylobacter », participation à un groupe de travail piloté par l'OSQA.

### 1.2.2. Surveillance sentinelle de la grippe

- Collecte et analyse des données cliniques du réseau des médecins sentinelles.
- Mise à jour hebdomadaire de l'évolution de la grippe sur <http://www.lns.public.lu> (33 Bulletins).
- Transfert des données luxembourgeoises vers l'OMS et l'ECDC.
- Collaboration avec partenaires européens sur la modélisation de la grippe.

## 1.3. Activités de recherche et développement

- Poursuite du projet HypoCamp (Environmental sources of Campylobacter infections in Luxembourg) en partenariat avec les CRP-GL et CRP-Santé, financé par le Fonds National de la Recherche (LNS = coordinateur du projet).
- Poursuite de la collecte de données épidémiologiques à l'aide d'un questionnaire envoyé à tous les patients atteints de campylobactériose (participation = 35,7 % pour 2012). En parallèle, une étude « cas témoins » a démarré en juin 2012 pour une durée d'un an.
- Surveillance en temps réel des cas humains par production périodique de rapports de cartes géographiques pour identifier les cas groupés. Mise en place d'un outil statistique pour la détection géographique des clusters (programme SatScan, paramétré pour l'ensemble de la surveillance des maladies infectieuses au Luxembourg).
- Mise en place de la plateforme de séquençage (Next Generation Sequencing).

## 1.4. Activité du registre des maladies infectieuses

- Développement d'une banque de donnée commune pour le département de Microbiologie permettant une analyse statistique en temps réel des analyses et cas de maladies infectieuses. Un programme associé à la base de données permet en plus une analyse statistique de la distribution géographique des cas, la préparation automatique de rapports épidémiologiques et le transfert de données vers l'ECDC et l'INSan. Ce programme est pour le moment constitué de plus de 10.000 lignes de code.

## 1.5. Autres activités

- Participation au Ring test « identification d'espèces » organisé par l'EU-RL *Campylobacter*. Le LNS fait parti des 3 seuls laboratoires Européens (sur 29 labos participants de 21 pays EU) à avoir identifié correctement toutes les souches en test (genre, espèces et sous espèces).
- Organisation d'un essai inter-laboratoire PFGE Salmonelles avec le laboratoire de référence Belge (ISP- Bruxelles).
- Participation à l'étude PFGE Typhimurium, PulseNet International : Global distribution of *Salmonella* Typhimurium subtypes : a PulseNet International Collaborative Project (transfert données épidémiologiques + profils PFGE de souches isolées entre 2006 et 2010).

- Participation à une étude menée par le Technical University of Denmark (DTU) : Genomic epidemiological studies of the global occurrence of *S. Typhimurium* DT104 (envoi d'un panel de 25 souches humaines et non humaine volaille et porc isolés entre 2001-2011 avec le profil de sensibilité/résistance aux antibiotiques ACSSuT).
- Collaboration avec l'Université d'Oxford sur le typage des campylobacters. Dr. Catherine Ragimbeau est nommée « curator » pour 2 bases de données des gènes, *porA* et *gyrA*, sur le website officiel de la MLST.
- Déclaration à l'Inspection Sanitaire du nombre de cas humains reçu au LNS (via les souches isolées et envoyées au laboratoire pour confirmation et/ou caractérisation) pour *Campylobacter*, *Salmonella*, *VTEC*, *Shigella*, *Yersinia* et *Listeria*.
- Représentation nationale auprès de l'European Center for Disease Control (ECDC) à Stockholm, Suède : national microbiology focal point, food and waterborne diseases (FWD), influenza.
- Représentation nationale auprès de EU-RL-Campylobacter (en partenariat avec le LMVE pour l'année 2012).
  - Organisation des pièces communes de biologie moléculaire sur le nouveau site à Dudelange.

### 1.6. Encadrement de stagiaires

- Formation aux techniques de typage moléculaire et séquençage (méthode de Sanger) pour une stagiaire de l'ADEM (6 mois).
  - Encadrement d'un stage Master I pendant 6 semaines : Détection de virus respiratoires  
Optimisation du protocole de séquençage du virus de la grippe.

## 2. Publications et communications orales

- Le point sur les infections à *Campylobacter* au Luxembourg - Données patients & Epidémiologie Moléculaire - Résultats 2011. Catherine Ragimbeau, 2 février 2012. Présentation orale aux Institutions impliquées dans la sécurité alimentaire.
- Priorité Nationale Campylobacter : Surveillance des cas humains – Epidémiologie moléculaire. Catherine Ragimbeau, 13 juin 2012. Présentation orale au 5e colloque OSQA « La sécurité dans mon assiette ».
- *Campylobacter* surveillance in Luxembourg. Catherine Ragimbeau et Serge Losch (LMVE), 3 Octobre 2012. Présentation orale à la réunion annuelle EU-RL Campylobacter Uppsala, Suède.
- Laboratory preparedness for detection of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 in the EU/EEA: capacity building in response to the 2011 outbreak. Mrs. Poly Rosin, Dr Taina Niskanen, Dr. Daniel Palm, Prof. Marc Struelens, Dr Johanna Takkinen, Dr. Flemming Scheutz and National Laboratory Experts for Shiga-toxin producing *Escherichia coli* from the European Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses Network. ESCAIDE 2012 - Oral presentation.
- Investigation of an excess of *Salmonella* Enteritidis phage type 14b and MLVA type 4-7-3-13-10-2-2 in Luxembourg, Belgium and Germany during 2010. Mossong J., Ragimbeau C., Schuh J., Weicherding P., Peetso R., Wildemaue C., Imberechts H., Rabsch W., Bertrand S. Bulletin 2/12 de la société des sciences médicales du grand Duché de Luxembourg.
- Selection and Characterization of a Candidate Therapeutic Bacteriophage That Lyses the *Escherichia coli* O104:H4 Strain from the 2011 Outbreak in Germany. Merabishvili M, De Vos D, Verbeken G, Kropinski AM, Vandenneuvel D, Lavigne R, Wattiau P, Mast J, Ragimbeau C, Mossong J, Scheres J, Chanishvili N, Vaneechoutte M, Pirnay JP. PLoS One. 2012;7(12)
- Laboratory preparedness for detection and monitoring of Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O104:H4 in the European Union/European Economic Area and response to the 2011 outbreak. Poly Rosin, Taina Niskanen, Daniel Palm, Marc Struelens, Johanna Takkinen<sup>2</sup>, and Shiga-toxin producing *Escherichia coli* Experts of the European Union's Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses Network. Soumis à Eurosurveillance, octobre 2012.



### 03. Division de cytologie clinique

#### Missions

La division de cytologie clinique a pour but:

- le dépistage précoce des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus ;
- le dépistage précoce des lésions tumorales ou cancéreuses de l'endomètre ;
- le dépistage de lésions inflammatoires ;
- le dépistage de lésions virales souvent associées à des cancers.

(La division de cytologie clinique assume le volet laboratoire et diagnostique du programme de dépistage précoce du cancer du col utérin initié en 1962 par la Direction de la Santé).

#### 1. Activités

En 2012 ont été techniqués et interprétés 98.981 lames de frottis cervico-vaginaux conventionnels correspondant à 78.355 analyses qui ont été adressées par 97 médecins prescripteurs.

Ainsi, en 2012 ont été diagnostiqués 1.619 frottis lésionnels d'après la définition du système international BETHESDA 2001 pour 78.355 cas envoyés pour dépistage correspondant à 71.971 femmes concernées.

Par ailleurs, la division a continué la méthode immuno-cyto-chimique de détection du bio-marqueur P16 INK4a associé au marqueur de prolifération Ki-67 (Kit CINTEC PLUS). Nous proposons ce test en routine sur tous les frottis lésionnels (ASC-US, ASC-H, AGC-NOS, AGC-NEO, LSIL, HSIL).

Enfin, la division est accréditée depuis le 5 mars 2012 par l'OLAS sous le numéro d'accréditation 1/024 selon ISO 15.189, et a passée avec succès son premier audit de surveillance S1 en date du 18 décembre 2012. Une cytotechnicienne est affectée à mi-temps à la tâche de responsable d'assurance qualité (RAQ).

## 04. Division d'hématologie

### Missions

- Étude, diagnostic et surveillance des états pathologiques affectant le sang et les organes hématopoïétiques (Loi-Cadre LNS, 1980):
- Cytologie du sang et de la moelle osseuse ;
- Hémostase et coagulation du sang ;
- Interprétations médicales de différents bilans et les renseignements écrits ou oraux fournis aux médecins-prescripteurs ;
- Conseil vis-à-vis d'autres laboratoires pour les diagnostics difficiles et/ou complexes ; problèmes techniques.
- Formation de stagiaires de différentes filières.

### 1. Activités Hématologie classique

#### 1.1. Cytologie hématologique

- 2.200 numérations d'éléments figurés du sang ;
- 820 formules sanguines, analyses cytochimiques et recherche de parasites sur frottis ;
- 196 myélogrammes, dont 75 avec des colorations spéciales (Perls, PAS, peroxydase), avec les rapports médicaux détaillés.

#### 1.2. Hémostase et Coagulation

- Environ 1.530 analyses de routine, notamment pour le monitoring des traitements anticoagulants et pour les bilans préopératoires ;
- 2.210 dosages des facteurs de coagulation ;
- 4.650 dosages des inhibiteurs physiologiques de la coagulation

#### 1.3. Validation biologique et médicale des analyses de la biologie moléculaire

#### 1.4. Participation occasionnelle aux prises de sang pratiquées au LNS.

#### 1.5. Accueil de différents stagiaires (futurs techniciens, étudiants).

#### 1.6. Variations par rapport à 2011

- diminution du nombre de numérations-formule sanguine, compensé partiellement par l'arrivée des échantillons de l'Inspection Sanitaire ;
- myélogrammes et analyses cytochimiques sont relativement stables ;
- analyses spéciales dans le domaine de l'hémostase et de la coagulation sont en nette augmentation.

#### 1.7 Conclusion

L'année 2012 a vu une stagnation sinon diminution des analyses de la grande routine, situation due en grande partie aux changements survenus dans le monde de la biologie clinique au Luxembourg et à la baisse du nombre de patients qui s'adressent directement au LNS pour la prise de sang.

La collaboration fructueuse avec l'Inspection Sanitaire pour les demandeurs de la protection internationale a permis de consolider le nombre d'analyses cytologiques.

