



anses

Proposition d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines

Avis révisé de l'Anses
Rapport révisé d'expertise
collective

Octobre 2022

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 7 octobre 2022

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à « la proposition d'arrêté fixant
la liste des micro-organismes et toxines (MOT)
concernant les MOT destinés à un usage vétérinaire »¹**

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.
Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).
Ses avis sont publiés sur son site internet.*

L'Anses a été saisie le 17 août 2021 par l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'avis sur la proposition de l'ANSM d'arrêté fixant la liste des MOT, concernant les MOT destinés à un usage vétérinaire.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Selon les termes de la saisine, « l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), la direction générale de la santé (DGS) et le secrétariat général de la défense et de la sécurité nationale (SGDSN) ont conjointement identifié en 2018 la nécessité de faire évoluer les dispositions actuelles de l'arrêté du 30 avril 2012 modifié fixant la liste des microorganismes et toxines (MOT). Le processus d'évolution retenu a garanti la prise en compte simultanée des aspects de sécurité biologique et de sûreté biologique avec l'ensemble des parties prenantes. Il s'est déroulé en trois étapes successives :

1. Une actualisation des bactéries, toxines et virus qui doivent figurer sur la liste des MOT par un comité scientifique spécialisé temporaire (CSST) de 13 experts externes à

¹ Annule et remplace l'avis du 27 avril 2022, voir annexe.

l'ANSM, qui a rendu sa proposition le 3 septembre 2019. A ce titre, une méthodologie décisionnelle pour classer toute bactérie, toxine et tout virus a permis de réviser substantiellement la liste des MOT.

- 2. Une saisine du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) pour proposer une révision de la notion de « partie de MOT » présentant un risque réel ou potentiel pour la santé et pour définir les critères justifiant le placement d'OGM sous ce régime d'autorisation. L'avis du HCB rendu le 20 décembre 2019 a été étayé par la saisine de cinq centres nationaux de référence, s'agissant spécifiquement des 'parties de bactéries'.*
- 3. Un avis du Conseil national consultatif pour la biosécurité (CNCB) afin qu'il apporte un éclairage sur les propositions retenues au regard des enjeux de défense et de sûreté nationales. Cet avis a été rendu le 12 mai 2021.*

A son terme, ce schéma d'élaboration d'une nouvelle liste des MOT a conduit l'ANSM à finaliser une proposition d'arrêté.

En effet, les dispositions de l'article L.5139-1 du code de la santé publique (CSP) établissent qu'un arrêté du ministre chargé de la santé pris sur proposition du directeur général de l'ANSM fixe la liste des MOT. Lorsque ces MOT sont destinés à un usage vétérinaire, le directeur général de l'ANSM sollicite, préalablement à sa proposition, l'avis du directeur général de l'Anses.' »

L'avis de l'Anses est sollicité « sur la proposition de l'ANSM d'arrêté fixant la liste des MOT, concernant les MOT destinés à un usage vétérinaire ».

L'Anses a été saisie à plusieurs reprises, en particulier lors de la publication du décret relatif aux MOT, sur des projets d'arrêté fixant la liste des MOT et sur les modalités de mise en œuvre de cette réglementation². Les experts avaient alors identifié de possibles impacts liés à certains aspects du dispositif réglementaire MOT, sur l'efficacité du réseau d'épidémiosurveillance et la rapidité de gestion de foyers infectieux, ainsi que sur la dynamique et le développement de la recherche sur les MOT. Des mesures avaient été proposées dans ces avis pour réduire ces impacts.

Dans ce contexte, outre l'avis sur le projet d'arrêté objet de la saisine, l'Agence répondra sous auto-saisine à une question complémentaire visant à proposer également des mesures dans l'objectif de réduire ces impacts en santé publique vétérinaire, tout en préservant la maîtrise optimisée du risque.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « SABA ». L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « MOT ». Dans le cadre de l'expertise, le GT a réalisé 13 auditions. Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 7 septembre 2021, 8 janvier, 8 février, 8 mars et 5 avril 2022. Ils ont été validés par le CES « SABA » réuni le 5 avril 2022.

L'ANSM ayant fait part de commentaires sur l'avis du 27 avril 2022 lui ayant été transmis en réponse à sa saisine, le présent avis constitue une révision du précédent pour tenir compte de ces commentaires.

² Notamment quatre avis (2010-SA-0128, 2010-SA-0128bis, 2011-SA-0165 et 2011-SA-0304) sur des projets (i) d'arrêté fixant la liste des MOT, (ii) de décision fixant le contenu du dossier technique accompagnant la demande d'autorisation prévue à l'article R.5139-1 du CSP et (iii) d'arrêté relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R.5139-1 du CSP

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Deux experts du CES, en conflits d'intérêts, ont été auditionnés par le GT et n'ont pas participé aux discussions ni à la validation du rapport en CES.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES SABA ET DU GT MOT

Contexte

Le projet d'arrêté fixant la liste des MOT objet de la saisine s'inscrit dans le contexte plus large de la réglementation éponyme prévue dans le Code de la santé publique (CSP) et régie par le décret 2010-736 du 30 juin 2010 relatif aux MOT³, définis dans ces textes comme « *micro-organisme ou toxine dont l'emploi serait de nature à présenter un risque pour la santé publique et les produits qui en contiennent* ».

La réglementation MOT a pour objectif la protection de la santé publique, en termes de sûreté biologique (pour prévenir un usage malveillant des MOT) et de sécurité biologique (dissémination involontaire), définies comme suit (article R. 5139-18 du décret 2010-736) :

« **1° Sécurité biologique** : l'ensemble des mesures et des pratiques visant à protéger les personnes et l'environnement des conséquences liées à l'infection, à l'intoxication ou à la dissémination de micro-organismes ou de toxines ;

2° Sûreté biologique : l'ensemble des mesures et des pratiques visant à prévenir les risques de perte, de vol, de détournement ou de mésusage de tout ou partie de micro-organismes ou de toxines dans le but de provoquer une maladie ou le décès d'êtres humains. »

Cette réglementation repose sur un régime d'autorisation pour toute opération de production, fabrication, transport, importation, exportation, détention, offre, cession, acquisition et emploi de tout ou partie de MOT et des produits en contenant. Ce régime vise à identifier, localiser et suivre les travaux sur les MOT, et connaître les stocks de ces agents pathogènes et toxines. La délivrance de ces autorisations, ainsi que les inspections des établissements détenant ou manipulant des MOT, relèvent de l'ANSM. L'autorisation est attribuée à une personne physique, le titulaire, responsable pénalement en cas de non-respect de la réglementation, sur la base d'un dossier technique très détaillé à renseigner⁴.

L'arrêté du 30 avril 2012 fixant la liste des MOT comprend deux annexes, l'annexe I listant « *les micro-organismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique (...)* » et les OGM (organismes génétiquement modifiés) hautement pathogènes, et l'annexe II listant d'autres MOT, OGM, ainsi que les parties de MOT. Une partie de micro-organismes est définie comme « *un fragment du matériel génétique dès lors que sa séquence en acide désoxyribonucléique (ADN) dépasse 500 paires de base (pb) de longueur ou sa séquence en acide ribonucléique (ARN) dépasse 500 bases (b) de longueur* ». Une partie de toxine est définie comme « *un fragment des toxines protéiques dès lors que sa séquence peptidique dépasse 167 acides aminés de longueur.* » Les établissements manipulant des MOT listés à l'annexe I doivent définir un plan particulier d'intervention (PPI), qui constitue un volet des dispositions spécifiques du plan ORSEC (Organisation de la réponse de sécurité civile) départemental.

³ <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000022415024>

⁴ <https://ansm.sante.fr/vos-demarches/chercheur/demander-une-autorisation-pour-les-micro-organismes-et-toxines>

Plusieurs avis de l'Anses sur la liste et les modalités de mise en œuvre des MOT, publiés en 2010-2011, avaient souligné les conséquences possibles en santé publique vétérinaire de la mise en application du décret 2010-736 du 30 juin 2010. L'Agence avait formulé quelques propositions visant à faciliter le travail sur des MOT, sans pour autant affecter la biosécurité et la biosûreté requises pour ces agents (cf. introduction du chapitre 3 du rapport du GT).

Après plus de dix années d'application de ce texte, plusieurs de ces impacts ont été rapportés par des titulaires d'autorisations MOT, qui constituent un point d'attention dans le présent avis, dans l'objectif de les préciser et de suggérer des propositions visant à les réduire, toujours dans le respect des mesures de biosûreté et de biosécurité.

Le temps imparti pour le traitement de la saisine n'a pas permis de recenser de manière large l'ensemble de ces conséquences. Toutes les auditions de titulaires d'autorisations MOT et de référents en biosûreté et biosécurité réalisées par le GT ont cependant apporté des informations convergentes, relatives à la manipulation des MOT dans les laboratoires de diagnostic de première intention et dans les établissements de recherche et de référence. Plusieurs exemples d'impacts sont ainsi présentés dans le chapitre 3 du rapport, fondés sur les retours d'expérience des personnes auditionnées et d'experts du GT. Le présent avis reprend les synthèses de ce chapitre.

Dans le présent chapitre de l'avis, le paragraphe 3.1 décrit les éléments d'analyses et de conclusion des experts relatifs à la partie auto-saisine de la question et le 3.2 présente les résultats de l'expertise sur le projet de texte. Le paragraphe 3.3 constitue une synthèse de l'ensemble.

3.1. Impacts du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire

En santé publique vétérinaire, les MOT listés dans l'arrêté du 30 avril 2012 sont en pratique manipulés dans le cadre d'activités diverses :

- dans le cadre de l'exercice de la médecine vétérinaire, de nombreux laboratoires d'analyses vétérinaires, en particulier les laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) et les laboratoires nationaux de référence (LNR), sont directement concernés par la réglementation relative aux MOT, pour le diagnostic de zoonoses telles que la fièvre charbonneuse, la brucellose, la tularémie ou l'influenza aviaire. Lors de suspicion clinique, des prélèvements vont être réalisés et adressés à des laboratoires de diagnostic de première intention. Le cas échéant, des échantillons sont transmis au LNR *ad hoc* pour confirmation du diagnostic et contribution à l'actualisation de sa souchothèque,
- dans le cadre de travaux de recherche et de référence, par exemple des projets internationaux, pour la mise au point de vaccins, de médicaments ou de réactifs, d'essais interlaboratoires (EIL) organisés par les LNR.

La mise en œuvre de la réglementation MOT a permis un renforcement notable de la mise en application des mesures de biosécurité en laboratoire, par exemple les mesures de confinement, la gestion des stocks, les procédures de décontamination et d'inactivation. Dans certains cas toutefois, cette réglementation peut freiner, voire stopper les travaux sur des MOT.

3.1.1. Impacts sur l'épidémiosurveillance, le diagnostic et la gestion des maladies animales dues à des MOT

Les laboratoires de diagnostic vétérinaire de première intention jouent un rôle essentiel dans le maillage permettant la surveillance et la gestion des maladies animales, zoonotiques et d'intérêt en santé publique, dont celles dues à des MOT. La suspicion de cas ou de foyers nécessite une confirmation rapide pour permettre leur gestion dans les meilleurs délais, donc des envois rapides de prélèvements/souches aux LNR. La surveillance de ces maladies est essentielle pour suivre leur évolution et intervenir rapidement. Par exemple, l'épidémiologie

moléculaire et l'étude de la virulence, qui impliquent la conservation des souches, constituent une nécessité pour le suivi de maladies comme la brucellose ou l'influenza aviaire.

Dans ce contexte, la réglementation prévoit, pour ces laboratoires de diagnostic de première intention, une dispense d'autorisation de détention si les échantillons ne sont pas conservés au-delà de 30 jours. Cependant, ces laboratoires sont soumis à une demande d'autorisation pour l'envoi au LNR de chaque échantillon biologique contenant des MOT, ou des MOT eux-mêmes. Ces autorisations peuvent être obtenues dans un délai souvent court, bien que parfois rallongé, ce qui peut alors être préjudiciable à la conservation des échantillons, la viabilité des souches, et ainsi à la confirmation diagnostique.

La détention de souches de référence par le laboratoire de diagnostic, est également soumise à une autorisation, qui doit être renouvelée tous les cinq ans. Le travail administratif requis pour une demande d'autorisation de détention s'avère complexe et conséquent. Or un laboratoire de diagnostic de première intention est amené à rechercher différents MOT, au gré des suspicions de terrain (fièvre charbonneuse, brucellose, botulisme, tularémie...), le plus souvent de manière occasionnelle. Par conséquent, il lui faudrait détenir plusieurs souches de référence MOT et donc multiplier les demandes d'autorisation de détention et de mise en œuvre. Sans autorisation de détention et de mise en œuvre, les investigations réalisables sur ces souches sont limitées, puisqu'une amplification, qui nécessiterait une mise en culture, n'est alors pas envisageable.

La complexité et la lourdeur de la réglementation MOT conduisent ainsi à un retard de diagnostic, ainsi qu'à un désengagement de certains laboratoires de diagnostic et à une destruction de souches ou de collections de souches, entraînant une perte de technicité et de compétences des opérateurs ainsi qu'une perte de connaissances sur les MOT, en termes de surveillance, de diagnostic et d'épidémiologie moléculaire. À ce titre, la réglementation MOT s'avère donc contre-productive et induit un effet inverse de l'effet attendu en diminuant la surveillance d'agents de grand intérêt pour la santé publique humaine et vétérinaire.

Par conséquent, pour les laboratoires de diagnostic vétérinaire de première intention, par définition possesseurs d'une accréditation Cofrac et d'un agrément délivré par le ministère de l'agriculture, les experts recommandent la formalisation et la mise en place d'une **procédure facilitée pour l'envoi des souches MOT identifiées sur le terrain, dont l'identification nécessite une confirmation rapide**. Par exemple, tous ces laboratoires pourraient soit disposer d'une autorisation systématique dès lors qu'ils identifient un MOT, pour isoler et envoyer la souche au LNR avec un circuit sécurisé, soit recourir à un mode déclaratif d'envoi des souches. **Il serait en outre pertinent de permettre aux laboratoires de diagnostic de première intention de pouvoir approfondir l'analyse des souches** afin de préciser rapidement s'il s'agit de souches présentant un risque en termes de santé publique et mettre en œuvre les mesures de gestion adaptées.

3.1.2. Impacts sur les activités de recherche et de référence

Les laboratoires de recherche et de référence manipulant des MOT sont confrontés à plusieurs difficultés en lien avec la réglementation MOT, par exemple pour les échanges de MOT dans le cadre d'essais interlaboratoires (EIL) ou de projets de recherche nationaux ou internationaux, dans le cadre de formations, et jusqu'au choix des sujets de travaux de recherche. Plusieurs exemples d'impacts, identiques ou non à ceux affectant les laboratoires de diagnostic, sont présentés dans le rapport, fondés sur les retours d'expérience d'experts auditionnés et du GT. Ainsi, la charge administrative s'avère importante, notamment par la multiplication des demandes d'autorisations, que ce soit dans le cadre (i) de manipulations de plusieurs MOT par un laboratoire ou une unité, (ii) d'EIL, nécessitant autant de demandes que de laboratoires participants, ou (iii) d'activités de recherche, pour tout nouveau protocole MOT, toute nouvelle manipulation. En outre, certains éléments demandés pour la constitution d'un dossier d'autorisation ne sont pas pertinents au regard du danger analysé : la possession d'une séquence d'ADN ou d'une toxine ne requiert pas le même niveau de sûreté qu'un

organisme vivant capable de se multiplier après dispersion intentionnelle et/ou accidentelle. En particulier, la réglementation sur les parties de MOT comme les acides nucléiques paraît injustifiée au regard de l'analyse de risque liée à ces parties de MOT.

La réglementation MOT a permis des progrès notables en termes de biosécurité. Si elle a un objectif de santé publique légitime, son impact sur les activités impliquant les MOT est à ce jour très pénalisant et conduit à restreindre les activités de recherche sur ces agents MOT, notamment la participation d'équipes françaises à des projets de recherche européens et internationaux. Cet impact est, entre autre, lié aux délais inhérents à la mise en œuvre de cette réglementation, qui entraînent des retards dans l'exécution par les laboratoires français des tâches qui leur sont dévolues. Ceci donne une image défavorable des laboratoires français, considérés comme des partenaires peu fiables ou avec lesquels les collaborations sont difficiles. L'impact négatif sur la compétitivité de la recherche française est majeur. Les équipes de recherche françaises en viennent à ne pas s'engager dans des projets portant sur des MOT. Elles peuvent être impliquées *a minima* dans des projets, sans échange de matériel biologique, ce qui les empêche d'être leaders sur certaines actions. De nombreuses règles ou procédures paraissent excessives et pas toujours adaptées aux réalités du terrain et souvent incomprises par les homologues étrangers, notamment européens, qui ne sont pas confrontés, pour les mêmes MOT, à des contraintes administratives aussi lourdes que celles imposées en France.

Ainsi, l'impact négatif se mesure entre autres en termes de perte de temps, de démotivation du personnel, d'accroissement de la charge de travail administratif, de perte de compétitivité de la recherche française, de renoncement définitif à manipuler les MOT, conduisant à la destruction du patrimoine biologique MOT, et à une dégradation du réseau d'épidémiologie. En outre, la crainte de poursuites en cas d'irrégularités génère un stress chez le titulaire d'autorisation MOT, dont la responsabilité pénale individuelle est engagée.

Les exigences pour le maintien des autorisations de détention et de mise en œuvre de MOT, ainsi que, dans certains cas, la pénurie en moyens humains ont conduit certains chercheurs à renoncer à la manipulation de ces micro-organismes et à transférer ou à détruire leur collection de souches, entraînant une perte patrimoniale et scientifique irremplaçable.

Ces impacts conduisent à une **perte manifeste d'outils et d'expertise sur les MOT préjudiciable pour la santé publique et la surveillance des maladies zoonotiques en France et une perte en compétences et en opportunités dans le domaine de la recherche, qui pourront s'avérer dommageables dans l'éventualité d'une crise biologique de grande ampleur.**

Par conséquent, les experts recommandent certains allègements de la réglementation MOT, par exemple des dossiers techniques, notamment lors de renouvellement d'autorisations. Des autorisations pourraient être accordées de manière plus générique, et non pour chaque MOT, chaque partie de MOT et chaque opération. Des systèmes de déclaration annuels des imports - exports sur un registre pourraient être envisagés, plutôt qu'un système de demande d'autorisation à chaque transport.

3.2. Commentaires sur le projet d'arrêté fixant la liste des MOT

L'analyse du projet d'arrêté s'est fondée sur les connaissances des experts, des données bibliographiques, la comparaison avec la liste de l'arrêté du 30 avril 2012, et sur les travaux réalisés en amont de la saisine de l'Anses, i.e. les propositions du CSST sur la liste de MOT

du 3 septembre 2019⁵, l'avis du CS du HCB du 20 décembre 2019⁶ sur les parties de MOT et les OGM MOT, et l'avis du CNCB (non publié mais mis à disposition du GT).

Les experts soulignent que la démarche de l'ANSM consistant à s'appuyer sur des comités d'experts pour établir la liste de MOT s'avère très constructive, notamment par l'élaboration d'une méthode d'inclusion/ exclusion des MOT et de leur répartition entre les deux annexes. Comme la plupart des méthodes de hiérarchisation, sa mise en application pourrait conduire, en tant que de besoin, à certains ajustements des critères et/ou des pondérations.

Le présent avis reprend la synthèse des remarques, l'argumentaire étant détaillé dans le rapport *ad hoc*.

3.2.1. Commentaires sur l'Annexe A (ex-Annexe I) du projet d'arrêté

À l'article 1°, les micro-organismes retenus dans cette liste n'appellent pas de remarques particulières.

À la fin de l'annexe A du projet d'arrêté, il est écrit « *L'annexe A exclut les souches qui, du fait de leur atténuation, sont classées par l'autorité compétente dans les groupes de risque 1 et 2⁷. Ces souches sont comprises dans l'annexe B* » (lignes 168-170). Les experts s'interrogent sur le fait de positionner en annexe B des micro-organismes dont l'atténuation conduit à les placer dans le groupe 1 qui « *comprend les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme* », alors qu'il serait logique de les sortir des MOT. Cela concernerait notamment les souches vaccinales qui ne présentent plus de risque en termes de biosécurité comme de biosûreté. C'est le cas de la souche Sterne vaccinale contre la fièvre charbonneuse qui est un MOT mais de groupe 2.

3.2.2. Commentaires sur l'Annexe B (ex-Annexe II) du projet d'arrêté

En ce qui concerne le projet de **liste des MOT**, le GT recommande :

- de retirer de la liste des MOT les bactéries productrices des toxines responsables du botulisme animal, i.e. *Clostridium botulinum* du groupe III et leurs toxines (C, D et chimères C/D et D/C) ,
- de supprimer la mention du lignage Gs/GD pour l'*Influenza A virus* de lignage H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like, qualification trop large qui s'applique également à des virus influenza aviaires non zoonotiques, ce qui pourrait créer des confusions,
- de ne pas inclure les entérotoxines staphylococciques autres que la SEB (entérotoxine staphylococcique B) (déjà dans la liste des MOT), compte tenu de l'hétérogénéité des séquences de ces toxines, et du caractère hasardeux d'extrapoler les données de la SEB aux autres toxines,
- de ne retenir dans la liste des MOT que la saxitoxine de référence (et non les saxitoxines),
- de ne pas inclure les mycotoxines HT-2 et T2 du fait du risque limité lié à ces toxines dont la DL50⁸ est élevée.

Le GT souscrit au retrait de *Brucella* de la liste des MOT. Il rappelle que cet agent pathogène restera à manipuler en niveau de confinement 3 et souligne à ce titre l'importance du respect

⁵<https://archiveansm.integra.fr/L-ANSM/Comites-scientifiques-specialises-temporaires/Comites-scientifiques-temporaires/Comites-scientifiques-temporaires/CSST-Reglementation-relative-aux-micro-organismes-et-toxines-MOT-bacteries-toxines-et-virus-inscrits-sur-la-liste-prevue-a-l-article-L.-5139-1-du-CSP>

⁶http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/sites/www.hautconseildesbiotechnologies.fr/files/file_fields/2020/03/06/191220avis_cshcbmot.pdf

⁷ L'article R. 4421-3 du Code du travail classe les agents biologiques (bactéries, virus, parasites, prions, champignons) au sein de quatre groupes, dont le groupe 1 « Agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme » et le groupe 2 « Agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est peu probable et il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces »

⁸ Dose létale 50 : dose d'une substance/préparation dont l'administration unique, par voie orale ou cutanée, provoque la mort de 50 % de la population traitée dans des conditions d'expérimentation précises

des mesures de biosécurité associées pour prévenir le risque de contamination humaine accidentelle en laboratoire.

Pour les parties de MOT, les évolutions scientifiques et techniques et la possibilité actuelle de synthétiser des acides nucléiques *de novo* remettent en question la pertinence de limites de longueur de bases/paires de bases, y compris leur association à un pourcentage de séquence de protéine (virus) ou des gènes particuliers (bactéries). En outre, ces limites ne s'appuient pas sur un argumentaire scientifique ni une évaluation de risque. En particulier, cette notion de taille limite (500 b/pb pour les bactéries, 800 b/pb pour les virus), même associée à sa traduction (pour les virus) ou à des séquences de gènes (pour les bactéries) ne permet aucunement de conclure sur la dangerosité des parties de MOT, le nombre de b/pb et le pourcentage de séquence de protéine ne permettant en aucune façon de définir le pouvoir infectieux d'une partie de virus. Pour les bactéries, lister un nombre limité de gènes n'est pas pertinent, dans la mesure où les ADN extraits des souches contiendront toujours ces gènes et de fait cela n'allègera pas la gestion quotidienne des MOT.

Par conséquent, les experts, suivant en cela l'avis des personnes auditionnées et les conclusions du GT, recommandent :

- l'abandon de la définition des parties de MOT proposée dans le projet d'arrêté fondée sur des critères de taille et de pourcentages de séquence de protéine (pour les virus) et de gènes particuliers (pour les bactéries). Ces critères, non justifiés scientifiquement, ne permettent pas de préjuger du caractère infectieux ou non de la partie de MOT considérée.
- la révision de cette définition des parties de MOT (acides nucléiques et séquences protéiques) conformément à l'avis du HCB que les experts soutiennent, notamment sur l'analyse de risque de la dangerosité des parties de MOT par l'équipe de chercheurs les mettant en œuvre. Il conviendrait de conduire une analyse de risque de la partie de MOT manipulée, tant sur son pouvoir pathogène et son impact en santé publique, que sur la réalité d'un risque de dissémination et/ou d'utilisation provoquée à des fins malveillantes, et ne maintenir dans cette réglementation que le matériel biologique présentant un risque évident en termes de sûreté biologique ;
- l'exclusion de la liste des MOT des bibliothèques d'un génome complet de MOT produites à des fins de séquençage à haut débit (NGS) formées de séquences **non clonées** (fragments d'ADN obtenus *in vitro*) ainsi que les acides nucléiques (ARN/ADN) issus de MOT, couvrant un fragment ou un pool de fragments **non exprimés** utilisés à des fins de diagnostic ou de typage moléculaire.

Ces recommandations répondront à une attente forte de la communauté scientifique dans la mesure où cette définition des parties de MOT n'est plus d'actualité et entrave tant la recherche nationale et internationale que l'épidémiologie moléculaire, désormais largement fondée sur l'épidémiologie moléculaire, comme le montre l'exemple récent de la pandémie de COVID-19, due au virus SARS-CoV-2 qui n'a pas été inclus dans la liste des MOT. Reconsidérer la réglementation sur les acides nucléiques MOT en France en allégeant les actuelles procédures administratives devrait, d'une part, amener de nouveaux laboratoires à soumettre des acides nucléiques possiblement MOT au séquençage et, d'autre part, donner à d'autres laboratoires équipés en séquençage la possibilité de réaliser ce séquençage des MOT, améliorant ainsi les connaissances scientifiques sur ces agents. En effet, trop peu de plateformes génomiques en France sont autorisées par l'ANSM à séquencer les MOT. Cette situation est regrettable et pénalisante sur le plan scientifique et pour la santé publique. L'actualité sur la COVID-19 montre tout l'intérêt d'avoir une activité de séquençage fluide, rapide et massive dans le cadre de la surveillance épidémiologique.

3.3. Conclusions et recommandations du GT MOT et du CES SABA

Dans l'optique d'une actualisation de la liste des MOT, l'ANSM a sollicité l'avis de l'Anses sur un projet d'arrêté, après s'être entourée des avis du Comité Scientifique Spécialisé Temporaire dédié (CSST), du Haut Conseil des biotechnologies (HCB) et du Conseil national consultatif pour la biosécurité (CNCB).

L'analyse du projet d'arrêté fixant la liste des MOT ayant une incidence en santé publique vétérinaire, après consultation des avis du CSST, du HCB et du CNCB, a conduit les experts à émettre les conclusions et recommandations sur les MOT des annexes A et B, ainsi que sur les parties de MOT, présentées aux paragraphes 3.2.1 et 3.2.2 de cet avis.

En ce qui concerne l'impact du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire, en réponse à l'auto-saisine intégrée dans le même processus d'expertise, des témoignages convergents recueillis par les experts ont conduit à plusieurs constats présentés dans le rapport. Si la réglementation MOT vise un objectif de santé publique légitime et a permis des progrès notables en termes de biosécurité, son champ d'application (liste des MOT) n'a pas évolué conjointement avec les avancées scientifiques. De plus, de nombreuses règles ou procédures décrites au chapitre 3 du rapport paraissent disproportionnées, chronophages et pas toujours adaptées aux réalités du terrain. Cette complexité et cette singularité de la réglementation MOT entraînent :

- un retard du diagnostic de maladies zoonotiques, et donc de la mise en place de mesures de lutte dans les meilleurs délais ;
- un désengagement des laboratoires de diagnostic de première intention et de recherche, une démotivation des personnels, confrontés à des pertes de temps, une surcharge administrative, ainsi qu'au stress lié au risque de sanctions pénales pour le titulaire ;
- une destruction de souches et de collections de souches, d'où une perte patrimoniale et scientifique irremplaçable ;
- une perte de technicité et de compétences des opérateurs ;
- une perte de compétitivité de la recherche française, de renoncement définitif à manipuler les MOT.

Il en résulte une perte de connaissances et d'expertise sur les MOT, en termes de surveillance, de diagnostic, d'épidémiologie moléculaire et de recherche sur des maladies zoonotiques d'importance. La réglementation MOT conduit finalement à un manque d'outils et d'expérience pour identifier les agents de la menace, ce qui pourrait s'avérer dommageable dans l'éventualité d'une crise biologique de grande ampleur et de la nécessité de garantir les capacités de réponse nationale à une telle crise.

Par conséquent, le GT recommande, outre l'évolution de la réglementation pour les parties de MOT, mentionnée ci-dessus, l'allègement des procédures d'obtention des autorisations, par exemple en :

- délivrant des autorisations non plus individuelles à un titulaire, mais à un établissement pour la détention et le maniement de MOT ;
- formalisant et mettant en place une procédure facilitée, comme un mode déclaratif, pour les transferts de souches MOT identifiées sur le terrain, nécessitant une confirmation rapide. Les laboratoires de première intention pourraient par exemple soit disposer d'une autorisation systématique dès lors qu'ils identifient un MOT pour isoler, caractériser plus avant la souche et l'envoyer au LNR avec un circuit sécurisé, soit recourir à un mode déclaratif d'envoi des souches.

Ces allègements seraient un gage de maintien du maillage territorial de la surveillance et de rapidité de gestion de maladies humaines comme animales dues à des MOT.

Cette procédure facilitée pourrait aussi être appliquée aux LNR, en prenant en compte tant leur rôle dans la confirmation des souches MOT et leur stockage que leur rôle de responsables d'EIL, afin qu'ils ne perdent pas leur expertise des MOT et jouent pleinement leurs missions de surveillance et de gestion des maladies animales dues à des MOT. La rapidité d'intervention et l'épidémiosurveillance moléculaire sont indispensables pour une gestion efficace de ces maladies ;

- donnant aux laboratoires de recherche, par l'allègement des procédures de demandes d'autorisation et de contrôle, la possibilité de reprendre, en termes de compétence et d'expertise, la place prépondérante dans les projets internationaux sur les MOT qu'ils ont progressivement perdue. Cet allègement pourrait notamment concerner les échanges de MOT entre la France et les pays européens, voire au niveau mondial, qui ne seraient plus entravés par des contraintes en douanes, spécifiques à ces agents.

Les experts soulignent l'importance de préserver d'une part le réseau des laboratoires de diagnostic de première intention et ses capacités de diagnostic et, d'autre part, le patrimoine national que constituent les collections de MOT, ce que permettrait un allègement de la réglementation MOT.

Ces recommandations pourront servir aux instances décisionnaires à l'occasion d'une actualisation législative de la réglementation MOT.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie par l'Agence nationale de sécurité du médicament pour porter avis sur le projet de liste des micro-organismes et toxines (MOT), concernant ceux destinés à un usage vétérinaire, dans le cadre de l'actualisation de la réglementation des MOT. À cette occasion, l'Agence a également sollicité, dans le cadre d'une auto-saisine liée à ce même sujet, le groupe de travail pour étudier les mesures visant à réduire les impacts de la réglementation en santé publique vétérinaire, tout en préservant la maîtrise des risques associés aux MOT.

S'agissant de la question de la saisine relative au projet de liste de MOT, l'Agence endosse les conclusions des experts portant commentaires et propositions de modification des deux annexes du projet d'arrêté.

S'agissant de l'analyse menée dans la part d'expertise sous auto-saisine, l'Anses retient de l'analyse et des conclusions des experts les éléments ci-après.