Plusieurs techniques dans le domaine de la coagulation mises au point en 2011 ont été maîtrisées : les fonctions (agrégations) plaquettaires avec les 7 agonistes, recherche des anticorps anti-héparine TIH-Ac PF4-H dans le cadre d'une thrombopénie, recherche du syndrome des anti-phospholipides

(anticardiolipine et anti-beta2-glycoprotéine IgG et IgM) ; et suscitent beaucoup d'intérêt de la part des médecins-prescripteurs, ce qui explique une nette augmentation de l'activité de coagulation.

Le service a continué le travail en vue d'accréditation du laboratoire selon la norme ISO 15189.

## **2. Cytogénétique onco-hématologique**

### **Missions**

- Étude, diagnostic et suivi cytogénétique et moléculaire des états pathologiques (principalement cancéreux) du sang et des organes affectant l'être humain.

### **2.1 Cytogénétique Onco-Hématologique**

171 cas ont été réalisés en 2012 sur sang et/ou moelle osseuse incluant la mise en culture avec obtention de 1.928 caryotypes et de 456 analyses FISH dans le cadre d'hémopathies malignes avec interprétation médicale.

80 types de sondes FISH différentes spécifiques des loci morbides ont été mises en application en 2012 permettant le diagnostic et le suivi d'un panel très étendu de pathologies cancéreuses.

Pour rappel, l'ouverture du laboratoire d'Onco-Hématologie durant l'année 2010 s'était amorcée avec le traitement de 47 cas suivis en 2011 de 121 cas (incluant 1.017 caryotypes et 207 FISH).

### **2.2 Génétique moléculaire Onco-Hématologique**

862 analyses moléculaires ont été réalisées en 2012 soit sur des prélèvements sanguins /médullaires soit à partir de tissus tumoraux fixés et enrobés en paraffine dont 41 études de clonalité B et T à but diagnostic ou de suivi. 821 analyses moléculaires ont été réalisées dans le but de rechercher des cibles thérapeutiques dont 216 recherches de mutations EGFR (contre 116 en 2011), 352 recherches de mutations KRAS (contre 130 en 2011), 89 recherches de mutations BRAF et 178 recherches de mutations JAK2. La partie analytique de ces analyses est réalisée au laboratoire hémoglobines, sous la responsabilité du Dr. Sibille.

### **2.3 Conclusion :**

L'année 2012 s'est avérée être une année très favorable pour l'ensemble des analyses cytogénétiques et moléculaires avec une augmentation exponentielle des demandes pour les diagnostics moléculaires de thérapie ciblées.

### 3. Hémoglobines

#### Missions

- Diagnostic des maladies héréditaires du globule rouge, en particulier les anomalies de l'hémoglobine à savoir les alpha - et  $\beta$ -thalassémies ainsi que l'identification des mutants de l'hémoglobine (ex. : HbS, HbC, HbD, etc.) ;
- Exécution des analyses génétiques dans le cadre de l'étude du risque thrombotique et dans le diagnostic des hémochromatoses ;
- Pour le compte de la Division d'Anatomo-pathologie recherche de mutations au niveau des gènes k-ras, EGFR et BRAF à partir de coupes histologiques de tumeurs colorectaux, de cancer du poumon ou de mélanome, ceci pour explorer la sensibilité de la tumeur aux anti-EGFR avant traitement ;
- Recherche de la mutation V617F du gène Jak2 dans le diagnostic des syndromes myéloprolifératifs. Recherche des réarrangements des lymphocytes B et T dans les malignités lymphocytaires ;
- Exécution des extractions d'ADN pour les analyses de génétique oncologique qui sont sous-traitées vers différents laboratoires à l'étranger ;
- Conseils vis-à-vis d'autres laboratoires: diagnostics difficiles et/ou complexes; problèmes techniques.

#### 3.1. Hémoglobines

- 579 dossiers examinés : mise en évidence de 181 anomalies nouvelles, dont 99 mutations et 82 thalassémies nouvelles. Parmi les thalassémies, on note 34 alpha-thalassémies génétiquement identifiées dont 6 alpha-thalassémies et 58 beta-thalassémies hétérozygotes ;
- 3 cas d'hémoglobinopathie majeure à savoir : 2 cas d'HbS Homozygote (drépanocytose), une association d'une  $\beta$ -thalassémie avec une hémoglobine E
- 4 cas avec anomalie hétérozygote avec conséquence cliniques pour le patient, à savoir un cas d'HbVolga, deux cas d'HbVancleave et un cas d'HbDallas.

#### 3.2. Analyses génétiques pour explorer le risque de faire des thromboses et pour le diagnostic génétique de l'hémochromatose

- 1.271 patients ont été vus, nécessitant pour chacun entre 1-6 analyses génétiques différentes (recherche de différentes mutations sur plusieurs gènes).

#### 3.3. Cancérologie

- Dans le cadre d'une aide au diagnostic d'une maladie de Vaquez, d'une thrombocythémie essentielle ou d'une myélofibrose, 178 recherches de mutation V617F au niveau du gène JAK2 ont été réalisées.
- Dans le cadre de cancers colorectaux 346 analyses de recherche de mutations au niveau du gène k-ras ont été pratiquées avant thérapie.
- Dans le cadre des cancers du poumon 216 analyses de recherche de mutations au niveau du gène EGFR ont été pratiquées avant thérapie.
- Dans les mélanomes, 89 analyses de recherche de mutations au niveau du gène BRAF ont été pratiquées avant thérapie.
- Notons que la recherche de la mutation V600E au niveau du gène BRAF a été introduite comme nouveau paramètre en 2012 et que la recherche de mutations au niveau du gène EGFR a été reprise du service de la sérologie/virologie à partir de mars 2012.

#### 3.4. Extractions d'ADN pour analyses génétiques envoyées à l'étranger

- 243 extractions ont été réalisées dans le cadre du conseil génétique du Dr DAHAN.

### **3.5 Variations par rapport à 2011**

- Le nombre de dossiers des patients examinés pour anomalie de l'hémoglobine est resté constant. Par contre le nombre d'hémoglobinopathies diagnostiquées est en augmentation par rapport à 2011.
- Les demandes de recherche de mutations dans les cancers est en nette progression.

### **3.6 Conclusion**

- L'année 2012 a vu notre activité s'élargir encore plus vers les méthodes d'analyses en biologie moléculaire, notamment par la mise au point du test BRAF, des réarrangements des lymphocytes B et T et par la reprise de la recherche de mutations au niveau du gène EGFR pour le cancer du poumon. L'étroite collaboration avec la division d'anatomie pathologie, le service onco-hématologie (Dr. Sibille) et le service du conseil génétique (Dr. Dahan) s'est encore étoffée.

#### 4. Conseil génétique

##### Missions

- Diagnostic de prédispositions aux cancers et maladies héréditaires en utilisant les ressources de la génétique clinique.
- L'activité de la génétique clinique et du conseil génétique consiste à aider les familles touchées par une affection génétique à comprendre son origine, son mode de transmission, le risque de récurrence éventuel, les possibilités de dépistage pour les individus à risque et les moyens de diagnostic prénatal. La mission est de donner un service de haute qualité pour le conseil génétique, ceci en collaboration avec les laboratoires de diagnostic de cytogénétique et moléculaire.

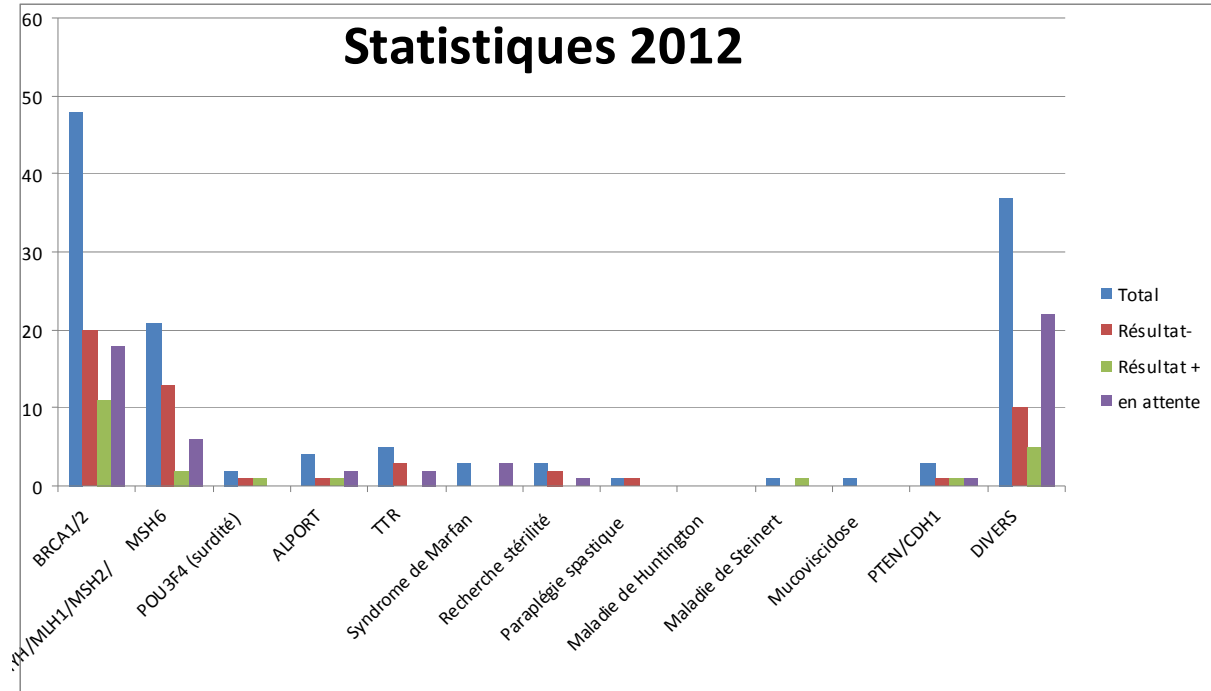
##### 4.1. Activités

- Accueil.
- Etablissement d'un arbre généalogique.
- Relevé des antécédents médicaux.
- Demande de documents médicaux.
- Prise de sang pour analyse(s) de laboratoire diagnostic.
- Envoi de l'ADN aux différents laboratoires.
- Evaluation critique de toutes les données cliniques et laboratoires.
- Elaboration d'un diagnostic/diagnostic différentiel.
- Organisation de consultations pluridisciplinaires au sein des différentes structures hospitalières du pays pour certaines maladies rares génétiques (amylose liée à la transthyréline).
- Développement de filières de soin avec des Centres d'expertises reconnus.
- Evaluation du risque génétique pour la personne elle-même / sa descendance.
- Si souhaité, orientation vers associations.