Elle note que la mise en œuvre de la réglementation relative aux micro-organismes et toxines a conduit à un renforcement notable des mesures de sûreté et de sécurité biologiques en laboratoire. Toutefois, du fait des pratiques qu'elle impose, dont certaines se superposent avec d'autres exigences réglementaires, elle a conduit au fil des années à une altération du maillage des laboratoires de diagnostic de première intention et à un affaiblissement de l'épidémiosurveillance, du diagnostic et, partant, de la réactivité de gestion d'émergences de maladies animales dues à des MOT.

Au-delà, d'autres impacts comme la destruction de souches et de collections de souches, une perte de compétitivité des équipes françaises au plan international, en particulier du fait de leur retrait progressif des programmes de recherche internationaux dans le domaine des MOT, constituent des éléments dont l'Anses souligne qu'ils sont de nature à induire une perte de connaissances et de compétences sur les MOT.

L'Agence estime que ces difficultés appellent, au-delà d'une tenue à jour périodique des listes de MOT, à engager une révision de cette réglementation afin d'y apporter les allègements utiles – notamment en approfondissant les suggestions identifiées dans le présent avis - tout en veillant à l'équilibre avec les objectifs de sécurité et de sûreté biologiques. Cette révision devrait tenir compte de l'application des exigences provenant d'autres réglementations françaises et européennes qui s'imposent à ces mêmes activités (code du travail, réglementations sur les OGM et les biens à double usage, conventions sur les armes chimiques et biologiques...). Enfin, au vu des résultats de l'expertise et des retours des auditions effectuées, l'Agence souligne que ce processus de révision gagnerait à impliquer des acteurs de laboratoires afin de générer une meilleure compréhension et adhésion aux dispositions qui en résulteront, qui sont des garants importants pour une bonne observance dans la durée.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Micro-organismes, toxines, réglementation, biosécurité, biosûreté

Microorganisms, toxins, regulation, biosafety, biosecurity

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Avis de l'Anses relatif à la proposition d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT) concernant les MOT destinés à un usage vétérinaire. (Saisine 2021-SA-0152). Maisons-Alfort : Anses, 12 p.

ANNEXE - ÉLÉMENTS REVISÉS

Les éléments surlignés en gris ont été ajoutés/modifiés.

Contexte

Les éléments suivants sont ajoutés :

Le temps imparti pour le traitement de la saisine n'a pas permis de recenser de manière large l'ensemble de ces conséquences.

Dans le présent chapitre de l'avis, le paragraphe 3.1 décrit les éléments d'analyses et de conclusion des experts relatifs à la partie auto-saisine de la question et le 3.2 présente les

résultats de l'expertise sur le projet de texte. Le paragraphe 3.3 constitue une synthèse de l'ensemble.

3.1.1 Impacts sur l'épidémiologie, le diagnostic et la gestion des maladies animales dues à des MOT

Les éléments surlignés en gris sont ajoutés :

(...) les experts recommandent la formalisation et la mise en place d'une procédure facilitée pour l'envoi des souches MOT identifiées sur le terrain (...)

3.1.2 Impacts sur les activités de recherche et de référence

Les éléments surlignés en gris sont modifiés :

(...) la possession d'une séquence d'ADN ou d'une toxine ne requiert pas le même niveau de sécurité sûreté qu'un organisme vivant capable de se multiplier après dispersion intentionnelle et/ou accidentelle

3.3 Conclusions et recommandations du GT MOT et du CES SABA

Les éléments surlignés en gris sont ajoutés :

En ce qui concerne l'impact du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire, en réponse à l'auto-saisine intégrée dans le même processus d'expertise, des témoignages.

- formalisant et mettant en place une procédure facilitée

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Les éléments suivants sont ajoutés :

(...) l'Agence a également sollicité, dans le cadre d'une « auto-saisine » liée à ce même sujet, le groupe de travail (...)

S'agissant de la question de la saisine relative au projet de liste de MOT

S'agissant de l'analyse menée dans la part d'expertise sous auto-saisine, l'Anses retient de l'analyse et des conclusions des experts les éléments ci-après. Elle note que (...)

Demande d'avis sur la proposition d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT)

**Saisine « n° 2021-SA-0152 Liste MOT »
Saisines liées « n°2010-SA-0128 et 128bis, 2011-SA-0165, 2011-SA-0304,
2013-SA-0077, 2014-SA-0163 »**

RAPPORT d'expertise collective

« CES SABA »

« GT MOT »

Avril 2022¹

¹ Annule et remplace le rapport d'avril 2022, voir annexe 3

Citation suggérée

Anses. (2022). Demande d'avis sur la proposition d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT). (Saisine 2021-SA-0152). Maisons-Alfort : Anses, 59 p.

Mots clés

Micro-organismes, toxines, réglementation, biosécurité, biosûreté

Microorganisms, toxins, regulation, biosafety, biosecurity

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

M. Henri-Jean BOULOUIS – Professeur émérite, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort + Bactériologie, diagnostic de laboratoire

Membres

M. Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse + Virologie, recherche, diagnostic de laboratoire

M. Francis DELPEYROUX – Chercheur invité à l'Institut Pasteur - Directeur de Recherche de l'INSERM (retraité) - Biologie des virus entériques – Entérovirus - Poliovirus (MOT) – Vaccins viraux.

M. David FRETIN – Chef du service bactériologie vétérinaire. Sciensano (B) + Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire

M. Julien MASQUELIER – Chef de l'unité Toxines. Sciensano (B) + Toxines, biosécurité, biosûreté

M. Boris PASTORINO – IR, Responsable laboratoire NSB3, Unité des Virus Émergents - (UVE). Aix-Marseille Université - IRD_190 - Inserm_1207 EFS - IRBA + virologie, laboratoire, biosécurité, biosûreté

M. Eric VALADE – Médecin général, Chef de la division Santé de Défense + infectiologie, laboratoire, biosécurité, biosûreté

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES SABA – 8 février 2022, 8 mars 2022 et 5 avril 2022

Président

M. Gilles MEYER – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants

Membres

Mme Catherine BELLOC – Professeur, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes - Infectiologie, approche intégrée de la santé animale, maladies des monogastriques.

M. Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccination, maladies des lagomorphes.

M. Alain BOISSY – Directeur de Recherche INRA Clermont-Ferrand – Theix - Bien-être animal

M. Henri-Jean BOULOUIS – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Bactériologie, diagnostic de laboratoire, immunologie, vaccinologie

M. Eric COLLIN – Vétérinaire libéral - médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies vectorielles, maladies à prion, épidémiologie, maladies des ruminants.

M. Jean-Claude DESFONTIS – Professeur Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes – Physiologie animale, bien-être animal, médicament vétérinaire

Mme Maria-Eleni FILIPPITZI – Vétérinaire épidémiologiste, Sciensano (B) – épidémiologie quantitative, évaluation de risque.

M. David FRETIN – Chef du service bactériologie vétérinaire. Sciensano (B) - Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire

Mme Emmanuelle GILLOT-FROMONT – Professeur, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon – Epidémiologie quantitative, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques, maladies réglementées.

M. Etienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRA Toulouse – Bactériologie, antibiorésistance, maladies des poissons.

M. Lionel GRISOT – Vétérinaire libéral - Médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies des ruminants.

Mme Nadia HADDAD – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - Infectiologie, maladies réglementées, zoonoses.

Mme Viviane HENAU – Chargée d'activités de recherche, Anses Lyon – Epidémiologie quantitative, évaluation de risque.

Mme Elsa JOURDAIN – Chargée de recherche, INRA Clermont-Ferrand - Theix - Zoonoses, épidémiologie, interface faune sauvage-animaux domestiques.

Mme Sophie LE BOUQUIN – LE NEVEU – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Epidémiologie, Santé et Bien-Etre, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Epidémiologie, évaluation de risque, approche intégrée de la santé animale

Mme Sophie LE PODER – Maître de conférences, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - virologie, immunologie, vaccinologie

Mme Elodie MONCHATRE-LEROY – Directrice du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage, Anses Nancy - Virologie, épidémiologie, évaluation de risques, faune sauvage

Mme Monique L'HOSTIS – Retraitée, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes – Parasitologie, santé des abeilles.

M. François MEURENS – Professeur, Oniris - Ecole Vétérinaire de Nantes - Virologie, immunologie, vaccinologie, pathologie porcine.

M. Pierre MORMEDE – Directeur de recherche émérite INRAE - Bien-être animal, stress.

Mme Carine PARAUD – Chargée de projet de recherche en parasitologie, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort – Parasitologie, maladies des ruminants.

Mme Ariane PAYNE – Chargée d'étude, OFB - Epidémiologie, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques.

Mme Carole PEROZ – Maître de conférences, Vetagro sup, Campus vétérinaire de Lyon, virologie, immunologie, vaccinologie.

Mme Claire PONSART – Chef de l'unité des zoonoses bactériennes, Laboratoire de Santé Animale, Anses Maisons-Alfort - Bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire.

M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège - Epidémiologie, évaluation de risque.

Mme Gaëlle SIMON – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Virologie Immunologie Porcines, Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Virologie, immunologie, maladies des monogastriques.

M. Jean-Pierre VAILLANCOURT – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal - Epidémiologie, biosécurité, zoonose, évaluation de risque.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Catherine COLLIGNON – Cheffe de projet scientifique – Anses Direction de l'évaluation des risques (DER), Unité d'évaluation des risques liés à la santé, à l'alimentation et au bien-être des animaux et aux vecteurs (UBSA2V)

Mme Florence ÉTORÉ – Cheffe d'unité – Anses DER, UBSA2V

Secrétariat administratif

M. Régis MOLINET – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Anses

M. Christophe CORDEVANT – Conseiller scientifique à la direction de la stratégie et des programmes (DSP).

M. Patrick FACH – Directeur de recherche, Chef d'Unité COLIPATH, coordinateur de la plateforme IdentityPath. Titulaire des autorisations de détention et de mise en œuvre des acides nucléiques pour tous les agents bactériens ou viraux reconnus comme MOT

M. Jacques-Antoine HENNEKINE – Chef de l'unité Staphylocoques, *Bacillus* et *Clostridium* (SBCL) du Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, titulaire MOT pour SEB

Mme Karine LAROUCAU – Cheffe d'unité adjointe de l'Unité Zoonoses bactériennes, Laboratoire de santé animale – Responsable de l'équipe *Chlamydia/Burkholderia* - Titulaire MOT pour *Burkholderia mallei* et *Burkholderia pseudomallei*.

Mme Caroline LE MARECHAL – Chargée de projet dans l'unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins au laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort. Responsable du LNR botulisme aviaire et en charge du management des risques pour les autorisations MOT *C. botulinum*

Mme Elodie MONCHATRE-LEROY – Directrice du Laboratoire de la rage et de la faune sauvage

M. Jean-François MUNOZ – Référent sécurité et sûreté biologiques

Mme Claire PONSART – Responsable de l'Unité Zoonoses bactériennes (UZB), Laboratoire de santé animale - Titulaire MOT pour *Brucella*

ANSM

M. Sébastien EMONET – Fonction et Organisme d'appartenance

M. Cyril STERN – Chef de pôle. Pôle inspection des produits biologiques 2. Direction de l'inspection

Labocéa

M. Guillaume LEQUEUX – Chef du service anatomie pathologique, microbiologie vétérinaire, Fougères

INRAE

M. Philippe MARIANNEAU – Référent National Sécurité et Sureté Biologiques du Département Santé Animale

INSTITUT PASTEUR

M. François THEBAULT – Délégué à la sécurité et à la sûreté

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| Présentation des intervenants | 3 |
| Glossaire | 9 |
| Sigles et abréviations | 10 |
| Liste des tableaux | 11 |
| 1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise | 12 |
| 1.1 Contexte | 12 |
| 1.2 Objet de la saisine | 12 |
| 1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation..... | 13 |
| 1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts | 13 |
| 2 Contexte réglementaire | 14 |
| 3 Impacts du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire | 17 |
| 3.1 Impacts sur l'épidémiosurveillance, le diagnostic et la gestion des maladies animales dues à des MOT..... | 19 |
| 3.1.1 Pour les demandes d'autorisation de détention et de mise en œuvre..... | 19 |
| 3.1.2 Impact sur les envois d'échantillons/souches pour confirmation diagnostique | 21 |
| 3.1.3 Impacts en termes d'épidémiosurveillance et de diagnostic | 21 |
| 3.2 Impacts sur les activités de recherche et de référence..... | 23 |
| 3.2.1 Impacts sur le fonctionnement des établissements | 23 |
| 3.2.2 Impacts sur les activités de recherche..... | 24 |
| 3.2.3 Impact sur les activités de référence et de surveillance des LNR/LRUE..... | 26 |
| 4 Commentaires sur le projet d'arrêté fixant la liste des MOT | 29 |
| 4.1 Présentation des propositions de modifications de liste des MOT..... | 29 |
| 4.2 Commentaires sur l'Annexe A (ex- Annexe I) du projet d'arrêté..... | 31 |
| 4.3 Commentaires sur l'annexe B (ex-Annexe II) du projet d'arrêté | 32 |
| 4.3.1 <i>Clostridium botulinum</i> et toxines botuliques..... | 32 |
| 4.3.2 <i>Clostridium baratii</i> et <i>C. butyricum</i> productrices de neurotoxines..... | 32 |
| 4.3.3 <i>Francisella tularensis</i> | 32 |
| 4.3.4 <i>Brucella</i> | 32 |
| 4.3.5 <i>Influenza A virus</i> | 34 |
| 4.4 Toxines..... | 34 |
| 4.4.1 Saxitoxine | 34 |
| 4.4.2 Mycotoxines HT-2 et T-2 | 35 |
| 4.4.3 Modeccine, viscumine et volkensine | 35 |
| 4.4.4 Entérotoxines de <i>S. aureus</i> | 35 |
| 4.4.5 Commentaire sur la liste des toxines..... | 36 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.5 | Parties de MOT..... | 36 |
| 5 | Conclusions et recommandations du groupe de travail..... | 41 |
| 6 | Bibliographie..... | 44 |
| | Annexe 1 Lettre de saisine | 47 |
| | Annexe 2 Extrait de l’Avis du Comité Scientifique du HCB du 20 décembre 2019 relatif à l’évolution de la réglementation sur les micro-organismes et toxines (MOT), en particulier sur les parties de MOT et les OGM qui devront figurer sur la liste des MOT | 56 |
| | Annexe 3 Eléments révisés | 59 |

Glossaire

Biens à double usage : produits, y compris les logiciels et les technologies, susceptibles d'avoir une utilisation tant civile que militaire. Ils incluent les biens susceptibles d'être utilisés aux fins de la conception, de la mise au point, de la fabrication ou de l'utilisation d'armes nucléaires, chimiques ou biologiques ou de leurs vecteurs, y compris tous les biens qui peuvent à la fois être utilisés à des fins non explosives et intervenir de quelque manière que ce soit dans la fabrication d'armes nucléaires ou d'autres dispositifs nucléaires explosifs (d'après le Règlement (UE) 2021/821 du Parlement et du Conseil du 20 mai 2021 instituant un régime de l'Union de contrôle des exportations, du courtage, de l'assistance technique, du transit et des transferts en ce qui concerne les biens à double usage (refonte))

Conseil national consultatif pour la biosécurité (CNCB) : institué par le décret n°2015-1095 du 31 août 2015, il réunit le Secrétaire général de la défense et de la sécurité nationale, des personnalités scientifiques reconnues proposées par l'Académie des sciences, ainsi que des hauts fonctionnaires des ministères concernés. Le CNCB a pour mission de réfléchir aux détournements possibles d'usage des sciences du vivant et aux moyens de s'en prémunir. Sur saisine des établissements publics ou reconnus d'utilité publique ayant une mission de recherche, de l'Académie des sciences ou des autorités publiques, il effectue des travaux de prospective et de veille sur les recherches à caractère dual dans le domaine des sciences de la vie. Il propose des mesures propres à assurer la prévention, la détection et le traitement d'éventuelles menaces. A ce titre, il formule des recommandations visant à s'assurer que les progrès des sciences biologiques ne soient pas générateurs de nouvelles menaces. Il participe à l'information du public et à la responsabilisation du monde scientifique et de la santé. Enfin, il veille au respect et à l'amélioration des engagements internationaux²