En 2012, au total 204 patients ont été vus en consultation, dont 116 avec des diagnostics récents, 72 avec des diagnostics plus anciens et 16 patients pour suivi. Il y a eu 219 rapports de consultations réalisées.

Type de gènes étudiés	Nombre de patients
BRCA1/BRCA2 (cancer du sein familial)	48
MYH/APC/MLH1/MSH2/MSH6 (cancer du côlon familial)	21
TTR (amylose)	5
COL4A3, 4, 5 (Syndrome d'Alport)	4
Mucoviscidose	1
DIVERS	37

# Statistiques 2012



## 05. Division de virologie, immunologie et cytogénétique

### Missions

- Diagnostic et épidémiologie de maladies infectieuses par des techniques sérologiques, de culture cellulaire et de biologie moléculaire
- dosage de marqueurs tumoraux
- diagnostic et conseil génétique des anomalies chromosomiques constitutionnelles (prélèvements de liquide amniotique, villosités chorales, lymphocytes, fibroblastes) avec des techniques de banding classiques et de cytogénétique moléculaire (FISH)
- aiguillage des analyses des maladies héréditaires et géniques aux laboratoires correspondants à l'étranger.

### 1. Service de sérologie

- 47.237 analyses de sérologie ont été effectuées au LNS et 892 échantillons ont été envoyés à l'extérieur.
- 342 demandes pour le diagnostic sérologique dans le cadre d'épidémiologie à Hantavirus au printemps et été 2012.
- 1.363 demandes pour la recherche d'une tuberculose latente.

### 2. Service de virologie

Dans sa fonction de Centre National de la grippe (OMS et ECDC) le laboratoire recherche les virus influenza par culture cellulaire et par détection d'acides nucléiques par PCR (Polymerase Chain Reaction). L'année 2012 a été marquée par une activité grippe stable mais retardée par rapport aux années précédentes où trois virus grippaux A(H1N1)v, A(H3N2) et B co-circulent. Suite à l'épidémie de gastroentérite en Allemagne au mois d'octobre 2012, 322 demandes de recherche du Norovirus par PCR dans les selles ont été enregistrées.

#### 2.1. Recherche de virus par culture cellulaire

- 550 demandes d'isolement de virus, dont 71 cultures pour isolement de virus influenza et 479 cultures pour isolement d'autres virus.

#### 2.2 Recherche de virus par PCR

- 3.722 tests de PCR pour détection de virus, dont 870 pour détection de typage de virus influenza (A, H1N1v, H3N2 et B) et 2.852 pour la détection d'autres virus tels que CMV, HSV, VZV, HHV6, EBV, Adénovirus, Norovirus, Polyomavirus, Entérovirus, Hépatite A, B et C, Parvovirus, etc.

### 3. Service de cytogénétique

- 839 analyses de liquides amniotiques
- 446 analyses de lymphocytes
- 71 analyses de fibroblastes
- 20 analyses de villosités chorales
- 347 liquides amniotiques ont aussi été étudiés par une méthode rapide en plus du caryotype : 35 par FISH et 312 par PCR
- Le service a réalisé un total de 1.376 analyses dont 347 par FISH ou PCR.
- Au total 174 demandes d'analyses spécialisées non réalisées au Luxembourg, ont été prises en charge pour envoi à des laboratoires étrangers. Parmi ces envois il y avait 98 PCR, 5 villosités chorales, et 148 autres analyses (mucoviscidose, DAZ, X-fra, SLO, etc.)
- Il y a eu 5 consultations de conseil génétique.



## 5.bis Institut d'Immunologie et Centre Collaborateur de l'OMS

### 1. Introduction

Le département est connu internationalement comme Institut d'Immunologie de Luxembourg. L'Institut est un département du Laboratoire National de Santé et du CRP-Santé. Créé en 1992, il intègre les analyses cliniques avec la recherche scientifique et la formation de Troisième Cycle. Le département fonctionne principalement sur base de projets de recherche compétitifs, financés par les organismes nationaux (Centre de Recherche Public-Santé, Fonds National de Recherche, Ministères) et internationaux (Organisation Mondiale de la Santé, l'Union Européenne, l'industrie diagnostique et les producteurs de vaccins). Les projets de recherche sont gérés par le Centre de Recherche Public-Santé, sur base de la convention du 13 novembre 2001, renouvelée en 2006.

Le département d'immunologie est un des 3 Centres Collaborateurs de l'OMS pour la Rougeole et le Centre de Référence Européen pour la Rougeole et la Rubéole. L'Institut fait partie du *Forschungsinstitut für Psychobiologie* de l'Université de Trèves et de l'Ecole doctorale BIOSE de l'Université de Nancy ainsi que de la Faculté de Médecine de l'Université de Saar (Homburg). Le département dirige depuis fin 2011 le LaoLuxLab, Institut Pasteur du Laos à Vientiane, travaillant dans la recherche sur des différents virus. Aujourd'hui, le département d'Immunologie compte plus que 30 chercheurs, ingénieurs, techniciens et étudiants en thèse de doctorat. En 2012, le département a produit 22 publications dans des revues scientifiques internationales et des chapitres dans des livres standards plus 7 articles sous presse (ce qui porte le nombre des publications à plus de 240 au total). Les chercheurs de l'Institut ont fait 61 présentations aux congrès (plus de 790 au total dans 50 pays). 3 doctorants ont défendu leur thèse en 2012 et 2 étudiants ont soumis leur thèse au courant de 2012, dont la défense aura lieu en 2013. Le 57ième doctorant a commencé ses recherches en 2012; 11 thèses (PhD) sont en cours.

### 2. Principaux axes de recherche

Les missions et activités scientifiques du département s'orientent autour des problèmes de santé publique liés à l'immunologie et l'épidémiologie moléculaire des agents infectieux : Surtout dans le domaine de l'immunologie des paramyxovirus, le département jouit d'une réputation nationale et internationale : L'OMS fait appel à notre expertise scientifique en tant que Laboratoire National de Référence pour la Rougeole et la Rubéole, Centre de Référence Européen de l'OMS pour la Rougeole et la Rubéole, Centre Collaborateur de l'OMS pour la Rougeole.

Le département a continué ses activités de surveillance de la grippe aviaire en Europe et en Afrique et en Asie. L'expertise du département en épidémiologie moléculaire est valorisée au niveau national dans le cadre de la surveillance des maladies virales et aussi en cas d'éruptions de maladies infectieuses (grippe aviaire, hépatite B et C, influenza, norovirus, et les pathogènes des tiques transmis à l'homme, et autres). Le département a joué un rôle important dans la surveillance du nouveau H1N1 d'origine porcine. Des études séroépidémiologiques ont été conduites sur les individus avec contact professionnel avec les porcs.

Les mécanismes de régulation du récepteur des glucocorticoïdes (GR): Le GR est un récepteur nucléaire avec de multiples effets sur le système immunitaire et est un médiateur important de la réponse au stress. Nous examinons la structure complexe du gène GR, l'utilisation différentielle des promoteurs et les facteurs intervenant dans la régulation de la transcription, de la translation et les interactions post-translationnelles. Ce domaine fait l'objet d'une collaboration avec l'Université de Trèves, où l'Institut est un département du *Forschungsinstitut für Psychobiologie*.

Stratégies vaccinales contre les agents cancérigènes: Nous avons développé un conjugué de la toxine de la diphtérie avec le carcinogène benzo(a)pyrène (BaP) qui induit des anticorps intervenant dans la pharmacodynamique et la pharmacocinétique du BaP. Nous avons démontré que les anticorps réduisent les effets néfastes du BaP sur le système immunitaire. Les anticorps contrôlent aussi les effets pharmacologiques du BaP sur les récepteurs NMDA impliqué dans de nombreuses fonctions du cerveau. L'étude des effets des anticorps au niveau de l'adduction du BaP à l'ADN sont en cours.

Programmation périnatale du système immunitaire: L'environnement périnatal et les événements d'enfance peuvent avoir des conséquences importantes sur le comportement adulte et la vulnérabilité à certaines maladies. Notre groupe étudie également les effets à long terme d'événements précoces, tels que les maladies infectieuses infantiles, sur le système immunitaire. En particulier, nous nous intéressons au rôle de la méthylation de l'ADN dans la programmation périnatale du système immunitaire.

### **3. Compétences scientifiques / Méthodologies appliquées**

Immunologie et biologie cellulaire: hybridome de cellule T et B, T and B cell epitope mapping, différent format d'immuno assay, cytométrie de flux and cell sorting, Pepscan, cytokines par ELISA et RT-PCR, microsphères.

Virologie et biologie moléculaire: *Next Generation Sequencing*, culture et production de virus, tests sérologiques, génotypage, analyse phylogénétique, séquençage, PCR à temps réelle ; laboratoire de biosécurité de niveau 3, animalerie SPF.

Chimie : synthèse de peptides, dérivatisation et conjugaison de haptènes, HPLC, Electrospray mass spectrométrie (ion trap).

Plateformes technologiques : Specific pathogen free animal facility; synthèse et analyse des peptides ; plateforme protéomique : 2-DIGE, MALDI-TOF spectrométrie de masse, LC-MS typhoon 2D scanner, automated digester.

### **4. Nominations, conférences organisés, et autres « highlights »**

12.2012 Défense de thèse de doctorat de Chantal Snoeck, étudiante de l'Institut à l'Université de Nancy (« Molecular epidemiology of avian viruses in Africa, Asia and Europe ». Université de Nancy»).

12.2012 Dr. Margaret Chan, Directeur Général de l'Organisation Mondiale de la Santé OMS, a rendu visite au Centre Collaborateur de l'OMS et le Centre Européen de Référence de l'OMS pour la rougeole et la rubéole au Luxembourg.

12.2012 Nomination par le Fonds National de la Recherche de Linda Theisen, étudiante en doctorat du LNSI pour participer au *63<sup>rd</sup> Meeting of Nobel Laureates*.

12.2012 Soumission de thèse de doctorat par Slavena Trifonova, étudiante du LNSI à l'Université de Trèves.

11.2012 Soumission de thèse de doctorat par Sara Vernocchi, étudiante du LNSI à l'Université de Trèves.

11.2012 François Hollande, Président de la République Française et sa délégation rend visite au laboratoire du LNSI, le LaoLuxLab à Vientiane, Laos.