Sécurité biologique ou biosécurité : ensemble des mesures et des pratiques visant à protéger les personnes et l'environnement des conséquences liées à l'infection, à l'intoxication ou à la dissémination de micro-organismes ou de toxines (d'après le Code de la santé publique - CSP)

Sûreté biologique ou biosûreté : ensemble des mesures et des pratiques visant à prévenir les risques de perte, de vol, de détournement ou de mésusage de tout ou partie de micro-organismes ou de toxines dans le but de provoquer une maladie ou le décès d'êtres humains (d'après le CSP)

² <http://www.sgdsn.gouv.fr/missions/lutter-contre-la-prolifération/le-conseil-national-consultatif-pour-la-biosecurite-cncb/>

Sigles et abréviations

| | |
|--|--|
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| ANSM | Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé |
| ARN | Acide ribonucléique |
| b/pb | Bases / paires de bases |
| CBRNe | <i>Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and high yield Explosive</i> |
| CIAB | Convention sur l'interdiction des armes biologiques, officiellement Convention sur l'interdiction de la mise au point, de la fabrication et du stockage des armes bactériologiques ou à toxines et sur leur destruction (<i>Biological Weapons Convention - BWC</i>) |
| CIAC | Convention sur l'interdiction des armes chimiques (<i>Chemical Weapons Convention – CWC</i>) |
| CNCB | Conseil national consultatif pour la biosécurité |
| CNR | Centre national de référence (santé humaine) |
| CSP | Code de la santé publique |
| CSST | Comité Scientifique Spécialisé Temporaire |
| DL50 | Dose létale 50 : dose d'une substance/préparation dont l'administration unique, par voie orale ou cutanée, provoque la mort de 50 % de la population traitée dans des conditions d'expérimentation précises |
| EIL | Essai interlaboratoires |
| HCB | Haut Conseil des biotechnologies |
| LNR | Laboratoire national de référence (santé animale) |
| LRUE | Laboratoire de référence de l'Union européenne |
| LVD | Laboratoire vétérinaire départemental |
| MOT | Micro-organisme et toxine |
| NGS | Séquençage à haut débit ou <i>next-generation sequencing</i> |
| NCTC | <i>National Collection of Type Cultures</i> |
| OIAC | Organisation pour l'interdiction des armes chimiques (<i>Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons – OPCW</i>) |
| ORSEC | Organisation de la réponse de sécurité civile |
| PPI | Plan particulier d'intervention |
| RLB2P | Réseau des laboratoires Biotox-Piratox-Piratome |
| SCP | Staphylocoques à coagulase positive |
| SE (ou ES) | Entérotoxine staphylococcique |
| SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH et SEI | Entérotoxines staphylococciques A, B, C, D, E, G, H et I |
| SGDSN | Secrétariat général de la Défense et de la Sécurité nationale |
| TSST-1 | <i>Toxic Shock Syndrome Toxin – 1</i> |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 Groupes d'agents biologiques (bactéries, virus, parasites, prions, champignons) en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent pour les travailleurs (art R. 4421-3 du Code du travail) | 15 |
| Tableau 2 Classement en groupes, prévu par l'article L. 532-1 du Code de l'environnement, des organismes, en particulier des micro-organismes, génétiquement modifiés en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou pour l'environnement | 16 |
| Tableau 3 Comparaison entre l'arrêté du 30 avril 2012 et le projet d'arrêté pour les bactéries | 29 |
| Tableau 4 Comparaison entre l'arrêté du 30 avril 2012 et le projet d'arrêté fixant la liste des MOT pour les virus | 30 |
| Tableau 5 Comparaison entre l'arrêté du 30 avril 2012 et le projet d'arrêté fixant la liste des MOT pour les toxines | 31 |
| Tableau 6 Modifications apportées dans le rapport révisé de septembre 2022..... | 59 |

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

Selon les termes de la saisine, « l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), la direction générale de la santé (DGS) et le secrétariat général de la défense et de la sécurité nationale (SGDSN) ont conjointement identifié en 2018 la nécessité de faire évoluer les dispositions actuelles de l'arrêté du 30 avril 2012 modifié fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT). Le processus d'évolution retenu a garanti la prise en compte simultanée des aspects de sécurité biologique et de sûreté biologique avec l'ensemble des parties prenantes. Il s'est déroulé en trois étapes successives :

1. Une actualisation des bactéries, toxines et virus qui doivent figurer sur la liste des MOT par un comité scientifique spécialisé temporaire (CSST) de 13 experts externes à l'ANSM, qui a rendu sa proposition le 3 septembre 2019. A ce titre, une méthodologie décisionnelle pour classer toute bactérie, toxine et tout virus a permis de réviser substantiellement la liste des MOT.
2. Une saisine du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) pour proposer une révision de la notion de « partie de MOT » présentant un risque réel ou potentiel pour la santé et pour définir les critères justifiant le placement d'OGM sous ce régime d'autorisation. L'avis du HCB rendu le 20 décembre 2019 a été étayé par la saisine de cinq centres nationaux de référence, s'agissant spécifiquement des 'parties de bactéries'.
3. Un avis du Conseil national consultatif pour la biosécurité (CNCB) afin qu'il apporte un éclairage sur les propositions retenues au regard des enjeux de défense et de sûreté nationales. Cet avis a été rendu le 12 mai 2021.

A son terme, ce schéma d'élaboration d'une nouvelle liste des MOT a conduit l'ANSM à finaliser une proposition d'arrêté.

En effet, les dispositions de l'article L.5139-1 du code de la santé publique (CSP) établissent qu'« un arrêté du ministre chargé de la santé pris sur proposition du directeur général de l'ANSM fixe la liste des MOT. Lorsque ces MOT sont destinés à un usage vétérinaire, le directeur général de l'ANSM sollicite, préalablement à sa proposition, l'avis du directeur général de l'Anses. »

1.2 Objet de la saisine

L'avis de l'Anses est sollicité « sur la proposition de l'ANSM d'arrêté fixant la liste des MOT, concernant les MOT destinés à un usage vétérinaire ».

L'Anses a été saisie à plusieurs reprises, en particulier lors de la publication du décret relatif aux MOT, sur des projets d'arrêté fixant la liste des MOT et sur les modalités de mise en œuvre de cette réglementation³. Les experts avaient alors identifié de possibles impacts liés à certains aspects du dispositif réglementaire MOT, sur l'efficacité du réseau d'épidémiosurveillance et la rapidité de gestion de foyers infectieux, ainsi que sur la dynamique et le développement de la recherche sur les MOT. Des mesures avaient été proposées dans ces avis pour réduire ces impacts.

Dans ce contexte, outre l'avis sur le projet d'arrêté objet de la saisine, l'Agence répondra sous auto-saisine à une question complémentaire visant à proposer également des mesures dans l'objectif de réduire les impacts en santé publique vétérinaire, tout en préservant la maîtrise optimisée du risque.

³ Notamment quatre avis (2010-SA-0128, 2010-SA-0128bis, 2011-SA-0165 et 2011-SA-0304) sur des projets (i) d'arrêté fixant la liste des MOT, (ii) de décision fixant le contenu du dossier technique accompagnant la demande d'autorisation prévue à l'article R.5139-1 du CSP et (iii) d'arrêté relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R.5139-1 du CSP

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail « MOT », rattaché au comité d'experts spécialisé « SABA (Santé et Bien-être des animaux) » l'instruction de cette saisine. Le groupe de travail s'est réuni les 9 et 20 décembre 2021, les 4 janvier, 14 février, 14 mars et 28 mars 2022.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 7 septembre 2021, 8 janvier, 8 février, 8 mars et 5 avril 2022. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Deux experts du CES, en conflits d'intérêts, ont été auditionnés par le GT et n'ont pas participé aux discussions ni à la validation du rapport en CES.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

2 Contexte réglementaire

Le projet d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT) objet de la saisine s'inscrit dans le contexte plus large de la réglementation éponyme prévue dans le Code de la santé publique (CSP) et régie par le décret 2010-736 du 30 juin 2010 relatif aux MOT⁴, définis dans ces textes comme « *micro-organisme ou toxine dont l'emploi serait de nature à présenter un risque pour la santé publique et les produits qui en contiennent* ».

L'objectif de la réglementation MOT est d'assurer la sécurité biologique (dissémination involontaire) et la sûreté biologique (dissémination volontaire), définies comme suit (article R. 5139-18 du décret 2010-736) :

« 1° **Sécurité biologique** : l'ensemble des mesures et des pratiques visant à protéger les personnes et l'environnement des conséquences liées à l'infection, à l'intoxication ou à la dissémination de micro-organismes ou de toxines ;

2° **Sûreté biologique** : l'ensemble des mesures et des pratiques visant à prévenir les risques de perte, de vol, de détournement ou de mésusage de tout ou partie de micro-organismes ou de toxines dans le but de provoquer une maladie ou le décès d'êtres humains. »

Cette réglementation repose sur un régime d'autorisation pour toute opération de production, fabrication, transport, importation, exportation, détention, offre, cession, acquisition et emploi de tout ou partie de MOT et des produits en contenant. Ce régime vise à identifier, localiser et suivre les travaux sur les MOT, et connaître les stocks de ces agents pathogènes et toxines. La délivrance de ces autorisations, ainsi que les inspections des établissements détenant ou manipulant des MOT, relèvent de l'ANSM. L'autorisation est attribuée à une personne physique, le titulaire, responsable pénalement en cas de non-respect de la réglementation, sur la base d'un dossier technique très détaillé à renseigner, sur les personnes habilitées à les manipuler et sur les installations⁵.

Plusieurs textes sont adossés au décret 2010-736, six arrêtés et la décision de l'ANSM relative au contenu du dossier technique d'autorisation :

- L'arrêté du 17 mars 2011 relatif aux compétences et qualifications dont le titulaire de l'autorisation mentionnée à l'article R. 5139-1 du CSP justifie pour lui-même ainsi que pour les personnes qu'il habilite pour contribuer sous sa responsabilité aux opérations faisant l'objet de cette autorisation⁶,
- L'arrêté du 30 avril 2012 fixant la liste des MOT prévue à l'article L. 5139-1 du CSP⁷,
- L'arrêté du 11 juin 2013 modifiant l'arrêté du 23 janvier 2013 relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R. 5139-18 du CSP⁸,
- L'arrêté du 4 novembre 2015 fixant les doses et concentrations maximales des micro-organismes et des toxines figurant sur la liste prévue à l'article L. 5139-1 et pris en application de l'article R. 5139-20 du CSP⁹,
- La décision de l'ANSM du 10 janvier 2018 fixant le contenu du dossier technique mentionné à l'article R.5139-3 et accompagnant la demande d'autorisation prévue à l'article R.5139-1 du CSP¹⁰,

⁴ <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000022415024>

⁵ <https://ansm.sante.fr/vos-demarches/chercheur/demander-une-autorisation-pour-les-micro-organismes-et-toxines>

⁶ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000023776935/>

⁷ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000025837146/>

⁸ <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000027607859>

⁹ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000031518796/>

¹⁰ [http://dev4-afssaps-marche2017.integra.fr/Dossiers/Micro-organismes-et-toxines-hautement-pathogenes-MOT/Reglementation-des-micro-organismes-et-toxines/\(offset\)/1](http://dev4-afssaps-marche2017.integra.fr/Dossiers/Micro-organismes-et-toxines-hautement-pathogenes-MOT/Reglementation-des-micro-organismes-et-toxines/(offset)/1)

- L'arrêté du 20 décembre 2019 fixant les mentions qui figurent sur les états annuels des stocks prévus à l'article R. 5139-14 du CSP¹¹,
- L'arrêté du 20 décembre 2019 fixant les renseignements qui figurent dans le registre ou les enregistrements mentionnés à l'article R. 5139-17 du CSP, notamment les modalités de leur tenue et les informations qu'ils contiennent¹².

L'arrêté du 30 avril 2012 fixant la liste des MOT comprend deux annexes :

- l'annexe I de l'arrêté en vigueur listant « (1°) les micro-organismes (MO) hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique (...), (2°) les MO génétiquement modifiés (GM) issus d'un des MO hautement pathogènes mentionnés au 1° de ladite annexe, lorsqu'ils présentent un risque pour la santé publique supérieur ou équivalent à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus, (3°) les MOGM issus d'un des MO mentionnés au 1° de l'annexe II, lorsqu'ils présentent un risque pour la santé publique strictement supérieur à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus »,
- l'annexe II listant d'autres MOT, OGM, ainsi que les parties de MOT. Dans cet arrêté de 2012, une partie de MO est définie comme « un fragment du matériel génétique dès lors que sa séquence en acide désoxyribonucléique (ADN) dépasse 500 paires de base (pb) de longueur ou sa séquence en acide ribonucléique (ARN) dépasse 500 bases (b) de longueur ». Une partie de toxine est définie comme « un fragment des toxines protéiques dès lors que sa séquence peptidique dépasse 167 acides aminés de longueur. »

Les établissements manipulant des MOT listés à l'annexe I doivent définir un plan particulier d'intervention (PPI), qui constitue un volet des dispositions spécifiques du plan ORSEC (Organisation de la réponse de sécurité civile) départemental.

Il convient de souligner que la réglementation MOT vient s'ajouter à la réglementation relative à la sécurité biologique régie par le Code du travail, pour laquelle l'arrêté du 16 novembre 2021 fixe la liste des agents pathogènes auxquels les travailleurs sont ou risquent d'être exposés. Ces agents biologiques (bactéries, virus, parasites, prions, champignons) sont classés au sein de quatre groupes présentés à l'article R. 4421-3 du Code du travail¹³ (Tableau 1). Ce dernier reprend une classification européenne unique entérinée par la directive 2000/54/CE, qui fournit également des indications sur les niveaux de confinement des laboratoires.

Tableau 1 Groupes d'agents biologiques (bactéries, virus, parasites, prions, champignons) en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent pour les travailleurs (art R. 4421-3 du Code du travail)

| | |
|----------|---|
| Groupe 1 | « Agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme » |
| Groupe 2 | « Agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est peu probable et il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces » |
| Groupe 3 | « Agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces » |
| Groupe 4 | « Agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs. Le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé. Il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace » |

¹¹ <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000039663338/>

¹² <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000039663324/>

¹³ https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000018530508/

S'agissant des OGM, un classement en groupes des organismes, en particulier des micro-organismes, génétiquement modifiés en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou pour l'environnement est prévu par l'article L. 532-1 et défini dans l'article D.532-2 du Code de l'environnement¹⁴. Ce classement obéit aux critères détaillés dans le Tableau 2.

Tableau 2 Classement en groupes, prévu par l'article L. 532-1 du Code de l'environnement, des organismes, en particulier des micro-organismes, génétiquement modifiés en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou pour l'environnement

| | |
|------------|---|
| Groupe I | « Les organismes, en particulier les microorganismes, génétiquement modifiés réunissant les conditions suivantes : a) L'organisme, en particulier le micro-organisme, récepteur ou parental, n'est susceptible ni de provoquer une maladie chez l'homme, les animaux ou les végétaux ni de causer des effets négatifs sur l'environnement ; b) Le vecteur et l'insert sont d'une nature telle qu'ils ne puissent doter l'organisme, notamment le micro-organisme, génétiquement modifié d'un phénotype susceptible de provoquer une maladie chez l'homme, les animaux ou les végétaux ou de causer des effets négatifs sur l'environnement ; c) L'organisme génétiquement modifié, en particulier le micro-organisme, n'est susceptible ni de provoquer une maladie chez l'homme, les animaux ou les végétaux ni de causer des effets négatifs sur l'environnement » |
| Groupe II | « Les agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs, ou causer des effets négatifs sur l'environnement. Leur propagation dans la collectivité est peu probable et il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces » |
| Groupe III | « Les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs, ou causer des effets négatifs sur l'environnement. Leur propagation dans la collectivité est possible mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces » |
| Groupe IV | « Les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs, ou causent des effets négatifs sur l'environnement. Le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé et il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace » |

Concernant le transport, le règlement (UE) 2021/821 du Parlement européen et du Conseil du 20 mai 2021 instituant un régime de l'Union de contrôle des exportations, du courtage, de l'assistance technique, du transit et des transferts en ce qui concerne les biens à double usage (refonte)¹⁵ inclut des agents pathogènes humains, des agents de zoonoses et des toxines, ainsi que les agents pathogènes animaux. Certains agents pathogènes et toxines figurent dans les deux réglementations, conduisant ainsi le titulaire d'une autorisation MOT à répondre aux exigences des deux réglementations.