11.2012 Jean-Claude Juncker, Premier Ministre du Luxembourg, Marie-Josée Jacobs, Ministre de la Coopération, Maddy Delvaux- Stehres, Ministre de l'Education et leurs délégations rendent visite au laboratoire du LNSI, le LaoLuxLab à Vientiane, Laos.

11.2012 Nomination du Prof. Claude P. Muller et Oliver Hunewald comme représentants luxembourgeois au *BMBS COST Action BM1006 Next Generation Sequencing Data Analysis Network*.

11.2012 16<sup>ième</sup> conférence annuelle SarLorLux sur la recherche des virus à l'Université de Nancy, France. Cette série de conférences a été initiée par le LNSI il y a presque 20 ans, et regroupe des chercheurs du LNSI, de l'Université de Nancy et de l'Université de Homburg.

11.2012 Nomination par l'OMS de Dr. Mick Mulders, un ancien LNSI, comme *Global Laboratory Coordinator in the IVB/EPI Team* au siège de l'OMS à Genève, Suisse.

10.2012 Le président du Lions International Wayne A. Madden, visite le LNSI pour s'informer sur les activités de l'Initiative de Vaccination de la Rougeole, dont le Lions International est un partenaire important.

09.2012 Nomination de Claude P. Muller au *ECDC Coordination Group for the Measles, Mumps and*

*Rubella (MMR) Surveillance Network.*

08.2012 Le conseil d'administration de la FWO a renommé CP Muller au comité d'experts FWO du panel MED 3 sur les maladies infectieuses humaines et animales (janv. 2013-déc. 2015).

05.2012 LNSI a à nouveau atteint le score parfait du « proficiency panel » (contrôle de qualité) pour la grippe aviaire et maladies de New Castle ainsi que pour la rubéole et la rougeole.

03.2012 Défense de thèse de doctorat d'Anna Reye, étudiante du LNSI à l'Université de Homburg/Saar («Prevalence and Diversity of Tick-Borne Pathogens from Central and Eastern Europe as well as West Africa»).

14.-16.03.2012 Le LNSI organise et invite à la 1<sup>ière</sup> réunion de travail au Luxembourg des laboratoires de référence de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), de la Fédération de Russie et des anciennes républiques soviétiques.

01.2012 *The New Scientist* fait une interview avec CP Muller comme expert sur la recherche de la rougeole et rubéole.

01.2012 Inauguration du LaoLuxLab, dirigé par le LNSI et l'Institut Pasteur de Vientiane, Laos par le Ministère de la Santé du Laos en présence de nombreux ambassadeurs internationaux, parmi eux M. Marc Thill, Ambassadeur du Luxembourg en Thaïlande.

01.2012 Défense de thèse de doctorat de Lei Cao, étudiante du LNSI à l'Université de Trèves, Allemagne (« Transcriptional control of the hGR: Identification and analysis of alternative promoter regions»).

## **5. Publications 2012**

M Jacoby, S Gohrbandt, V Clause, NH Brons, CP Muller. Interindividual variability and co-regulation of DNA methylation differ among blood cell populations. *Epigenetics* 7, 1421-1434, 2012.

LD Rodríguez Lay, MC Villalba, MB Corredor, SS Frómata, JM Hernández, SD Carrera, MS Wong, M Samada, MB Núñez, LV Alonso, HP da Silva Filho, JM Hübschen, MG Reis. HCV genotype determination in monoinfected and HIV co-infected patients in Cuba. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 106, 711-717, 2012.

SR Witzmann, JD Turner, SB Meriaux, OC Meijer, CP Muller. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor promoter 17 in adult rats. *Epigenetics* 7, 1290-1301, 2012.

TM Kranz, S Ekawardhani, MK Lin, SR Witzmann, F Streit, U Schuelter, H Bauer, D Henseler, JD Turner, CP Muller, A Reif, AB Schote, J Meyer. The chromosome 15q14 locus for bipolar disorder and schizophrenia: Is C15orf53 a major candidate gene? *J Psych Res* 46, 1414-1420, 2012.

CJ Snoeck, GF Komoyo, BP Mbee, E Nakouné, A Le Faou, MP Okwen, CP Muller. Epidemiology of chicken anemia virus in Central African Republic and Cameroon *Virology Journal* 9, 189, 2012.

C Lévy, F Amirache, C Costa, C Frecha, CP Muller, H Kweder, R Buckland, FL Cosset, E Verhoeyen. Lentiviral vectors displaying modified measles virus gp overcome pre-existing immunity in in vivo-like transduction of human T and B cells. *Molecular Therapy* 20, 1699-1712, 2012.

MT Schellenberger, N Grova, S Farinelle, S Willième, D Revets, CP Muller. Immunogenicity of a Promiscuous T Cell Epitope Peptide Based Conjugate Vaccine Against Benzo[a]pyrene: Redirecting Antibodies to the Hapten. *PlosONE* 7(5), Epub, 2012.

MH Teiten, A Gaigneaux, S Chateauvieux, AM Billing, S Planchon, F Fack, J Renaut, F Mack, CP Muller, M Dicato, M Diederich. Identification of differentially expressed proteins in curcumin-treated prostate cancer cell lines. *OMICS*, 16(6)289-300, 2012.

JP Lasserre, F Fack, T Serchi, D Revets, S Planchon, J Renaut, L Hoffmann, AC Gutleb, CP Muller, T Bohn. Atrazine and PCB 153 and their Effects on the Proteome of Subcellular Fractions of Human MCF-7 Cells. *Biochim Biophys Acta* 1824, 833-841, 2012.

LL Theisen, CP Muller. EPs® 7630 (Umckaloabo®), an extract from *Pelargonium sidoides* roots, exerts anti-influenza virus activity in vitro and in vivo. *Antiviral Research* 94, 147-56, 2012.

World Health Organization. Anonymous. Mumps virus nomenclature Update 2012. *Weekly epidemiological record* 87, 217-224, 2012.

World Health Organization. Anonymous. Measles virus nomenclature Update 2012. *Weekly epidemiological record* 87, 73-80, 2012.

MA Yermalovich, JM Hübschen, GV Semeiko, EO Samoilovich, CP Muller. Human parvovirus B19 surveillance in patients with rash and fever from Belarus. *J Med Virol.* 84, 973-978, 2012.

AM Billing, D Revets, C Hoffmann, JD Turner, S Vernocchi, CP Muller. Proteomic Profiling of Rapid Non-genomic and Concomitant Genomic Effects of Acute Restraint Stress on Rat Thymocytes. *J Prot.* 75, 2064-79, 2012.

IE Andernach, P Jutavijittum, B Samounry, A Yousukh, T Thammavong, JM Hübschen, CP Muller. A high variability of mixed infections and recent recombinations of hepatitis B virus in Laos. *PlosOne* 2012:7(2) Epub.

CJ Snoeck, NA Gerloff, RI Tanasa, FX Abad, CP Muller. Influenza Virus: Highly Pathogenic Avian Influenza. In: *BSL3 and BSL4 Agents: Epidemiology, Microbiology, and Practical Guidelines*. Editors: M Elschner, S Cutler, M Weidmann, P Butaye. Publisher: J Wiley p. 175-200, 2012.

CJ Snoeck, CP Muller. Influenza Virus: Highly Pathogenic Avian Influenza (practical chapter). In: *BSL3 and BSL4 Agents: Epidemiology, Microbiology, and Practical Guidelines*. Editors: M Elschner, S Cutler, M Weidmann, P Butaye. Publisher: J Wiley p. 328-333, 2012.

AL Reye, OG Arinola, JM Hübschen, CP Muller. Pathogen prevalence in ticks collected from the vegetation and livestock in Nigeria. *Appl Environ Microbiology* 78, 2562-68, 2012.

KH Müller, L Kakkola, AS Nagaraj, AV Cheltsov, M Anastasina, DE Kainov. Emerging cellular targets for influenza antiviral agents. *Trends Pharmacol Sci.* 33, 89-99, 2012.

CP Muller and JR Kremer. Measles – Rubeola. In: *Conn's Current Therapy 2012*. Invited Book Chapter. ET Bope and RD Kellermann, Elsevier Saunders p132-133, 2012.

JM Hübschen and CP Muller. Rubella and Congenital Rubella. In: *Conn's Current Therapy 2012*. Invited Book Chapter. ET Bope and RD Kellermann, Elsevier Saunders p153-155, 2012.

M Hukic, JM Hübschen, M Seremet, I Salimovic-Besic, M Mulaomerovic, N Mehinovic, S Karakas, E Charpentier, CP Muller. An outbreak of rubella in the Federation of Bosnia and Herzegovina between December 2009 and May 2010 indicates failure to vaccinate during wartime (1992-1995). *Epidemiology and Infection* 140, 447-453, 2012.

AL Reye, V Stegnyy, NP Mishaeva, S Velhin, JM Hübschen, G Ignatyev, CP Muller. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different environmental sources in Belarus. *PLOSone* 2012. In press.

J Nedeljković, SR Adrović, B Lazić, V Kovačević, G Lončarević, M Kanazir, Z Šeguljev, V Petrović, V Milošević, N Zakula, I Begović, CP Muller, JM Hübschen. Measles situation in Serbia in an era of measles elimination (period 2007-2009). *Archives of Biological Sciences* 2012. In press.

ST Trifonova, M Gantenbein, JD Turner, CP Muller. The use of saliva for assessment of cortisol pulsatile secretion by deconvolution analysis. *Psychoneuroendocrinology* 2012. In press.

PJ Lech, GJ Tobin, R Bushnell, E Gutschenritter, LD Pham, R Nace, E Verhoeyen, FL Cosset, CP Muller, SJ Russell, PL Nara. Epitope Dampening Monotypic measles virus hemagglutinin glycoprotein in resistance to cocktail of monoclonal antibodies. *PlosOne* 2012. In press.

CJ Snoeck, M Marinelli, E Charpentier, A Sausy, T Conzemius, S Losch, CP Muller. Characterization of Newcastle disease viruses in wild and domestic birds in Luxembourg from 2006 to 2008. *Appl Environ Microbiol* 2012. In press.

CP Muller and JR Kremer. Measles – Rubeola. In: *Conn's Current Therapy 2013*. Invited Book Chapter. ET Bope and RD Kellermann, Elsevier Saunders 2012. In press.