La réglementation relative aux MOT est régie par le CSP, le décret 2010-736 du 30 juin 2010, les arrêtés qui y sont adossés, dont l'arrêté fixant la liste des MOT, et la décision de l'ANSM fixant le contenu du dossier technique. Elle a pour objectif la protection de la santé publique, en termes de sûreté biologique, pour prévenir un usage malveillant des MOT, et de sécurité biologique. Cette réglementation se fonde sur un régime d'autorisation attribuée à une personne physique, le titulaire de l'autorisation. Elle s'applique en outre à toute opération concernant tout ou partie de MOT. Divers types d'établissements sont concernés par cette réglementation, parmi lesquels des laboratoires de biologie médicale ou de diagnostic vétérinaire, aux établissements de recherche, de développement et d'enseignement, établissements industriels de fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire, de produits cosmétiques ou de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Le non-respect de la réglementation expose le titulaire à de lourdes sanctions pénales.

¹⁴ https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000024587620

¹⁵ Cette refonte résulte de nombreuses modifications substantielles apportées au règlement 428/2009/CE du Conseil du 5 mai 2009 instituant un régime communautaire de contrôle des exportations, des transferts, du courtage et du transit de biens à double usage

3 Impacts du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire

Ce chapitre décrit les éléments d'analyses et de conclusion des experts relatifs à la question complémentaire sous auto-saisine.

Les MOT en santé publique vétérinaire de la liste de l'arrêté du 30 avril 2012 sont en pratique manipulés dans le cadre d'activités diverses :

- dans le cadre de l'exercice de la médecine vétérinaire, de nombreux laboratoires d'analyses vétérinaires, en particulier les laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) et les laboratoires nationaux de référence (LNR), sont directement concernés par la réglementation relative aux MOT, pour le diagnostic de zoonoses telles que la fièvre charbonneuse, la brucellose, la tularémie ou l'influenza aviaire. Lors de suspicion clinique, des prélèvements vont être réalisés et adressés à des laboratoires de diagnostic de première intention. Le cas échéant, des échantillons sont transmis au LNR *ad hoc* pour confirmation du diagnostic et contribution à l'actualisation de sa souchothèque,
- dans le cadre de travaux de recherche et de référence, par exemple des projets internationaux, pour la mise au point de vaccins, de médicaments ou de réactifs, d'essais interlaboratoires (EIL) organisés par les LNR.

La mise en œuvre de la réglementation MOT a permis un renforcement notable de la mise en application des mesures de biosécurité en laboratoire, par exemple les mesures de confinement, la gestion des stocks, les procédures de décontamination et d'inactivation. Dans certains cas toutefois, cette réglementation peut freiner, voire stopper les travaux sur des MOT. A ce titre, plusieurs avis de l'Afssa et l'Anses¹⁶ en 2010-2011 avaient souligné, au moment de la publication du décret 2010-736 du 30 juin 2010, les conséquences possibles de la mise en application de ce texte et formulé quelques propositions visant à faciliter le travail sur des MOT, sans pour autant affecter la biosécurité et la biosûreté requises pour ces agents.

- Dès l'avis 2010-SA-0128 du 11 juin 2010 relatif à un projet d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines mentionnés à l'article L.5139-1 du CSP, l'Afssa soulignait en préambule « *les contraintes supplémentaires très lourdes que le projet de décret et les textes d'application dont il a connaissance, vont faire peser sur les laboratoires de diagnostic et de recherche en santé animale et en santé publique. Non seulement ces contraintes sont de nature à ralentir l'activité des LNR, mais elles pourraient aussi pénaliser fortement les laboratoires réalisant les analyses de première intention. Le retard à l'établissement de certains diagnostics, notamment en matière de zoonoses, en raison des délais inhérents aux demandes d'autorisation, la non-réalisation de certaines analyses en raison de l'impossibilité d'acheminer les prélèvements initiaux dans les délais garantissant leur viabilité, ou du fait de la difficulté pour les laboratoires de détenir des souches de référence, pourraient avoir de graves conséquences au plan de la santé publique.* » L'avis concluait sur « *la nécessité de prévoir des procédures allégées pour certains laboratoires, notamment ceux qui sont impliqués dans le diagnostic et l'épidémiosurveillance des maladies animales et zoonotiques, dont l'activité est essentielle en matière de santé publique et de santé publique vétérinaire.* »
- Dans la continuité de ce premier avis, l'avis 2010-SA-0128bis de l'Anses du 13 juillet 2010 relatif à un projet de décision fixant le contenu du dossier technique accompagnant la demande d'autorisation prévue à l'article R.5139-1 du CSP, détaillait dans un chapitre les « *problèmes soulevés par certains aspects du dispositif réglementaire en relation avec la spécificité des établissements de diagnostic et de recherches vétérinaires* » et proposait des mesures d'allègement, notamment l'envoi des souches des LVD vers les LNR sur un

¹⁶ L'Anses résulte de la fusion au 1^{er} juillet 2010 de l'Afssa et de l'Afsset

mode déclaratif et non une demande d'autorisation. Cet avis soulignait que les parties de MOT présentent un risque quasi-nul pour la santé publique.

- L'avis 2011-SA-0165 du 14 octobre 2011 relatif à un projet d'arrêté relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R. 5139-18 du CSP a ensuite souligné que « *les difficultés issues de la mise en application de ce décret sont liées à la prise en compte des parties de MOT, de chaque souche de micro-organisme, de chaque type de toxine, et de toute opération les concernant, dans le cadre des demandes d'autorisation relatives aux MOT. Il apparaît en outre que les dispenses d'autorisation prévues à l'article R.5139-2 (alinéa 3) relatives au fonctionnement des établissements recevant des échantillons biologiques aux seules fins d'analyse de biologie médicale ou vétérinaire sont trop restrictives.* »

Concernant les parties de MOT, cet avis insistait à nouveau sur le fait que « *les amorces nucléotidiques sont très largement employées pour l'identification d'agents pathogènes, MOT ou non, émergents ou non. Elles font régulièrement l'objet de recherches pour les améliorer et, dans le cas d'infections émergentes, de nouvelles amorces sont élaborées par les établissements de recherche et de diagnostic. La manipulation d'amorces nucléotidiques ainsi que de séquences partielles de gènes bactériens ou viraux, produits d'amplification par PCR ou autres, est également très courante dans les laboratoires de recherche. Dans le cadre de la présente saisine, les experts ont de nouveau insisté sur l'absence de risque, au regard de la biosécurité et de la biosûreté, lié aux manipulations de ces parties de MOT.* »

Dans ses conclusions et recommandations, l'Anses recommandait en 2011 que « *le décret n°2010-736 relatif aux MOT soit modifié afin (i) qu'il ne concerne que les micro-organismes entiers viables et les toxines susceptibles de provoquer des effets néfastes pour l'Homme, (ii) qu'il concerne les espèces ou genres de micro-organismes et les toxines, et non chaque souche de micro-organisme ou type de toxine, que les autorisations puissent être demandées pour un type d'opérations et non pour chaque opération, que les échanges de MOT puissent se faire selon des modalités adaptées aux établissements (notamment pour les échanges entre laboratoires de diagnostic et LNR/CNR, qui nécessiteraient des procédures simplifiées ou mieux, des dispenses à l'obligation systématique de demande d'autorisation).* »

Il soulignait que *le niveau d'exigence demandé dans le projet d'arrêté [relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R. 5139-18 du CSP] peut remettre en question le fonctionnement de certains établissements, notamment les structures de petite taille. C'est le cas, en particulier, des laboratoires d'analyse vétérinaire qui ne seraient plus en mesure de travailler sur les MOT couramment isolés dans la faune domestique ou sauvage sur le territoire national, ce qui conduirait à un défaut de diagnostic des maladies correspondantes et une altération du maillage indispensable à leur épidémiologie. C'est le cas aussi pour des petites structures de recherche, dont l'activité, lorsqu'elle concerne les MOT, pourrait être freinée ou supprimée.*

Ainsi, le Gecu considère nécessaire d'aménager le texte présenté afin d'éviter que, tout en garantissant la sûreté biologique, l'application de cet arrêté ne permette plus de garantir le fonctionnement optimal des activités de diagnostic et de recherche au service de la santé publique et de la santé publique vétérinaire. »

- L'avis 2011-SA-0304 du 16 mars 2012 relatif à un projet d'arrêté révisant la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L.5139-1 du CSP abordait à nouveau la question des parties de MOT, dont la notion était précisée dans le projet d'arrêté. Dans ses conclusions, l'Anses :
 - *« reconnaît comme positive la proposition de définir la notion de « partie » de MOT en se référant, sur la base d'un raisonnement pragmatique, à des propositions de l'OMS relatives au virus de la variole, et en particulier de définir une taille minimale de 500 bases ou paires de bases pour les parties nucléotidiques de MOT appartenant aux listes des annexes I et II ;*

- *considère inutile de limiter artificiellement à 167 acides aminés la taille des séquences peptidiques considérées comme « parties » de MOT issues des toxines désignées à l'annexe II, alors que leur faible nombre permet d'envisager une approche au cas par cas fondée sur de réels arguments scientifiques relatifs à leur activité toxique ;*
- *propose d'exclure du champ d'application de l'arrêté les protéines qui ne correspondent pas à des toxines, ainsi que leurs séquences peptidiques, quelle qu'en soit la taille. »*

En 2015, un chercheur du Centre d'Etudes d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé - CNRS a souligné les risques de perte de compétitivité des laboratoires de recherche du fait des contraintes de la réglementation MOT (coûts, délai pour l'obtention d'une autorisation de détention et de mise en œuvre, frein au recrutement de stagiaires sur des sujets MOT, limitation des échanges de MOT). Il en résulte un risque d'abandon progressif de travaux de recherche sur les MOT en France, préjudiciable à long terme en cas d'épidémie naturelle ou d'acte de bioterrorisme impliquant des MOT (Devaux 2015). Un professeur de virologie à la Faculté de Médecine de la Pitié Salpêtrière a mis en avant le caractère déraisonnable de la réglementation et ses répercussions néfastes en biologie médicale, notamment en virologie (Agut 2015). Le Pr Agut déplore en particulier que la liste des MOT « *inclut aussi les fragments d'acide nucléique génomique des micro-organismes considérés s'ils dépassent 500 bases de longueur, une curiosité spécifique française, chronophage, coûteuse et dommageable pour la biologie médicale aussi bien que pour la compétitivité de la recherche française et les collaborations internationales* ». De plus cette singularité française freine les collaborations européennes et complexifie l'harmonisation, la simplification des réglementations internationales (Beeckman et Rüdelsheim 2020).

Après plus de dix années d'application de ce texte, plusieurs de ces impacts ont été rapportés par des titulaires de MOT, qui constituent un point d'attention dans le présent rapport, dans l'objectif de les préciser et de suggérer des propositions visant à les réduire, toujours dans le respect des mesures de biosécurité et biosûreté.

Le temps imparti pour le traitement de la saisine n'a pas permis de recenser de manière large l'ensemble de ces conséquences, par exemple par la réalisation d'une enquête à large échelle auprès d'établissements manipulant des MOT. Toutes les auditions ont cependant apporté des informations convergentes, relatives à la manipulation des MOT dans les laboratoires de diagnostic de première intention et dans les établissements de recherche et de référence. Plusieurs exemples d'impacts sont ainsi présentés dans les paragraphes ci-dessous, fondés sur les retours d'expérience des personnes auditionnées et d'experts du GT.

3.1 Impacts sur l'épidémiosurveillance, le diagnostic et la gestion des maladies animales dues à des MOT

3.1.1 Pour les demandes d'autorisation de détention et de mise en œuvre

Il est essentiel que certains MOT puissent faire l'objet d'une épidémiosurveillance régulière, accompagnée de la conservation des souches, indispensable pour les études en épidémiologie moléculaire. La suspicion d'un foyer d'infection dû à un MOT (fièvre charbonneuse, brucellose, botulisme...) et/ou la détection d'un MOT lors d'analyses par un laboratoire vétérinaire de diagnostic de première intention doit être confirmée rapidement pour permettre la mise en place de mesures de gestion du cas ou du foyer dans les meilleurs délais. Cette confirmation diagnostique implique des échanges réguliers de prélèvements/souches entre ces laboratoires d'analyse et les LNR.

Dans ce contexte, la réglementation prévoit, pour les laboratoires de diagnostic de première intention, une dispense d'autorisation de détention si les échantillons ne sont pas conservés au-delà de 30 jours. Cependant, ces laboratoires sont soumis à une demande d'autorisation pour l'envoi au LNR de chaque échantillon biologique contenant des MOT, ou des MOT eux-mêmes.

Dans les laboratoires de microbiologie, en particulier de bactériologie, la confirmation diagnostique implique fréquemment la mise en culture d'une souche et sa comparaison avec une souche de référence. Dans le cas d'un MOT, la conservation d'une souche témoin/de référence implique de disposer d'une autorisation de détention et de mise en œuvre. Ces autorisations sont nominatives et délivrées à un titulaire pour une durée de cinq ans, au cours de laquelle a lieu une inspection de trois jours, suivie de réponses aux demandes complémentaires des inspecteurs. Dans le cadre de cette autorisation, tout ce qui est en lien avec les MOT est détenu sous clé.

Selon les témoignages d'auditionnés, cette demande d'autorisation de détention et de mise en œuvre d'un MOT demande un travail administratif conséquent, pour établir un dossier technique¹⁷ pouvant aller jusqu'à plus de 300 pages, annexes incluses. Après cinq ans, le renouvellement consiste à reconstituer un dossier aussi volumineux, comme lors d'une première demande. Par exemple, les membres du personnel doivent être listés, avec fourniture d'une preuve de leur identité ; les descriptions des locaux, des procédures, de la gestion des déchets... doivent être détaillées. A titre d'illustration, les auditionnés ont estimé à 120 - 130 h le temps consacré par une personne cadre à la constitution d'un dossier d'autorisation de détention.

Dans le cadre de la réglementation MOT, l'ANSM réalise une enquête d'honorabilité (carte d'identité, examen du casier judiciaire) et donne son accord au titulaire pour habilitier du personnel pour accéder et manipuler des MOT. Le personnel doit ensuite être déclaré tous les ans. Pour le personnel, les exigences de la réglementation MOT sont quasiment identiques à celles requises pour les manipulations d'agents non MOT tels que *B. suis* biovar 2 (non MOT dans le projet d'arrêté) ou certaines mycobactéries appartenant au groupe 3, ou un virus du groupe 4 (selon la classification du Code du travail, cf. Tableau 1). Ces procédés et procédures sont déjà cadrés et vérifiés par les accréditations des laboratoires de première intention. En effet, satisfaire aux exigences en termes de confinement, de sécurité et de sûreté biologiques est contrôlé dans le cadre des accréditations Cofrac et requis pour continuer à être agréé par le ministère de l'agriculture. Dans ce contexte, il existe déjà une qualification du personnel (dont il faut prouver la compétence), des locaux, des autoclaves...

Chaque demande d'autorisation porte sur un seul MOT. Or, un laboratoire de diagnostic de première intention peut en pratique être confronté à la recherche de différents MOT (*Brucella*, *Bacillus anthracis*, *Influenza virus*, *Francisella tularensis*...), le plus souvent de manière occasionnelle, et peut donc être amené à multiplier les demandes d'autorisation. Un laboratoire peut également travailler régulièrement sur plusieurs MOT, parce qu'il est équipé d'une méthode/technique particulière non disponible dans la plupart des laboratoires.

La demande d'autorisation de détention et de mise en œuvre de MOT s'avère complexe du fait notamment de la validation des procédés de désinfection. Il est en effet demandé de prouver qu'en conditions de laboratoire et sur le MOT concerné la désinfection est efficace, ce qui s'avère difficile à plusieurs titres. En effet, le fait que le désinfectant est autorisé, conforme aux normes biocides, notamment bactéricides ou mycobactéricides, ne suffit pas. Par exemple, l'efficacité prouvée sur des mycobactéries a été estimée insuffisante par l'ANSM pour *Brucella*, d'où des exigences supplémentaires demandées aux fournisseurs de désinfectants. En outre, il est possible d'utiliser les résultats des tests de désinfection des LNR dans les laboratoires de diagnostic. Toutefois, chaque laboratoire doit effectuer ses propres tests pour prouver l'efficacité, sur le MOT considéré, des méthodes de désinfection adaptées aux conditions spécifiques du laboratoire en question.

L'équilibre entre l'efficacité de l'inactivation des échantillons infectieux et la qualité des analyses ultérieures est parfois difficile à trouver, mais une simple revue bibliographique permet souvent de trouver des solutions (par exemple, essais d'inactivation déjà validés sur des agents pathogènes identiques ou appartenant au même genre). Pour les MOT, cette problématique est accentuée car il est généralement demandé par l'ANSM une validation de l'inactivation au cas par cas (sur le même agent pathogène et dans des conditions

¹⁷ Dossier technique pour une demande d'autorisation de détention avec mise en œuvre (opérations de production, fabrication, emploi) de micro-organismes ou toxines (MOT)

expérimentales strictement identiques) ce qui engendre de longues études préliminaires et parfois l'utilisation de méthodes d'inactivation trop poussées préjudiciables à la qualité des résultats biologiques (Pastorino *et al.* 2020; Zou *et al.* 2020).

Cette démarche devient ainsi contre-productive pour leur utilisation. Face à ce constat, il conviendrait de recenser et mutualiser les différentes actions conduites dans le cadre de la réglementation MOT (procédés d'inactivation, de désinfection, procédures dans les laboratoires...). Les procédés d'inactivation devraient en outre rester compatibles avec le maintien de la qualité des tests. Ce partage de connaissances est d'autant plus souhaitable que les mises au point de procédés d'inactivation, pour qu'ils puissent être indubitablement efficaces tout en n'affectant pas la sensibilité des tests et les propriétés biologiques des MO, sont laborieuses et coûteuses.

3.1.2 Impact sur les envois d'échantillons/souches pour confirmation diagnostique

L'autorisation pour l'envoi d'un échantillon MOT au LNR peut être obtenue dans un délai souvent court (48 h), bien que parfois rallongé, ce qui peut être préjudiciable à la conservation des échantillons, la viabilité des souches, et ainsi à la confirmation diagnostique. Le transport d'un MOT entraîne un surcoût du fait d'un marché captif où toute négociation tarifaire s'avère compliquée. Ce coût est d'autant plus élevé que des postes de douanes doivent être traversés, dans le cas d'échanges avec les DROM par exemple. Il doit être pris sur le budget des laboratoires, et s'avère trop élevé pour certains laboratoires de diagnostic de première intention. Dans ce contexte, des CNR ont été amenés à financer le transport afin de recevoir des souches ou des acides nucléiques, qui auraient sinon été détruits, ce qui n'aurait pas permis une confirmation diagnostique. Lors de foyer dû à un MOT, l'envoi de souches peut se répéter avec une augmentation notable du coût associé. En raison de ces coûts de transport de souches, de nombreux laboratoires départementaux ne souhaitent plus envoyer les souches isolées au LNR. La surveillance et l'identification des souches circulant sur notre territoire est donc moins complète.

3.1.3 Impacts en termes d'épidémiologie et de diagnostic

Au laboratoire de diagnostic de première intention, l'appartenance à la liste des MOT implique, dès lors que la souche a été identifiée, une demande d'autorisation pour son envoi au LNR pour confirmation et, en parallèle, son stockage dans un réfrigérateur sécurisé, et une inscription de la souche dans un registre. De plus, cette souche doit être détruite par le laboratoire de diagnostic, puisqu'elle ne peut y être conservée plus de 30 jours sans demande d'autorisation MOT. Les investigations réalisables sur les souches sont limitées, puisqu'une amplification, qui nécessiterait une mise en culture, n'est pas envisageable sans autorisation de détention et de mise en œuvre. Ces limites importantes sont préjudiciables au diagnostic, comme dans les cas, par exemple :

- de *Francisella* : l'agent de la tularémie comprend notamment *F. tularensis* subsp *tularensis*, sous-espèce la plus virulente, qui ne circule pas en Europe, et *F. tularensis* subsp *holartica*, la moins virulente, la seule à circuler en Europe. Il est essentiel de pouvoir détecter une éventuelle importation de *F. tularensis* subsp *tularensis*, mais les laboratoires de diagnostic vétérinaire de première intention ne peuvent pas les distinguer avec leurs outils diagnostiques. De plus, si les signes cliniques sont très évocateurs de la tularémie chez le lièvre, le diagnostic passe par l'isolement de la bactérie en culture, donc *a minima* par une amplification. Or, du fait de la réglementation MOT, à partir du moment où le diagnostic de l'espèce *Francisella tularensis* a été réalisé par le laboratoire de première intention, celui-ci ne peut plus poursuivre l'amplification et donc identifier rapidement la sous-espèce. Le laboratoire doit échanger avec l'ANSM, quasiment au cas par cas, d'où des aléas et des incertitudes quant au délai d'envoi de la souche au LNR.
- de suspicion de brucellose : le laboratoire de diagnostic de première intention ne pourra qu'identifier *Brucella* sp., et devra alors demander une autorisation d'envoi au LNR pour

confirmation du genre, identification de l'espèce et typage de la bactérie. Dans le cas de la brucellose chez les sangliers, la bactérie isolée est le plus souvent *Brucella suis* biovar 2, peu pathogène pour les humains. La vigilance doit toutefois être de mise, car d'autres biovars zoonotiques de *Brucella suis* ont déjà été rapportés de manière sporadique en Europe. Des cas de *Brucella suis* biovar 1 ont été décrits chez un humain et un chien, dus à la consommation de viande importée d'Amérique du sud où ce biovar circule. La circulation du biovar 3, présent majoritairement en Asie, a également été rapportée en Croatie chez des chevaux et des sangliers.

Il est également nécessaire de confirmer dans les meilleurs délais un foyer d'infection à *B. melitensis*, pathogène pour les humains, pour permettre une gestion rapide du foyer. Il serait donc utile que le laboratoire de diagnostic de première intention puisse aller, sans trop de contraintes réglementaires, jusqu'à l'identification de l'espèce pour permettre de gérer le foyer dans les meilleurs délais.

La complexité de la réglementation MOT peut conduire à une diminution du nombre de titulaires d'une autorisation de détention. À titre d'exemple, en 2011-2013, 13 laboratoires étaient agréés et accrédités pour *Brucella*, actuellement, seuls huit le sont. Même si cette diminution traduit une professionnalisation des laboratoires travaillant sur les MOT, elle reste handicapante. Ainsi, pour *Brucella*, un bilan des capacités à l'échelle française conduit à 150 analyses bactériologiques maximum par semaine du fait de l'abandon par plusieurs laboratoires départementaux de l'activité MOT selon les auditionnés.

Pour éviter une mise en culture de l'agent infectieux, une PCR peut être réalisée, e.g. lors de suspicion de tularémie, de botulisme ou d'infection à entérovirus. Une méthode PCR ne nécessite pas l'utilisation d'une souche de référence et peut ainsi conduire un laboratoire de diagnostic à ne plus demander d'autorisation MOT, ou à ne pas renouveler de demande d'autorisation de détention MOT. Ce non renouvellement impliquera de détruire les échantillons et les souches MOT dont il dispose ou de les transmettre à un titulaire MOT.

L'arrêt des activités sur les MOT dans plusieurs laboratoires de diagnostic de première intention, et la destruction de souches suite au non renouvellement de demande d'autorisation, après cinq ans ou au départ du titulaire de l'autorisation MOT, conduisent à une perte de technicité et de compétences sur les MOT et une perte de souches potentiellement utiles pour des recherches et investigations ultérieures liées à des enjeux de santé publique. Cet arrêt induit également une perte des connaissances sur les MOT en termes de surveillance, de diagnostic et d'épidémiologie moléculaire, pourtant indispensables pour la protection de la santé publique. Ainsi, lors de la détection en 2012 du foyer de brucellose à *B. melitensis* sur le massif du Bargy, l'analyse moléculaire a permis de montrer que l'ensemble des souches isolées chez les humains, les bovins, les bouquetins et les chamois appartenaient au même groupe génétique, lui-même génotypiquement relié au dernier foyer rapporté en 1999 dans la même zone du département (Mick *et al.* 2014; Hars *et al.* 2012). Cet exemple illustre l'importance de ne pas détruire les collections pour pouvoir comparer les souches, comme ici à plus d'une décennie d'intervalle. L'épidémiologie moléculaire est également un élément-clé du suivi des virus Influenza aviaires hautement pathogènes, de leur origine (en termes géographiques et de réassortiments viraux) et de leur évolution.

Les laboratoires de diagnostic vétérinaire de première intention jouent un rôle essentiel dans le maillage permettant la surveillance et la gestion des maladies animales, zoonotiques et d'intérêt en santé publique, dont celles dues à des MOT. La suspicion de cas ou de foyers nécessite une confirmation rapide pour permettre leur gestion dans les meilleurs délais. La surveillance de ces maladies est essentielle pour suivre leur évolution et intervenir rapidement. Par exemple, l'épidémiologie moléculaire et l'étude de la virulence, qui impliquent la conservation des souches, constituent une nécessité pour le suivi de maladies comme la brucellose ou l'influenza aviaire.

La complexité et la lourdeur de la réglementation MOT conduisent à un retard de diagnostic, ainsi qu'à un désengagement de certains laboratoires de diagnostic et à une destruction de souches ou de collections de souches entraînant une perte de technicité et de compétences des opérateurs ainsi qu'une perte de connaissances sur les MOT, en termes de surveillance,

de diagnostic et d'épidémiologie moléculaire. À ce titre, la réglementation MOT s'avère donc contre-productive et induit un effet inverse de l'effet attendu en diminuant la surveillance d'agents de grand intérêt pour la santé publique humaine et vétérinaire.

Par conséquent, pour les laboratoires de diagnostic vétérinaire de première intention, par définition possesseurs d'une accréditation Cofrac et d'un agrément délivré par le ministère de l'agriculture, les experts recommandent la formalisation et la mise en place d'une **procédure facilitée pour l'envoi des souches MOT identifiées sur le terrain, dont l'identification nécessite une confirmation rapide**. Par exemple, tous ces laboratoires pourraient soit disposer d'une autorisation systématique dès lors qu'ils identifient un MOT, pour isoler et envoyer la souche au LNR avec un circuit sécurisé, soit recourir à un mode déclaratif d'envoi des souches. **Il serait en outre pertinent de permettre aux laboratoires de diagnostic de première intention de pouvoir approfondir l'analyse des souches** afin de préciser rapidement s'il s'agit de souches présentant un risque en termes de santé publique et mettre en œuvre les mesures de gestion adaptées.

3.2 Impacts sur les activités de recherche et de référence

Les laboratoires de recherche et de référence manipulant des MOT ne sont pas soumis à accréditation comme les laboratoires de diagnostic vétérinaire de première intention mais sont soumis au régime d'autorisation prévu par la réglementation MOT. Dans ce contexte, ils sont confrontés à plusieurs difficultés en lien avec la réglementation MOT, par exemple pour les échanges de MOT dans le cadre d'EIL (essais interlaboratoires) ou de projets de recherche nationaux ou internationaux, dans le cadre de formations, et jusqu'au choix des sujets de travaux de recherche. Plusieurs exemples d'impacts, identiques ou non à ceux affectant les laboratoires de diagnostic, sont présentés ci-dessous, fondés sur les retours d'expérience d'experts auditionnés et du GT.

3.2.1 Impacts sur le fonctionnement des établissements

- Comme indiqué au § 3.1.1, une demande d'autorisation de détention et de mise en œuvre pour un MOT nécessite la constitution d'un volumineux **dossier**. Or certains laboratoires ou unités travaillent sur plusieurs MOT. La charge de travail administratif liée à des autorisations pour plusieurs MOT est lourde et s'élève à plusieurs mois de travail administratif par an. Certains établissements ont dû recruter du personnel à cet effet. Les charges administratives sont particulièrement chronophages pour le titulaire des autorisations MOT lorsque celui-ci (i) dépose un dossier auprès de l'ANSM pour renouveler ses autorisations, (ii) est inspecté par l'ANSM (préparation du dossier, visite du laboratoire et audition sur site du personnel, etc.), et (iii) gère au quotidien les aspects administratifs engendrés par le transfert de matériels biologiques MOT entre les divers laboratoires (parfois au sein d'un même institut) participant à un même projet scientifique, ainsi que la traçabilité de toutes les opérations de détention et de mise en œuvre. Le titulaire consacre jusqu'à 20 % de son temps aux formalités administratives liées au MOT, davantage lors du renouvellement d'une autorisation. L'instruction complète du dossier de renouvellement de titulaire peut être longue : quasiment deux ans, selon certaines auditions, entre la demande de renouvellement et la fin de son instruction, du fait de demandes de corrections d'écart, de délais prolongés de réponse...
- Concernant la **gestion du personnel**, un avis de l'ANSM est demandé pour l'habilitation des personnels. Les délais de réponse pour cette habilitation sont très variables en fonction par exemple de la nationalité de la personne, de la nature du dossier, du délai pour l'enquête de sécurité. Le suivi des accès physiques et informatiques est ensuite compliqué par la réglementation (nécessité de prévoir des répertoires / fichiers spécifiques).

Outre les contraintes administratives et la charge de travail importante, le titulaire des habilitations MOT est pénalement et personnellement responsable du non-respect des règles et procédures MOT, ce qui induit un stress parfois difficilement acceptable.

- Les **éléments demandés pour la constitution d'un dossier d'autorisation** ne sont pas tous pertinents au regard du danger analysé : la possession d'une séquence d'ADN ou d'une toxine ne requiert pas le même niveau de sûreté qu'un organisme vivant capable de se multiplier après dispersion intentionnelle et/ou accidentelle. En particulier, la réglementation sur les parties de MOT comme les acides nucléiques paraît injustifiée au regard de l'analyse de risque liée à ces parties de MOT, point développé dans le § 4.4. Les délais de mise en œuvre de travaux de recherche se trouvent accrus par la nécessité d'obtention d'une autorisation, y compris en l'absence de risque biologique sur des parties de MOT.
- Concernant le **transfert** d'échantillons MOT, pour un même établissement disposant de plusieurs sites, une autorisation est requise pour un envoi :
 - entre deux titulaires d'une autorisation MOT d'un même site, mais situés dans deux bâtiments différents ;
 - entre deux titulaires d'une autorisation MOT présents sur deux sites différents. Par exemple des titulaires sont fréquemment amenés à envoyer des souches ou parties de MOT dans d'autres sites disposant de l'autorisation et des outils d'analyse adéquats (par exemple pour du séquençage). Ces envois nécessitent un délai d'obtention d'autorisation, un lourd suivi administratif et entraînent un coût élevé.
- Concernant le **matériel**, un titulaire MOT ne peut utiliser que le matériel défini dans le dossier technique d'autorisation. Il ne peut donc pas utiliser ponctuellement des équipements présents sur le site, mais non déclarés dans le dossier MOT, pour lesquels la lourdeur d'autorisation et de mise œuvre serait disproportionnée par rapport à cet usage ponctuel.
- Dans le dossier technique d'autorisation et lors d'inspection par l'ANSM, il est notamment demandé aux opérateurs scientifiques ou directeurs d'unité de fournir la validation des **procédés d'atténuation et d'inactivation** des MO, pour lesquels il n'y a aucune harmonisation entre laboratoires. Par exemple, pour la désinfection de surfaces par voie aérienne (*via* des brouillards humides ou secs), les inspecteurs ne demandent pas seulement un contrôle réalisé avec des indicateurs biologiques du commerce (spores de *Bacillus*, les plus résistantes), mais également des tests réalisés par les opérateurs ciblant spécifiquement les MOT concernés.