JM Hübschen and CP Muller. Rubella and Congenital Rubella. In: *Conn's Current Therapy 2013*. Invited Book Chapter. ET Bope and RD Kellermann, Elsevier Saunders 2012. In press.

## 06. Division de chimie biologique et hormonologie

### Missions

Exécuter toutes les analyses biochimiques et hormonales. Le service s'oriente vers les examens spécialisés en hormonologie, le dépistage prénatal de la trisomie 21, la détection néonatale de certaines maladies congénitales, le diagnostic et le suivi des maladies métaboliques ainsi que les analyses en rapport avec la médecine préventive.

### 1. Activités

#### 1.1. Analyses biochimiques et hormonales

Le nombre total des analyses effectuées par la division de chimie biologique était de 97.451 en 2012, chiffre en recul de 8% par rapport à l'année précédente. Ceci est dû à une réduction des activités de routine courante, mais ce qui a permis de développer la réorientation vers les analyses spécialisées.

Le volume de travail reste important, avec 65.526 dosages hormonaux exécutés en 2012, en hausse de 6 % par rapport à 2011.

#### 1.2. Le dépistage néonatal en 2012

Dans le cadre de la médecine préventive le service pratique le **dépistage néonatal** de deux maladies métaboliques, la phénylcétonurie et la déficience en MCAD, ainsi que de deux affections endocrines, l'hypothyroïdie congénitale et l'hyperplasie congénitale des surrénales. Un des points forts du programme est la mise en place d'un système de tracking permettant de vérifier si tous les enfants nés au Luxembourg profitent du dépistage. Sur 6.664 enfants nés en 2012, ont été dépistés 6 cas d'hypothyroïdie congénitale, ainsi qu'un cas d'hyperphénylalaninémie, soit un taux de 1 enfant atteint pour 952 nouveau-nés. Grâce à la rapidité des résultats fournis, le traitement des enfants affectés a pu être instauré dans les meilleurs délais.

Le service a participé à plusieurs réunions du groupe de dépistage néonatal en vue d'instaurer le dépistage néonatal de la mucoviscidose.

#### 1.3. Les maladies métaboliques rares

Dans le cadre du diagnostic et du suivi thérapeutique des **maladies métaboliques rares** le service pratique un nouveau programme d'analyses comprenant la détermination des acides aminés, des acides organiques, des mucopolysaccharides et des acylcarnitines. 310 analyses ont été effectuées en 2012. Ces examens n'étaient jusqu'à maintenant pas réalisables au Luxembourg et étaient exécutés dans des laboratoires spécialisés à l'étranger. La mesure de ces métabolites est le complément logique du dépistage néonatal.

#### 1.4. Le dépistage prénatal

En 2012 une progression importante du nombre des **dépistages prénataux** a été enregistrée par rapport à 2011.

Ainsi, en 2012 ont été réalisés 5.109 tests de dépistage (contre 4.782 en 2011), et il y a 260 tests intégrés en cours qui se termineront dans les semaines à venir. Ces 5.109 tests correspondent à 5 paramètres (AFP, Estriol libre, HCG totale et Free-beta HCG, PAPP-A), ce qui fait un total de 18.099 analyses. La part des tests intégrés augmente légèrement (3.370 tests intégrés, soit 66%), comme celle des tests combinés au premier trimestre (743 tests combinés, soit 14.5%), au détriment de celle des triple tests (996 triple tests, soit 19.5%), ce qui est plutôt satisfaisant, compte-tenu des recommandations nationales du Groupe de Travail.

Le nombre de dépistages positifs était de 5.5% (soit 282 cas), tous tests de dépistage confondus, ce qui est conforme aux attentes, bien qu'en légère augmentation.

La division de chimie biologique et hormonologie travaillera à améliorer le retour des issues de grossesse au cours de l'année 2013, grâce à une meilleure collaboration des médecins, gynécologues et pédiatres et continuera de participer à la réunion annuelle des biologistes français agréés pour le dépistage prénatal.

## **06.bis Service d'hygiène du milieu et de surveillance biologique**

### Missions

Les missions du Laboratoire d'Hygiène du Milieu et de Surveillance Biologique (LHMSB) découlent des missions générales, définies dans l'article 1er de la loi du 21 novembre 1980, portant réorganisation de l'Institut d'Hygiène et de Santé Publique et changeant sa dénomination en Laboratoire National de Santé.

Les activités du LHMSB sont orientées sur la détection d'éléments et de substances chimiques dans l'environnement domestique ou professionnel ainsi que sur l'évaluation de leur impact sur la santé. Les analyses de substances organiques volatiles, biocides, retardateurs de flamme, phthalates et autres, sont effectuées sur des échantillons d'air ambiant, sur des échantillons matriciels et sur des produits et objets usuels. L'identification de l'origine d'une exposition permet de réduire et d'améliorer la qualité de vie des personnes concernées.

Dans le cadre de la surveillance biologique de personnes exposées à domicile ou sur leur lieu de travail, des analyses spécifiques de biomonitoring sont effectuées sur des échantillons biologiques (programme de humanbiomonitoring).

Le développement permanent de prestations spéciales permet de répondre aux besoins de l'évolution foudroyante du secteur « environnement et santé ».

### **1. Activités**

#### **1.1. Activités dans le cadre des analyses « environnement et santé »**

En 2012, le nombre d'analyses et de recherches effectuées dans le cadre de la médecine de l'environnement reste élevé. Au total, 37.315 recherches et dosages de substances volatiles, aldéhydes biocides, phthalates, retardateurs de flamme et HAP's ont été effectués.

De nouvelles prestations telles que le dosage des aldéhydes dans l'air ambiant (14 nouveaux paramètres) depuis 2011/2012 ou le dosage de métaux lourds (analyse multiélément) sur des échantillons matriciels (tels poussières p.ex.) ont su compléter notre offre d'analyses.

Ainsi et à titre d'exemples, on peut relever que : 4.2% des échantillons d'air ambiant étaient chargés en formaldéhyde à concentration  $>100\mu\text{g}/\text{m}^3$  ; 9.4% des échantillons matriciels contenaient du Bisphénol A à concentration  $>5\text{mg}/\text{kg}$  ; dans 52.3% des échantillons matriciels la concentration de DEHP dépassait  $100\text{mg}/\text{kg}$  ; 3.7% des échantillons matriciels étaient chargés en DDT, 9.3% en DecaBDE et 13.8% en Perméthrine (conc.  $>1\text{mg}/\text{kg}$ ).

Les services étatiques de la médecine du travail et de la médecine de l'environnement ont été à la base de plus de 85% des demandes d'analyse.

#### **1.2. Programme de surveillance des crèches et garderies pour enfants**

24 crèches et garderies d'enfants furent surveillées en 2012 afin de détecter la présence éventuelle de biocides, retardateurs de flamme, phthalates ou HAP's auxquels pourraient être exposés les plus jeunes.

105 échantillons ont ainsi été transmis au LHMSB pour analyses des mousses de matelas, des poussières domestiques, des produits de nettoyage, des objets usuels ou des tapis.

#### **1.3. Analyses élémentaires**

Le nombre de patients a augmenté de 26.8% en 2012 pour un total de 24.030 recherches (18.945 en 2011) et analyses élémentaires effectuées sur 11.636 échantillons (9.718 en 2011, +19.7%). Le dosage des paramètres accrédités selon ISO 17025 constitue près de 70% des analyses élémentaires effectuées.

Des analyses multi-élémentaires comprenant les dosages de métaux lourds et d'oligo-éléments ont

été réalisées sur différentes matrices telles que cheveux, denrées alimentaires, poussières, etc.

Grâce aux collaborations internes (contrôle des denrées alimentaires, contrôle des médicaments) et externes et suite à l'offre de prestations nouvelles (analyses multiéléments de métaux lourds en milieux environnementaux) le nombre de profils multiéléments a nettement augmenté en 2012 : 139 demandes (2011 : 52) pour 3.997 (2011 : 1.612 dosages)) et en milieux plasmatiques et globulaires (1.328 (2011 : 1.155 dosages ; +15%)).

Des analyses de métaux lourds sur des échantillons de denrées alimentaires, de lait de vache et de poussières domestiques ont été effectuées à la demande et pour le compte de tiers (établissements de contrôle étatiques).

#### **1.4. Surveillance biologique du saturnisme**

Le LHMSB effectue la surveillance biologique de la protection de la santé de travailleurs exposés au plomb (RGD du 30 juillet 2002). Sur ordonnance médicale des services de santé au travail, 437 (+24% p.r. à 2011) dosages de plomb sanguin et de zinc-protoporphyrines ont été effectués.

#### **1.5. Surveillance biologique de l'hydrargyrisme**

Le Triple Test Mercurique (publié en 2004) est devenu un outil indispensable pour l'évaluation de la charge en mercure d'un patient. Ainsi, 44 tests complets et 260 (166 en 2011) analyses de cheveux et de chewing-gum ont été réalisés dans le contexte de l'exposition hydrargyrique. Est à noter que le LHMSB jouit de plus en plus d'une renommée internationale en ce qui concerne ce type d'analyse.

#### **1.6. Surveillance biologique des hémodialysés vis-à-vis de leur exposition à l'aluminium**

La surveillance biologique des patients des centres d'hémodialyse vis-à-vis de leur exposition à l'aluminium est effectuée par notre laboratoire conformément à une Résolution Communautaire. Dans ce cadre et considérant l'intérêt dans le contexte de vaccinations ainsi qu'en pédiatrie 347 analyses d'aluminium sérique (327 en 2011) ont été réalisées en 2012.

#### **1.7. Accréditation à la norme ISO 17025/2005, «Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'essais et d'étalonnage » :**

Au cours de l'année 2012, le laboratoire a fait vivre son système qualité conformément à la norme ISO 17025/2005. Le premier cycle d'accréditation étant venu à terme en février 2011, l'audit de prolongation a confirmé à nouveau la qualité et la compétence du LHMSB.