Par ailleurs, les contraintes grandissantes d'efficacité de l'inactivation conduisent à l'obtention d'un échantillon MOT dépourvu d'intérêt biologique, notamment diagnostique. Par exemple, les traitements thermiques et chimiques appliqués à des sérums conduisent certes à une perte du pouvoir infectieux du MOT concerné mais ces traitements impactent également la qualité des analyses qui peuvent être conduites sur ces sérums et limitent l'interprétation des résultats associés.

3.2.2 Impacts sur les activités de recherche

La réglementation MOT impacte notablement la participation d'équipes françaises à des projets de recherche européens et internationaux. Cet impact est notamment lié aux délais inhérents à la mise en œuvre de cette réglementation, qui entraînent des retards dans l'exécution par les laboratoires français des tâches qui leur sont dévolues. Ceci donne une image défavorable des laboratoires français, considérés comme des partenaires peu fiables ou avec lesquels les collaborations sont difficiles. L'impact négatif sur la compétitivité de la recherche française est majeur.

- Il s'avère très compliqué d'échanger avec les partenaires étrangers qui ne comprennent pas le contexte réglementaire français (spécifique, et quasi unique), ni la complexité des chemins administratifs associés (attente des documents, validation des protocoles, formalités administratives).

- Concernant le transfert d'échantillons, dans une très grande majorité des cas, les documents ne sont soit pas remplis, soit incorrectement remplis par les partenaires étrangers, soit remplis mais n'arrivent pas à suivre le bon chemin administratif pour être réceptionnés à la fois par le laboratoire et les autorités compétentes françaises qui vont valider le bon cheminement de ces échantillons, notamment au niveau des douanes. En effet, les échanges internationaux de MOT doivent passer par un poste de douane que les transporteurs agréés, pourtant habitués à ce type de transport, ont des difficultés à identifier. Il est fréquent que des partenaires étrangers, ayant obtenu les autorisations réglementaires dans leur pays, adressent des échantillons classés MOT à leurs correspondants français sans que l'arrivée sur le territoire national n'ait été prévue. Ceci crée des irrégularités pour les titulaires MOT, complexes à résoudre administrativement du fait de la multiplicité des acteurs (ANSM, douanes...). De plus, la réglementation des biens à double usage (cf. § 2) vient s'ajouter à la réglementation MOT pour des échanges à l'international, ce qui prend également beaucoup de temps, avec deux autorisations différentes, des questionnaires différents, et l'impression de faire le travail en doublon. L'exception douanière française complique ainsi le passage en douane des MOT, sans pour autant apporter de valeur ajoutée par rapport à la réglementation existante sur les transports des matières infectieuses.

A titre d'exemple, dans le cadre d'un projet de recherche européen, un laboratoire étranger a été amené à envoyer des quantités infimes de toxines en France, envoi programmé très en amont de sa réalisation. Malgré cette programmation, cet envoi (très onéreux) a pris plus de 15 jours du fait de problèmes administratifs. Un membre du GT a d'ailleurs pu témoigner qu'un envoi de Bruxelles au Canada pose moins de difficultés, et s'avère plus rapide que de Bruxelles vers Paris.

- Les équipes françaises se coupent ainsi du réseau des scientifiques étrangers travaillant sur les MOT et se trouvent pénalisées scientifiquement. Les équipes étrangères sont amenées à réfléchir aux tâches que les collègues français vont pouvoir réaliser. Des équipes de recherche françaises se sont mises en marge de projets de recherche collaboratifs internationaux, qui nécessitaient d'échanger rapidement des souches et du matériel génétique (MOT et parties de MOT). Ces équipes n'en avaient pas les moyens, du fait des délais d'obtention des autorisations et du manque de moyens administratifs requis pour les opérations sur des MOT, incompatibles avec la participation à de tels projets. Compte tenu de ces difficultés, les équipes de recherche en viennent à ne pas s'engager dans des projets portant sur des MOT. Elles peuvent être impliquées *a minima*, sans échange de matériel biologique, ce qui les empêche d'être leaders sur certaines actions.

Pour exemple, dans le cadre d'un projet européen sur un MOT, un LRUE hébergé en France a été contraint de sous-traiter des travaux de recherche scientifique à un partenaire allemand car il était dans l'attente prolongée des autorisations nécessaires. Ceci a conduit à une perte de savoir-faire (et financière) pour le laboratoire. Dans ce contexte, certains laboratoires évoquent même une concurrence déloyale. Ce même LRUE n'a pas pu acquérir des souches issues de la « *National Collection of Type Cultures* » (NCTC), collection officielle de micro-organismes dépendante de *Public Health England* - Agence britannique de santé publique, organisme ayant une mission de service en santé publique. En effet, il n'a pas été possible de remplir intégralement le formulaire de demande ANSM pour l'acquisition de souches à l'étranger, notamment le volet relatif au passage en douane. Ce passage n'était pas requis selon la législation en vigueur du Royaume-Uni¹⁸. De plus, le NCTC n'accepte pas que le transport soit effectué par une autre compagnie que celle avec laquelle il a l'habitude de travailler. Le laboratoire n'a donc pas pu assurer son activité de développement de méthodes associée à son mandat de LRUE en raison d'un accès impossible aux souches NCTC.

- L'absence de recherche sur des MOT concerne notamment la mise au point de vaccins pour les maladies dues aux MOT, du fait des difficultés qui vont être rencontrées pour

¹⁸ alors que le Royaume Uni était encore dans l'Union européenne

les techniques de séquençage modernes qui passent par l'établissement préalable de banques de fragments nucléotidiques recouvrant le génome complet ou par le séquençage de longues molécules d'ARN. Certaines souches vaccinales, bien qu'atténuées, peuvent continuer à relever de la réglementation MOT.

- Dans le cadre des activités de recherche, tout nouveau protocole MOT, toute nouvelle manipulation, doivent être soumis à l'ANSM avec une analyse de risque en termes de biosûreté et de biosécurité. Lorsque des études préliminaires sont envisagées, il faudrait en principe qu'un nouveau protocole soit déjà rédigé pour l'ANSM. Une analyse de risque est réalisée, mais les questions de l'ANSM sont plus poussées que ce qui peut être réalisé dans le cadre de ces études préliminaires.
- Par ailleurs, il convient de noter que les équipes de recherche font rarement réaliser des stages de six mois ou moins sur des MOT (voire plus pour les stagiaires étrangers voulant venir travailler sur leurs souches), dans la mesure où les titulaires estiment qu'il faut un mois pour la formation et l'habilitation avant de démarrer concrètement le stage. Les post-doctorants sont soumis à davantage de contrôles s'ils doivent manipuler des MOT. Les travaux prennent plus de temps, d'où un moindre engagement sur ce type de recherche et une perte de connaissances et de compétences sur les MOT pour la recherche future.

Les experts du GT soulignent le cas du SARS-CoV-2, qui n'est pas inclus dans le projet d'arrêté. Son inclusion aurait notamment impacté la recherche sur ce virus, tant sur la physiopathologie de l'infection que sur la mise au point de moyens de diagnostic, de traitement et de prévention. Il aurait ainsi été difficile de mettre au point un vaccin et planifier un vecteur exprimant une protéine, comme les vaccins à ARN. De même, lors de l'épisode Ebola en 2014-2015, de nouveaux arrêtés ont dû être adoptés en urgence pour réaliser des diagnostics par dérogation sur ces échantillons MOT (arrêté du 6 août 2014 relatif à l'autorisation de manipulation dérogatoire de l'agent biologique de groupe 4, le virus Ebola, à des fins de réalisation d'examens biologiques pour les patients atteints d'infection avérée à cet agent). Ces exemples montrent le cadre restrictif et les limites de cette réglementation MOT.

3.2.3 Impact sur les activités de référence et de surveillance des LNR/LRUE

3.2.3.1 Essais interlaboratoires (EIL)

Au niveau national, les agréments des laboratoires sont conditionnés à la participation régulière aux EIL organisés par les LNR pour évaluer l'aptitude de ces laboratoires à assurer des analyses fiables sur la détection et la caractérisation des agents pathogènes, qu'ils soient ou non classés MOT, garantes de la sécurité sanitaire et de la santé publique. Il convient de souligner que les centres nationaux de référence (CNR) ne sont pas tenus d'organiser ou de participer à des EIL, à la différence des LNR. Les CNR sont donc beaucoup moins impactés que les LNR par la réglementation MOT, d'autant plus que les cas humains d'infection à *Brucella* ou à *Bacillus anthracis* sont beaucoup plus rares que les cas animaux.

Les laboratoires organisateurs d'EIL sur des MOT au niveau national et/ou européen sont impactés par cette réglementation. En effet, le laboratoire organisateur doit remplir tous les documents permettant l'expédition des échantillons vers les laboratoires français participants (cession) ou vers les laboratoires européens participants (exportation). Les délais de validation de ces documents par l'ANSM peuvent être longs. De plus, il faut autant de demandes d'autorisation que de laboratoires participants. Dans le cadre d'EIL sur des MOT, ces contraintes, ainsi que les coûts de transports associés, ne sont pas toujours supportables par les différents acteurs. Le coût d'envoi d'un MOT, très supérieur à celui d'un non-MOT, peut avoir des conséquences sur le budget d'un laboratoire de référence, notamment lors d'EIL nécessitant un grand nombre d'envois : à budget constant, les envois peuvent se faire au détriment de recherches et de développements analytiques. Par exemple, lorsque le LRUE organise des EIL pour vérifier la compétence des laboratoires de l'Union européenne à identifier une toxine MOT, il envoie aux laboratoires des échantillons ne contenant pas ladite

toxine. En effet, l'investissement budgétaire qu'impliquerait la réalisation d'échanges dans le cadre de la réglementation MOT se ferait au détriment d'autres travaux du laboratoire.

De plus, au niveau européen, il existe des difficultés de compréhension de la réglementation MOT par les partenaires européens. À titre d'exemple, des problèmes d'exportation ont été rapportés lors des auditions suite à une non compréhension de la réglementation MOT par les laboratoires européens participants, ces derniers ne comprenant pas pourquoi il était nécessaire de compléter les documents d'exportation (information personne contact, coordonnées du bureau de douanes...) en amont de l'envoi des échantillons. L'organisation d'un EIL d'ampleur requiert *a minima* six mois d'organisation administrative pour obtenir les autorisations MOT et organiser les transports de matières infectieuses sous classement international ONU 6.2. Outre ces problèmes de transport, le manque d'harmonisation de la réglementation au niveau européen introduit un déficit d'efficacité du LRUE dans le cadre de ses travaux, qui se voit contraint d'appliquer des règles administratives non imposées aux autres partenaires européens. Il en résulte un défaut de compétitivité et une lourdeur administrative pour porter/participer à des projets européens.

Dans le réseau des laboratoires de diagnostic vétérinaire, des EIL sur culture pour certaines bactéries MOT ont été réalisés moins fréquemment du fait des contraintes d'autorisation MOT pour les transferts de souches. Il en est de même pour le réseau des laboratoires Biotox-Piratox-Piratox (RLB2P) pour lequel les exercices biologiques annuels ne concernent plus de MOT viables hautement pathogènes tels *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis* ou *Yersinia pestis*. Il en résulte un impact très important sur la qualité d'entraînement des laboratoires et la capacité de diagnostic de maladies humaines et animales par des méthodes fondées sur la mise en évidence et l'identification d'agents pathogènes vivants. Or une action malveillante fera appel non pas à une souche non pathogène ou à de l'ADN, mais bien à un agent pathogène vivant.

3.2.3.2 Autres activités de référence

Les laboratoires de diagnostic de première intention peuvent réaliser des analyses de diagnostic vétérinaire sur des échantillons d'origine animale, sans avoir d'autorisation MOT, s'ils ne conservent pas les échantillons et/ou les souches associées plus de 30 jours. Cependant, cette dispense d'autorisation ne couvre pas les échantillons environnementaux (analyses d'aliments, eau, chiffonnettes, terre, fumiers...). Dès lors, certains LNR peuvent être très sollicités pour des analyses de première intention sur des échantillons environnementaux, qui mobilisent du temps et du personnel, au détriment d'autres travaux relevant spécifiquement de la référence. Pourtant, ces analyses pourraient être réalisées par un laboratoire de diagnostic de première intention, sans que les risques associés soient supérieurs à ceux rencontrés lors du traitement d'échantillons d'origine animale.

Un laboratoire d'hydrologie animait le réseau national de laboratoires d'intervention d'urgence sur les eaux potables 'Biotox eau' et sélectionnait des laboratoires capables de détecter et d'identifier des MOT dans des échantillons d'eau, donc disposant d'un laboratoire de classe 3. La matrice eau est toujours considérée comme véhicule assez efficace d'un MO ou d'une toxine et fait toujours l'objet d'un point d'attention dans le cadre de la protection des populations. En 2005, ce réseau comptait une dizaine de laboratoires. En 2015, à la faveur d'une évolution du statut des laboratoires, il a fallu rechercher d'autres laboratoires pour intégrer ce réseau. Il s'est alors avéré très difficile de trouver des laboratoires souhaitant rester dans le réseau ou s'investir dans cette mission, pourtant financée, du fait notamment des contraintes imposées par la réglementation MOT. Par conséquent, le réseau est moins performant que dans les années 2010. Ceci constitue un frein notable au réseau d'alerte sur le territoire national et un risque réel pour la santé publique.

Dans le cadre de la préparation des matériaux de référence, un LNR a produit des plasmides avec des inserts correspondant à des cibles PCR de moins de 500 pb pour qu'ils ne soient pas MOT et puissent être transmis aux laboratoires départementaux comme témoins positifs. La réglementation sur les parties de MOT comme les acides nucléiques paraît injustifiée, point développé dans le § 4.4.

Lors de formation sur des MOT par les LNR, les participants ne peuvent pas manipuler de MOT, d'où une diminution d'acquisition de technicité pour ces agents. En effet, ces manipulations par des stagiaires ne sont possibles que si le titulaire des autorisations MOT s'engage à habiliter toutes les personnes ayant accès aux MOT ; il s'engage également à ce que les personnes ayant accès au MOT connaissent et mettent en œuvre le guide des bonnes pratiques et la réglementation MOT. La liste des personnes habilitées doit être communiquée à l'ANSM.

La réglementation MOT a permis des progrès notables en termes de biosécurité. Si elle a un objectif de santé publique légitime, son impact sur les activités impliquant les MOT est à ce jour très pénalisant et conduit à restreindre les activités de recherche sur ces agents MOT. De nombreuses règles ou procédures paraissent excessives et pas toujours adaptées aux réalités du terrain. Les homologues étrangers, notamment européens, ne sont pas confrontés, pour les mêmes MOT, à des contraintes administratives aussi lourdes que celles imposées en France.

Ainsi, l'impact négatif se mesure entre autres en termes de perte de temps, de démotivation du personnel, d'accroissement de la charge de travail administratif, de perte de compétitivité de la recherche française, de renoncement définitif à manipuler les MOT conduisant à la destruction du patrimoine biologique MOT et à une dégradation du réseau d'épidémiosurveillance. En outre, la crainte de poursuites en cas d'irrégularités génère un stress chez le titulaire d'autorisation MOT, dont la responsabilité pénale individuelle est engagée.