En vue d'une continuité dans les démarches qualité du LHMSB suite à l'obtention du Prix Luxembourgeois de la Qualité en 2008 (terme de validité 2011), une prise de contact directe avec les principaux clients/partenaires existants et potentiels reste indispensable pour approfondir ou créer de nouvelles collaborations

## **2. Divers**

- collaboration au projet européen « COPHES », UE FP7
- collaboration au projet européen « DemoCOPHES », UE Life+
- présentations et conférences, MS, CRP-GL
- formation externe continue du personnel ; cours INAP, cours OLAS, conférences SLBC, e.a.
- collaborations avec SME-DS, DST-DS, DCA-LNS, CRP-GL, LMVE, LAM, AIB-Vinçotte, e.a.
- participation aux programmes EQAS de la DGKL, Instand, AI-Poitiers, UK-NEQAS, BGIA
- participation aux travaux du Comité d'Accréditation OLAS
- consultance et formations de plusieurs services du LNS dans le cadre de leur accréditation
- encadrement de stagiaires ATM et étudiants, travaux et rapports de fin d'études.
- plusieurs publications scientifiques, posters, présentations et conférences :
  - Bellanger M, Pichery C, Aerts D, Berglund M, Castano A, Cejchanová M, Crettaz P, Davidson F, Esteban M, Exley K, Fischer ME, Gurzau AE, Halzlova K, Katsonouri A, Knudsen LE, Kolossa-Gehring M, Koppen G, Ligocka D, Miklavcic A, Reis MF, Rudnai P,



Tratnik JS, Weihe P, Budtz-Jørgensen E, Grandjean P : *Economic benefits of methylmercury exposure control in Europe: Monetary value of neurotoxicity prevention*. Environ Health. 2013 Jan 7;12(1):3

- Fischer ME : *An introduction to environmental health analytics in Luxembourg*. MD, DSAT, ALSAT, EUROPAEM. Chambre de commerce Luxembourg. 11.-12.04.2012
- Gutleb AC, Fischer ME, Cocco E, Yegles M, Guignard c, Arendt M, Hoffmann L : *DemoCophes in Luxembourg : A small countries perspective*. Poster at the Humanbiomonitoring conference at European presidency of Cyprus, 26.-30.10.2012
- Fischer ME, Gutleb AC, Arendt M : *Human Biomonitoring in Europe – Cophes DemoCophes*. CRP-Gabriel Lippmann. 29.11.2012

### **3. Conclusion**

L'année 2012 se caractérise par une nouvelle forte progression en nombre d'analyses. Les préparatoires liés à construction du nouveau LNS, les développements informatiques (logiciel achat, GLIMS), la formation / l'intégration de nouveaux collaborateurs ainsi que le développement de nouvelles prestations ainsi que la standardisation de certaines procédures d'analyses ont été les champs d'actions principaux.

En vue d'une possible évolution et progression des activités l'organisation en matière de ressources humaines est à considérer comme une priorité pour 2013.

## 07. Division de chimie toxicologique et pharmaceutique

### Missions

- Toxicologie médico-légale : recherche de drogues abusées, de médicaments et toxiques dans les prélèvements biologiques à la demande des autorités judiciaires
- Toxicologie analytique : identification et dosage de stupéfiants.
- Toxicologie clinique: examens sur les prélèvements biologiques dans un but diagnostique en cas d'intoxications aiguës, de TDM et de surveillance

### 1. Activités

#### 1.1. Nombres d'analyses

Les analyses toxicologiques effectuées en 2012 sont résumées ci-dessous:

	Cas	Echantillons
<b>Toxicologie médico-légale :</b>		
Autopsies	76 (86)	673 (723)
Affaires judiciaires sur le vivant	267 (200)	442 (328)
Alcoolémies	303 (350)	303 (350)
<b>Analyse de saisies</b>	477 (495)	1195 (1168)
<b>Toxicologie clinique</b>		
Intoxications	304 (210)	334 (235)
Dépistage urinaire de drogues/médicaments	4807 (4418)	4807 (4418)
Dosage sérique de médicaments « TDM »	778 (815)	778 (815)
Marqueurs d'abus d'alcool (CDT et EtG capillaire)	408 (271)	408 (271)

(entre parenthèses les cas et échantillons reçus en 2011)

#### 1.2. Toxicologie médico-légale

Comparé à l'année 2011 le nombre des autopsies est en diminution (-6,9%) et celui des affaires judiciaires sur le vivant en augmentation (+34,8%) et celui des alcoolémies en diminution (-13,4%)

#### 1.3 Analyses de saisies

Le nombre de cas et d'échantillons de saisies de stupéfiants s'est stabilisé à un niveau très élevé.

#### 1.4. Toxicologie clinique

Le nombre d'échantillons reçus est comparable à celui de 2011. Il faut noter cependant l'augmentation de demandes de dépistage urinaire de drogues / médicaments (+8,8%) et des marqueurs de consommation d'alcool (+150%).

- augmentation pour les demandes d'analyse de drogues/médicaments dans les urines (+8.8%)
- en légère diminution pour les demandes « therapeutic drug monitoring ». (-5,5 %)
- en augmentation pour les demandes d'analyses « intoxications aiguës » (+42 %). Cette rubrique regroupe les demandes d'intoxication proprement dites mais également les demandes de recherche de certains médicaments (benzodiazépines, antidépresseurs, paracétamol, salicylés, alcool) et drogues dans le sang. Souvent les demandes d'analyses ne sont pas

explicités et ils sont alors traités chez nous comme des intoxications.

- en augmentation importante pour les marqueurs d'abus d'alcool (+150%).

### **1.5. Recherche et développement**

Un effort non négligeable a de nouveau été effectué en matière de recherche et de développement des méthodes d'analyses pour la mise au point de nouvelles techniques analytiques et le dépistage de nouveaux médicaments/drogues.

Ceci nous a permis de faire 4 publications dans des revues nationales et internationales et de présenter 7 communications ou posters à des congrès nationaux et internationaux.

### **2. Relations avec ministères de la santé et de la justice, administrations étatiques et autres institutions**

- la division de la pharmacie et des médicaments de la direction de la santé ;
- la division de l'inspection sanitaire de la direction de la santé ;
- la « Jugend an Drogenhëllef » et le programme méthadone ;
- les hôpitaux de Luxembourg ;
- le CRP-Santé ;
- les autres départements du LNS ;
- les autorités judiciaires et les forces de l'ordre.

### **3. Publications en 2012**

#### **3.1. Articles**

Martins Ferreira L, Binz T, Yegles M. The influence of ethanol containing cosmetics on ethyl glucuronide concentration in hair. *Forensic Sci Int.* 10:123-125.2012

Agius R, Ferreira LM, Yegles M. Can ethyl glucuronide in hair be determined only in 3 cm hair strands? *Forensic Sci Int.* 10;218:3-9, 2012

S. Schneider, M. Yegles, M. Vaillant. Influence of legal BAC change on BAC in drivers implicated in car traffic accidents. *Bulletin de la Société Luxembourgeoise de biologie clinique* (sous presse)

A. Gras, M. Yegles, J.-C. Karasi, J.-C. Schmit, C. Seguin-Devaux, S. Schneider. Micellar electrokinetic chromatography for simultaneous quantification of zidovudine, stavudine, lamivudine and nevirapine in human plasma. *Annales de Toxicologie Analytique* (sous presse)

#### **3.2. Posters et communications**

I. Kerekes, M. Yegles, Colouring, bleaching and perming: influence on EtG content. SoHT Meeting Toronto, 25-28 Juin, 2012 (communication)

F. M. Wurst M. Dreher, I. Kunz, R. Hoffmann, V. Auwärter, M. Yegles, Interreg Ergebnisse: Sucht und Alter, Abschlussstagung Interreg Projekt, 4. Mai 2012 (communication)

Staufer K, Andresen H, Kjer S, Yegles M, Schulz K-H, Nashan B, Sterneck M, Assessment of ethyl glucuronide in hair improves evaluation of long-term alcohol abstinence in liver transplant candidates with alcoholic liver disease. *European Society of Organ Transplantation, Dubrovnik, 5-7 Octobre 2012* (communication)

M. Yegles, Résultats DRUGWIPE & drogues en général, Journée Police de Route, Luxembourg, 5 Décembre 2012 (communication)

F. M. Wurst, M. Dreher, V. Schmidt, S. Lang, R. Hoffmann, V. Auwärter, M. Yegles, A. Kühberger, A. Laireiter, I. Kunz Alkohol- und Benzodiazepinkonsum und Folgen bei älteren und hochbetagten Menschen - Ergebnisse aus dem INTEREG Projekt Alter und Sucht. 14. Bayerisches Forum Suchtprävention, Augsburg, 11 - 12. décembre 2012 (communication)

A. Gras, G. Iserentant, C. Lambert, O. Collignon, J.C. Karasi, K. Iranyumviye, T. Binz, K. Klein, S. Schneider, J.C. Schmit and C. Devaux. *The GAC CYP2B6 haplotype is a strong predictor of high*

*plasma efavirenz and 8-hydroxy-efavirenz concentrations in HIV-infected patients from Rwanda.* Poster submitted to 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), March 3-6, 2013, Atlanta, Georgia.

S. Schneider. *L'analyse des stupéfiants.* Séminaires du mercredi du CEPT, 7 novembre 2012, Luxembourg.

## 07.bis Service du contrôle des médicaments

### Missions

Les missions du Service du Contrôle des Médicaments (SCM) telles que définies par la loi du 21 novembre 1980 portant réorganisation de l'Institut d'Hygiène et de Santé publique et changeant sa dénomination en Laboratoire National de Santé, sont:

- d'effectuer les analyses de laboratoire concernant le contrôle des médicaments,
- d'effectuer la recherche concernant la méthodologie analytique,
- de collaborer sur le plan national et international, à l'élaboration et à l'application de la politique sanitaire.

### 1. Objectifs

Les objectifs du Service ont été:

- d'effectuer, en collaboration avec la Division de la Pharmacie et des Médicaments de la Direction de la Santé, des contrôles réguliers d'échantillons prélevés sur le marché luxembourgeois, afin de vérifier leurs conformités par rapport aux spécifications prévues dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché, ceci afin de garantir la sécurité du patient.
- d'effectuer des analyses de produits suspectés de contenir des substances médicamenteuses (médicaments falsifiés/contrefaits, compléments alimentaires, produits d'origine inconnue).
- d'effectuer des analyses pour des particuliers (pharmaciens, médecins, privés).
- de promouvoir par la participation à des groupes de travail au niveau international, la reconnaissance des compétences du Service parmi les autres laboratoires européens.
- de maintenir et d'améliorer continuellement un système Assurance Qualité, selon la norme ISO 17025, au niveau du Service.

### 2. Activités

Le SCM n'est pas un laboratoire de "routine", mais effectue des analyses de médicaments et autres produits sur demande. Chaque demande d'analyse, respectivement étude, nécessite une approche particulière notamment dans la façon de résoudre un problème spécifique. De ce fait, il est toujours difficile de prévoir à l'avance le temps qu'une analyse va prendre.

Des réunions régulières ont lieu avec la DPM en vue de coordonner nos activités et de définir des programmes communs d'analyses. Une approche similaire a lieu avec le Service de la Sécurité Alimentaire de la Direction de la Santé, en vue d'analyses très spécifiques sur certains compléments alimentaires.

#### 2.1. Activités analytiques

Les études suivantes ont été effectuées :

- Contrôle de qualité de médicaments prélevés sur le marché luxembourgeois. Il s'agit de médicaments à base de : aciclovir, clopidogrel, mdazolam (16 échantillons).
- Contrôle de qualité de médicaments (Myclausen) prélevés sur le marché européen (Grèce, Finlande, Suède); analyses effectuées pour le compte de l'Agence Européenne des Médicaments (6 échantillons).
- Analyses de médicaments de produits d'origine inconnue (falsifiés/contrefaits) : entre autres les substances médicamenteuses suivantes ont été détectées: disfonction érectile (sildénafil et dérivés, tadalafil), obésité (sibutramine, amfépramone), produits dopants (déhydroépiandrostérone (clenbutérol), anti-diabétique (métformine), divers (fluoxétine, furosémide, mélatonine, chlordiazéposyse, alprazolam, bromazépam, diclofénac, linézolide, éphédrine, azithromycine, pregnenolone, progestérone, hespérétine) (57 échantillons).
- Analyses de compléments alimentaires en collaboration avec la Sécurité Alimentaire (59 échantillons); les substances (médicamenteuses) suivantes ont été détectées: sibutramine,

tétrahydrocannabinol (THC), mélatonine.

- Analyses pour des particuliers: les substances médicamenteuses suivantes ont été détectées: tadalafil, hydroxythiohomosildénafil, buprénorphine, naloxone, éphédrine, nicotine, fluoxétine, melanotan, ranitidine, amfépramone, tiamuline, hespéridine (32 échantillons).
- Contrôle de préparations magistrales (méthadone, cocaïne) (75 échantillons).
- Analyses dans le cadre de l'Assurance Qualité (19 échantillons).
- Analyses dans le cadre de la standardisation de méthodes (Pharmacopée Européenne et OMS): méthylprednisolone, cefaclor, rémifentanil, pemetrexed, tribenoside, fluocinolone, lopinavir, triamcinolone, méthylphénidate (55 échantillons).

Les divers échantillons analysés (produits et substances médicamenteuses) sont au nombre de 319 (304 quant à 2011). Le nombre total d'inscriptions s'élève à 3.571 (y incluant le nombre de dossiers à traiter dans le cadre de l'autorisation de mise sur le marché, procédure centralisée).

## **2.2. Assurance Qualité**

Le Service est attesté par DEQM, selon la norme ISO 17025, et a subi un audit de réévaluation du Système Qualité en juillet 2011. Cette attestation est reconnue par les autres membres du réseau des OMCL, par l'EMA et par la Commission Européenne (CE) à Bruxelles. De plus, le Service participe régulièrement à un programme d'essais d'aptitude de laboratoire (contrôle de qualité) organisé par le DEQM.

## **2.3. Activités complémentaires**

Le responsable du Service est membre du Comité National d'Ethique en Recherche (CNER) et membre du Conseil d'administration de l'Agence Luxembourgeoise Antidopage. Il participe également en tant qu'expert aux réunions du Conseil d'Administration du Centre de Recherche Public Santé.

Au niveau des activités internationales, le Service a participé à divers groupes de travail, en y présentant un certain nombre de rapports. Ces activités soulignent l'intégration du Service dans le domaine du médicament au niveau de l'U.E.:

### **2.3.1. Agence Européenne des Médicaments (EMA) :**

- Comité des médicaments à usage humain (CHMP); ce comité scientifique est chargé de donner un avis à la Commission Européenne pour les demandes d'A.M.M. (procédure centralisée) (le responsable du service est membre coopté); divers rapports ont été préparés pour le compte du CHMP.
- Groupe de Travail: Qualité des Médicaments (le responsable du service est chargé de la présidence de ce groupe).
- Rapport de la partie chimico-pharmaceutique d'une demande d'autorisation de mise sur le marché (procédure centralisée) pour le compte du Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM – DE).
- Cette activité se fait avec l'appui administratif du CRP-Santé. Diverses contributions (rapports scientifiques) ont été faites pour le compte du CHMP.

### **2.3.2. Commission de l'Union Européenne à Bruxelles :**

- Travaux dans le cadre de l'"International Conference on Harmonisation", en tant qu'expert pour le compte de la CE et de l'EMA à Londres; le responsable du Service préside un groupe de travail sur l'implémentation de nouveaux standards de qualité dans le domaine pharmaceutique.

### **2.3.3. Direction Européenne de la Qualité du Médicament (DEQM, Conseil de l'Europe) :**

- Pharmacopée Européenne, le responsable du service est membre d'un groupe de travail et de la Commission de la Pharmacopée.
- Réseau Européen du Contrôle de Qualité des Médicaments; participation à diverses réunions et études en relation avec le réseau. Cette collaboration est indispensable pour la reconnaissance du service comme Laboratoire de contrôle des médicaments en Europe.
- Un groupe de travail, avec participation du SCM, a été instauré en vue de faire des propositions

concernant le monitoring de médicaments stockés en cas de pandémie et autre crise et un autre groupe pour harmoniser les procédures pour analyser des médicaments contrefaits.

#### **2.3.4. Organisation Mondiale de la Santé**

Réunion d'experts dans le cadre de la préparation de monographies de médicaments anti-SIDA. Le responsable du service est expert auprès de l'OMS.

#### **2.3.5. Divers**

Diverses conférences ayant trait aux activités pharmaceutiques du Service devant un public professionnel (industrie pharmaceutique, autorités compétentes), en partie également en collaboration avec le DEQM et l'OMS.

### **3. Conclusion**

Les analyses des échantillons prélevés sur le marché national, en collaboration avec la Division de la Pharmacie et des Médicaments et la Division de la Sécurité Alimentaire, seront poursuivies, afin d'y marquer la présence de contrôles et d'éviter ainsi la commercialisation de lots non conformes pouvant présenter un risque pour le patient. Ceci est d'autant plus important qu'avec la globalisation et le coût des médicaments, ce risque peut augmenter. Il est prévu notamment de comparer le médicament original avec le(s) produits(s) génériques(s).

En collaboration avec la DPM et la Douane, il est prévu d'intensifier les contrôles en vue de détecter la présence éventuelle de médicaments contrefaits ou produits dopants. S'il y a quelques années encore les médicaments contrefaits étaient essentiellement un problème des pays en voie de développement, cela est également devenu aujourd'hui un problème en Europe. Cette activité est basée sur une directive de la Commission Européenne (médicaments falsifiés).

Les activités internationales, nécessaires pour la reconnaissance du service au niveau européen, seront maintenues. Dans ce même ordre d'idées, la participation à des études multinationales, organisées par DEQM, sera intensifiée. Dans le futur, le principe du "work-sharing" entre laboratoires européens prendra de plus en plus d'importance. La collaboration avec l'OMS fait partie de nos responsabilités de contribuer à la mise à disposition de médicaments de bonne qualité pour les pays en voie de développement.

## 08. Division du contrôle des denrées alimentaires

### Missions

Les différentes lois et règlements ont attribué à la division les missions suivantes :

- surveiller et contrôler l'application des prescriptions légales et réglementaires concernant les denrées alimentaires, les boissons et les objets et matériaux en contact avec les denrées alimentaires et d'effectuer les analyses qui s'y rapportent,
- effectuer, sur demande des autorités publiques et des particuliers des travaux de laboratoire se rapportant aux denrées alimentaires.
- collaborer sur le plan national avec les services d'autres administrations de l'Etat et sur le plan international avec la Commission de l'UE à l'application de la politique sanitaire.

Depuis le 1er avril 2009, notre division se consacre essentiellement à ses activités analytiques dans la mesure où les activités d'inspection et de prélèvement ont été transférées à la direction de la santé (y compris le personnel ayant fait partie de notre ancienne unité de contrôle).

### 1. Activités

La division du contrôle des denrées alimentaires est accréditée depuis bientôt 10 ans et bénéficie du statut le laboratoire de référence national (LNR) auprès de la commission européenne dans 6 domaines analytiques différents (produits laitiers, pesticides, OGM, mycotoxines, «food contact materials», hydrocarbures aromatiques polycycliques). Il aurait été impossible d'atteindre ce statut sans un fonctionnement parfait au niveau analytique et administratif.

2012 aura aussi été la dernière année avant le déménagement au site de Dudelange. Comme les années précédentes, 2012 a été une année où l'accent a été mis d'une part sur le développement de nouvelles méthodes d'analyse moyennant les techniques de détection les plus récentes, et d'autre part sur l'extension de la portée des méthodes existantes à d'autres molécules et/ou matrices. Certaines de ces méthodes ont pu être incorporées dans la gamme de méthodes accréditées selon ISO 17025, ceci suite à l'audit de l'OLAS ayant eu lieu le 15 et le 16 mars 2012.

En ce qui concerne le domaine des organismes génétiquement modifiés, notre laboratoire a implémenté un certain nombre de nouvelles méthodes ciblant des variétés maïs et soja qu'il essayera de se faire ajouter à la portée de l'accréditation sans avoir à passer par un audit formel sur son site. Etant donné que l'implémentation de la nouvelle vision de l'OLAS concernant la portée flexible peine à se concrétiser, ce processus risque de durer. Par ailleurs, l'année 2012 était marquée par une augmentation sensible du nombre d'analyses consacrées aux riz OGM non autorisés, ceci suite aux divers incidents de contamination. D'une manière générale, étant donné l'augmentation spectaculaire du nombre d'OGM autorisés en UE, un accent particulier devra être mis sur les méthodes de screening dans la mesure où l'implémentation du séquençage nouvelle génération n'est pas d'actualité encore pour des labos de routine.

Au niveau des mycotoxines, le laboratoire a pu se faire accréditer la méthode de détection de la patuline par LC-MS/MS, en guise de remplacement de l'ancienne méthode de détection par DAD (qui reste toutefois accréditée aussi). La détection par MS-MS est plus fiable, plus spécifique et plus rapide car combinée à une séparation chromatographique par UPLC. La détection d'autres mycotoxines, comme la HT-2 et la T-2 ainsi que les fumonisines, est désormais possible aujourd'hui également par LC-MS/MS, ceci en vue de garantir une meilleure identification et quantification.

Au niveau des matériaux et objets en contact avec les aliments, le laboratoire a effectué une campagne d'essais sur des articles en polyamide (dosage du relargage de PAA) et sur des articles en mélamine (dosage du relargage de formaldéhyde et de mélamine). De plus, le laboratoire a démarré une étude préliminaire d'essais sensoriels sur des récipients en plastique afin d'évaluer la possibilité d'implémenter cette méthode dans le laboratoire.

Au niveau des pesticides, le laboratoire a pu se faire accréditer 25 pesticides par détection en LC-MS/MS. Par ailleurs, un GC-MS/MS a été acquis ceci afin d'améliorer encore la sensibilité et la spécificité de la détermination de certains pesticides récalcitrants à une détection sensible par LC-



MS/MS. Cet appareil se trouvant encore en phase d'implémentation/validation, les échantillons de nos clients ont toutefois encore été analysés avec l'ancien appareil GC-MS.

Au niveau des analyses enzymatiques il n'y a pas eu de changements majeurs.

Au niveau des contaminants, une méthode de dosage d'acrylamide dans les aliments à base de céréales et de pommes de terre, et le café, a été validée et accréditée. De plus, une méthode de dosage du furane dans le café et les aliments à base de céréales a été implémentée. De même, une méthode de dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) chrysène, benzo(a)anthracène, benzo(b)fluoranthène et benzo(a)pyrène dans les aliments a été implémentée pour pouvoir faire les analyses prévues dans les règlements 1881/2006 et 835/2011. Ceci a également permis au laboratoire d'adopter le rôle de laboratoire national de référence pour les HAP. Finalement, la méthode d'analyse des colorants interdits Soudan I, II, III et IV dans les épices a été révisée pour augmenter la sensibilité (passage d'HPLC-DAD à LC-MS/MS), et une campagne d'essais a été réalisée.

Au niveau des analyses microbiologiques, l'année 2012 a été marquée par l'accréditation des méthodes de dénombrement de germes témoins d'hygiène par l'instrument Tempo<sup>TM</sup> ainsi que par celles visant le dénombrement des *Bacillus cereus* présomptifs respectivement la recherche et/ou le dénombrement des *Listeria monocytogenes*. Désormais notre laboratoire peut se prévaloir d'une portée d'accréditation respectable à l'égard des moyens en personnel (une personne et demi) mis à notre disposition.

Le tableau ci-dessous donne un aperçu qualitatif et quantitatif des analyses effectuées en 2012.

Le nombre total d'échantillons analysés a été de 3.556 et se répartissant comme-suit :

### 1.1 Microbiologie

2.198 échantillons correspondant à 12.656 analyses individuelles:

Paramètres	Nb d'échantillons
Bacillus cereus	1113
Campylobacter	13
Coliformes	897
E.coli	2188
Enterobactéries	575
Staphylocoques coagulase +	2160
Germes aérobies mésophiles	1930
Levures+ moisissures	196
Salmonelles	2157
Listeria monocytogenes	1394
Toxines STX	28
EHEC	5
<b>TOTAL</b>	<b>12.656</b>

## 1.2 Mycotoxines

Matrice	Mycotoxines recherchées	Nb d'échantillons/nbre d'analyses
Compléments alimentaires	Aflatoxines B et G	1/1
Céréales consommation humaine	Aflatoxines B et G, Désoxynivalenol	17/24
Graines	Aflatoxines B et G	13/13
Poudres de lait pour bébés	Aflatoxine M <sub>1</sub>	10/10
Biscuits pour bébés	Désoxynivalénol, Ochratoxine A, zéaralénone	10/30
Céréales pour bébés	Désoxynivalénol, Ochratoxine A, zéaralénone	5/15
Aliments-bébés à base de pommes	Patuline	15/15
Aliments-bébés à base de maïs	Fumonisine B <sub>1</sub> Fumonisine B <sub>2</sub>	4/4
Céréales petit-déjeuner	Zéaralénone	15/15
Céréales brutes	Désoxynivalénol	29/29
Aliments à base de maïs	Fumonisine B <sub>1</sub> Fumonisine B <sub>2</sub>	21/21
Café	Ochratoxine A	25/25
Épices	Aflatoxines B et G	15/15
Raisins secs	Ochratoxine A	33/33
Cidres	Patuline	2/2
Jus de pommes	Patuline	13/13
Lait cru	Aflatoxine M <sub>1</sub>	16/16
Noix, fruits à coque	Aflatoxines B et G	30/30
<b>TOTAL</b>		<b>274/311</b>

### 1.3 Pesticides

Matrice	Nb d'échantillons	Nb de pesticides recherchés	Nb de pesticides détectés
Fruits	39	75	6
Herbes aromatiques	9		8
Légumes	18		4
Céréales brutes	52		2
Céréales consommation humaine	15		0
Épices	3		0
Thé, tisanes	10		0
<b>TOTAL</b>	<b>146</b>	<b>10.950 analyses</b>	<b>20</b>

### 1.4 OGM

Matrice	Nb d'échantillons	Nb de cibles ADN par échantillon	Total cibles ADN
Riz	38	moyenne: 7.36	280
Pommes de terre	16	2	32
Aliments base soja	19	moyenne: 4.89	93
Aliments base maïs	22	moyenne: 6.68	147
Aliments pour animaux	11	moyenne: 8.27	91
Semences maïs	8	Moyenne: 3	24
<b>TOTAL</b>	<b>114</b>		<b>667</b>

## 1.5 Chimie divers

Matrice	Paramètre	Nb d'échantillons
Biscuits pour bébés	Acrylamide	5
Biscuits pour bébés	Hydrocarbures aromatiques polycycliques	6
Céréales bébés	Acrylamide	5
Céréales bébés	Hydrocarbures aromatiques polycycliques	9
Pots bébés	Acrylamide	15
Pots bébés	Nitrates	10
Pots bébés	Sulfites	20
Céréales petit-déjeuner	Acrylamide	10
Pain	Acrylamide	25
Produits pour grignotage (chips)	Acrylamide	4
Frites	Acrylamide	21
Pain	Gluten	3
Plats préparés cuits	Histamine	7
Plats préparés cuits	Glutamate	2
Légumes	Plomb, Cadmium	33
Légumes	Sulfites	10
Chocolat	Gluten	2
Chocolat	Colorants	5
Aliments pour animaux	Mélamine	5
Café	Acrylamide	10
Bières sans alcool	Sulfites	20
Salades, épinards	Nitrates	77
Bonbons	colorants	18
Bonbons soft	Agents conservateurs	20
Bonbons soft	Colorants	20
Produits de boulangerie étiqu. avec cannelle	Coumarine	17
Produits de boulangerie saisonniers avec cannelle	Coumarine	10
Anchois, thon	Histamine	108
Produits de grignotage	Glutamate	20
Charcuterie de poisson	Glutamate	15
Sauces	histamine	3
Sauces	3-monochloropropanediol	15
Viandes	histamine	3
Viandes	Glutamates	18
Viandes	Nitrates/nitrites	25
Fruits confis, fruits secs	Sulfites	10
Confitures	Sulfites	15
Confitures	Agents conservateurs	15
Huiles de friture	Composés polaires	18
Cidres	Sulfites	15
Epices	Colorants Soudan	31
Poissons	Azote basique volatil	62
Ustensiles en nylon	PAA	30
Ustensiles en mélamine	Formaldéhyde/mélamine	22
Légumes en conserve	Bisphénol A	10
<b>TOTAL</b>		<b>824</b>

## **2. Assurance qualité**

L'accréditation du laboratoire selon la norme ISO/CEI 17025:2005 a été confirmée par l'audit annuel organisé par l'Organisme Luxembourgeois d'Accréditation et de Surveillance (OLAS).

## **3. Relations avec le Ministère de la Santé**

- service juridique ;
- service de la sécurité alimentaire ;
- division de la pharmacie et médicaments ;
- inspection sanitaire.

## 09. Service d'identification génétique

Missions :

Le service d'identification génétique a pour but la réalisation d'expertises à la demande exclusive des autorités judiciaires pour identification et/ou détermination de la filiation des individus dans le domaine médico-légal par la méthode des empreintes génétiques.

### 1. Activités

L'année 2012 a été la première année de fonctionnement du service d'identification génétique.

Parmi les travaux réalisés, nous comptons:

- l'intégration, la formation et l'habilitation du personnel,
- la mise en place et la validation des méthodes,
- la mise en place d'un outil LIMS pour assurer la traçabilité des échantillons,
- la construction du système d'assurance qualité à visée d'accréditation selon la norme ISO 17025 en 2013,
- la participation avec succès aux exercices inter-laboratoires organisés par le groupe GEDNAP (German DNA profiling group),

L'ensemble du personnel du service est polyvalent comptant pour chacun des missions techniques et spécifiques du métier comme des missions spécifiques à l'assurance qualité.

Le nombre d'expertises réalisées (et par extension le nombre d'échantillons traités) est nettement supérieur au nombre projeté pour cette première année d'activité. Toutefois, nous avons apporté une réponse de qualité à l'ensemble des sollicitations des Magistrats, dans un délai extrêmement satisfaisant.

Notre service bénéficie d'un comité d'accompagnement réunissant des représentants de tous les organes acteurs du domaine (Justice, Police et Santé) permettant un échange sur les besoins, attentes et satisfaction des requérants extrêmement efficace. L'année 2012 ayant été la première de l'activité de notre service, ce comité s'est réuni à quatre reprises afin de faciliter la mise en place de procédures précises de fonctionnement.

Le service d'identification génétique bénéficie également d'un conseil scientifique comptant dans ces membres des représentants scientifiques du service de police judiciaire et des représentants du LNS. Les réflexions de ce conseil mènent à des recherches et développements communs tant au niveau fonctionnel qu'au niveau scientifique spécifiques à la criminalistique.

### 2. Conclusion

L'ensemble des objectifs pour l'année 2012 du service d'identification génétique a été atteint. En addition du maintien de la qualité de nos réponses aux sollicitations des Magistrats et de notre disponibilité tant pour les délais d'expertise que pour les échanges, nos principaux objectifs 2013 sont l'audit ILNAS en vue de l'accréditation ainsi que le travail en collaboration avec les sociétés savantes ad hoc dont nous sommes membres pour le maintien et l'évolution de nos compétences.