Les exigences pour le maintien des autorisations de détention et de mise en œuvre de MOT, ainsi que, dans certains cas, la pénurie en moyens humains ont conduit certains chercheurs à renoncer à la manipulation de ces micro-organismes et à transférer ou à détruire leur collection de souches, entraînant une perte patrimoniale et scientifique irremplaçable.

Les experts soulignent l'absence d'inclusion du virus SARS-CoV-2 dans le projet d'arrêté de la liste des MOT. Son inclusion aurait entraîné une multiplication des demandes d'autorisation, notamment pour les établissements de recherche impliqués dans la mise au point d'outils diagnostiques, de traitements et de vaccins.

Ces impacts conduisent à une **perte manifeste d'outils et d'expertise sur les MOT préjudiciable pour la santé publique et la surveillance des maladies zoonotiques en France et une perte en compétences et en opportunités dans le domaine de la recherche, qui pourront s'avérer dommageables dans l'éventualité d'une crise biologique de grande ampleur.**

Par conséquent, les experts recommandent certains allègements de la réglementation MOT, par exemple des dossiers techniques, notamment lors de renouvellement d'autorisations. Des autorisations pourraient être accordées de manière plus générique, et non pour chaque MOT, chaque partie de MOT et chaque opération. Des systèmes de déclaration annuels des imports - exports sur un registre pourraient être envisagés, plutôt qu'un système de demande d'autorisation à chaque transport.

4 Commentaires sur le projet d'arrêté fixant la liste des MOT

L'analyse du projet d'arrêté s'est fondée sur les connaissances des experts, des données bibliographiques, la comparaison avec la liste de l'arrêté du 30 avril 2012, et sur les travaux réalisés en amont de la saisine de l'Anses, i.e. les propositions du CSST sur la liste de MOT du 3 septembre 2019¹⁹, l'avis du CS du HCB du 20 décembre 2019²⁰ sur les parties de MOT et les OGM MOT, et l'avis du CNCB (non publié mais mis à disposition du GT).

Les experts soulignent que cette analyse a été rendue complexe par la nécessité de trouver un équilibre entre la prise en compte de la dangerosité pour la santé publique (en termes de biosécurité et de biosûreté) d'un agent pathogène ou d'une toxine et celle des conséquences de son inclusion dans la liste des MOT, celle-ci pouvant avoir des conséquences délétères en impactant notamment la qualité de la surveillance et la possibilité d'effectuer des recherches, pourtant nécessaires pour optimiser la prévention et la gestion sanitaire (tels que décrits dans le chapitre 3).

Les experts notent également que la démarche de l'ANSM consistant à s'appuyer sur des comités d'experts pour établir la liste de MOT s'avère très constructive, notamment par l'élaboration d'une méthode d'inclusion/ exclusion des MOT et de leur répartition entre les deux annexes. Comme la plupart des méthodes de hiérarchisation, sa mise en application pourrait conduire, en tant que de besoin, à certains ajustements des critères et/ou des pondérations.

4.1 Présentation des propositions de modifications de liste des MOT

Les tableaux 3 à 5 comparent les agents de l'arrêté du 30 avril 2012 fixant la liste des MOT en vigueur et le projet d'arrêté objet de la saisine. Les annexes A et B de la proposition d'arrêté correspondent respectivement aux annexes I (MO hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique) et II de l'arrêté du 30 avril 2012 (cf. § 2).

Tableau 3 Comparaison entre l'arrêté du 30 avril 2012 et le projet d'arrêté pour les bactéries

| Bactérie | Arrêté en vigueur du 30/04/2012 | Projet d'arrêté |
|---|--|--|
| Toutes les <i>Brucella</i> | Annexe II (sauf <i>B. ovis</i>) | Retrait de la liste des MOT |
| <i>Bacillus anthracis</i> | Annexe II | Passage en Annexe A (ex-I) |
| <i>Burkholderia mallei</i> et <i>B. pseudomallei</i> | Annexe II | Annexe B (ex-II) |
| <i>Clostridium baratii</i> et <i>C. butyricum</i> producteurs de neurotoxine | Non-MOT | Entrée en Annexe B |
| <i>Clostridium botulinum</i> | Annexe II | Annexe B (pas de sortie du groupe III) |
| <i>Francisella tularensis</i> subsp <i>holarctica</i> | <i>Francisella tularensis</i> (sans précision des sous-espèces) en annexe II | Annexe B |
| <i>Francisella tularensis</i> subsp <i>mediasiatica</i> | | Retrait de la liste des MOT |
| <i>Francisella tularensis</i> subsp <i>novicida</i> | | Retrait de la liste des MOT |
| <i>Francisella tularensis</i> subsp <i>tularensis</i> | | Passage en annexe A |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ultra- résistante | Annexe I | Retrait de la liste des MOT |
| <i>Rickettsia prowazekii</i> | Annexe II | Annexe B |
| <i>Rickettsia rickettsii</i> | Annexe II | Retrait de la liste des MOT |
| <i>Yersinia pestis</i> | Annexe I | Annexe A |

¹⁹<https://archiveansm.integra.fr/L-ANSM/Comites-scientifiques-specialises-temporaires/Comites-scientifiques-temporaires/Comites-scientifiques-temporaires/CSST-Reglementation-relative-aux-micro-organismes-et-toxines-MOT-bacteries-toxines-et-virus-inscrits-sur-la-liste-prevue-a-l-article-L.-5139-1-du-CSP>

²⁰http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/sites/www.hautconseildesbiotechnologies.fr/files/file_fields/2020/03/06/191220avischcbmot.pdf

Tableau 4 Comparaison entre l'arrêté du 30 avril 2012 et le projet d'arrêté fixant la liste des MOT pour les virus

| Virus | Arrêté 30/04/2012 | Projet d'arrêté |
|---|--|---|
| F/ Arenaviridae, g/ Mammarenavirus <ul style="list-style-type: none"> Argentinian mammarenavirus Chapare mammarenavirus Guanarito mammarenavirus Lujo mammarenavirus Whitewater Arroyo mammarenavirus | Annexe II | Passage en annexe A |
| F/ Arenaviridae, g/ Mammarenavirus <ul style="list-style-type: none"> Brazilian mammarenavirus Lassa mammarenavirus Machupo mammarenavirus | Annexe I | Annexe A |
| F/ Coronaviridae, g/ Betacoronavirus <ul style="list-style-type: none"> Middle East respiratory syndrome-related coronavirus (MERS-CoV) Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (SARS-CoV) | Annexe I : <ul style="list-style-type: none"> SARS-CoV MERS-CoV pour les opérations autres que celles réalisées aux seules fins d'analyse de biologie médicale ou de confirmation d'analyse de biologie médicale Annexe II : MERS-CoV pour les opérations réalisées aux seules fins d'analyse de biologie médicale ou de confirmation d'analyse de biologie médicale | Annexe A <ul style="list-style-type: none"> MERS-CoV SARS-CoV responsables d'infections humaines à l'exception du coronavirus responsable de la Covid-19 (SARS-CoV-2) |
| F/ Filoviridae <ul style="list-style-type: none"> Ebolavirus, Marburgvirus; | Annexe I | Annexe A |
| F/ Hantaviridae, g/ Orthohantavirus Andes orthohantavirus | Annexe I | Annexe A |
| F/ Nairoviridae, g/ Orthonairovirus CCHF orthonairovirus | Annexe I | Annexe A |
| F/ Orthomyxoviridae, g/ Alphainfluenzavirus Influenza A Virus du lignage H1N1-1918 A/Brevig Mission/1/1918-like | Non-MOT | Entrée en annexe A |
| F/ Paramyxoviridae, g/ Henipavirus <ul style="list-style-type: none"> Hendra henipavirus Nipah henipavirus | Annexe I | Annexe A |
| F/ Poxviridae, g/ Orthopoxvirus <ul style="list-style-type: none"> Monkeypox virus; Variola virus | Annexe I | Annexe A |
| F/ Bunyaviridae, g/ Phlebovirus Rift Valley fever virus | Annexe II | Retrait de la liste des MOT |
| F/ Hantaviridae, g/ Orthohantavirus <ul style="list-style-type: none"> Dobrava-Berlgrade orthohantavirus Hantaan orthohantavirus Laguna orthohantavirus Sin Nombre orthohantavirus | Annexe II | Annexe B |
| <ul style="list-style-type: none"> Choclo orthohantavirus Seoul orthohantavirus | Annexe II | Retrait de la liste des MOT |
| F/ Flaviviridae <ul style="list-style-type: none"> Kyasanur Forest disease virus Omsk hemorrhagic fever virus | Annexe II | Retrait de la liste des MOT |
| F/ Orthomyxoviridae, g/ Alphainfluenzavirus Espèce Influenza A virus, lignages: <ul style="list-style-type: none"> H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like (lignage Gs/GD) H5N6 A/Yunnan/14564/2015-like | Annexe II « Virus de grippe aviaire de type A et de sous-type H5N1, H7N7 et H7N3, responsables d'infection humaine » | Annexe B |
| <ul style="list-style-type: none"> H7N3 A/Canada/404/2004-like H7N3 A/Mexico/InDRE7218/2012-like H7N7 A/Netherlands/219/2003-like | | Retrait de la liste des MOT |

| | | |
|--|-----------|-----------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • H7N9 A/Hong Kong/125/2017-like • H7N9 A/Shanghai/02/2013-like | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| F/ Herpesviridae, g/ Simplexvirus <i>Macacine alphaherpesvirus 1</i> | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| F/ Picornaviridae <i>Poliovirus (Enterovirus C)</i> | Annexe II | Retrait de la liste des MOT |

Tableau 5 Comparaison entre l'arrêté du 30 avril 2012 et le projet d'arrêté fixant la liste des MOT pour les toxines

| Toxine | Arrêté 30/04/2012 | Projet d'arrêté |
|---|---|-----------------------------|
| Abrine | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| Entérotoxine B du <i>Staphylococcus aureus</i> | Annexe II pour toute détention d'une quantité supérieure à 1 mg | Annexe B |
| Autres entérotoxines du <i>Staphylococcus aureus</i>, dont TSST1 | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| Modeccine | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| Ricine | Annexe II | Annexe B |
| Saxitoxines | Annexe II pour toute détention d'une quantité supérieure à 1 mg | Annexe B |
| Toxines botuliques C et D et chimères CD | Annexe II (« toxines botuliques ») | Reste en annexe B |
| Autres toxines botuliques | | Annexe B |
| Toxine epsilon du <i>Clostridium perfringens</i> | Annexe II | Retrait de la liste des MOT |
| Viscumine | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| Volkensine | Non-MOT | Entrée en annexe B |
| Mycotoxine HT-2 Mycotoxine T-2 | Non-MOT | Entrée en annexe B |

4.2 Commentaires sur l'Annexe A (ex- Annexe I) du projet d'arrêté

- À l'article 1°, les micro-organismes retenus dans cette liste n'appellent pas de remarques particulières.
- L'article 2° inclut « *les micro-organismes non cités au 1° de la présente annexe et classés par l'autorité compétente dans le groupe de risque 4* ».
- L'autorité compétente visée devrait être précisée. Ces MO sont classés dans le groupe de risque 4 défini à l'article R.4421-3 du Code du travail, point qu'il serait utile de préciser. Ces micro-organismes devraient être clairement listés.
- L'article 3° mentionne le groupe de risque IV pour les OGM, qui relève de l'article D.532-2 du Code de l'Environnement, point qu'il serait utile de préciser.
- À la fin de l'annexe, lignes 168-170, il est écrit : « *L'annexe A exclut les souches qui, du fait de leur atténuation, sont classées par l'autorité compétente dans les groupes de risque 1 ou 2. Ces souches sont comprises dans l'annexe B.* »

Les experts s'interrogent sur le fait de positionner en annexe B des micro-organismes dont l'atténuation conduit à les placer dans le groupe 1, qui « *comprend les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme* », alors qu'il serait logique de les sortir des MOT. Cela concernerait notamment les souches vaccinales qui ne présentent plus de risque en termes de biosécurité comme de biosûreté. C'est le cas de la souche Sterne vaccinale contre la fièvre charbonneuse qui est un MOT mais de classe 2.

4.3 Commentaires sur l'annexe B (ex-Annexe II) du projet d'arrêté

Les experts n'ont pas eu de remarque particulière à formuler sur les MOT de l'annexe B non cités dans ce paragraphe.

4.3.1 *Clostridium botulinum* et toxines botuliques

Le CSST a proposé de ne pas faire figurer sur la liste des MOT les bactéries productrices des toxines responsables du botulisme animal, i.e. du groupe III (toxines botuliques C, D et leurs chimères C/D) et de retirer de cette liste ces toxines. Il convient de noter qu'un membre a précisé que, « *même s'il n'y a à ce jour aucun cas décrit, les toxines du groupe III montrent, dans des conditions in vitro, un effet bloquant sur des cultures de motoneurones humaines* ».

Le GT recommande de suivre l'avis du CSST et de retirer *C. botulinum* du groupe III et les toxines du groupe III de l'annexe B de la liste des MOT, malgré deux cas humains avérés, et du fait que la toxine D a une toxicité nettement inférieure à celle de la toxine A (Rossetto et Montecucco 2019; Anses 2021; Oguma *et al.* 1990).

4.3.2 *Clostridium baratii* et *C. butyricum* productrices de neurotoxines

Les membres du CSST ont voté pour le placement sur leur liste de MOT des deux espèces. Aucun avis majoritaire n'est apparu quant au placement en annexe A ou en annexe B. L'ANSM les a placés en annexe B.

Certaines souches de ces deux espèces produisent des toxines botuliques de type E et F. Au sein du LNR belge, la méthode détecte les gènes des toxines botuliques et les toxines elles-mêmes. Si les bactéries productrices de ces toxines sont présentes, les toxines produites pourraient être détectées, mais sans pouvoir distinguer en routine si *C. botulinum/C. baratii/C. butyricum* est responsable de leur production. Les experts n'ont pas connaissance d'une éventuelle implication de *C. baratii/butyricum* dans le cadre du (bio)terrorisme (Harris, Anniballi et Austin 2020; Raza *et al.* 2021).

Le GT estime pertinente la proposition de l'ANSM de placer *C. baratii* et *C. butyricum* productrices de neurotoxines en annexe B.

4.3.3 *Francisella tularensis*

F. tularensis subsp *tularensis* la plus virulente, est placée en annexe A, *F. tularensis* subsp *holartica* reste en annexe B, et les sous-espèces *mediasiatica* et *novicida* sont retirées de la liste des MOT.

Les experts s'interrogent sur la suppression de *F. tularensis* subsp *mediasiatica*, qui est plus pathogène que *F. tularensis* subsp *holarctica* en modèle souris, mais pour laquelle aucune étude épidémiologique humaine n'a été menée compte tenu des possibilités limitées en termes de capacité de diagnostic dans ces zones (Timofeev *et al.* 2017). L'absence d'étude n'implique pas le fait que cette bactérie présente dans le réservoir animal ne soit pas pathogène pour l'être humain. Par conséquent, les experts s'interrogent sur le retrait de *F. tularensis* subsp *mediasiatica* de la liste des MOT.

4.3.4 *Brucella*

Dans les propositions du CSST, « *les membres du CSST proposent de faire sortir ces bactéries de la liste des MOT principalement car :*

- *Elles ne présentent pas un risque très grand pour la santé humaine*
- *Un traitement antibiotique standard existe en cas d'infection.*

Ces bactéries sont néanmoins infectieuses sous la forme d'aérosols, ont été développées, mais non utilisées, comme armes biologiques par certains états et font partie de la catégorie B des « select agents » aux Etats-Unis, même si selon un des membres du Comité, elles devraient en être retirées dans un avenir proche. »

Pour le GT, plusieurs éléments sont à considérer :

- La brucellose est une zoonose de répartition mondiale. Environ 500 000 cas humains de brucellose sont rapportés chaque année à travers le monde²¹ (Hull et Schumaker 2018). En conditions naturelles, *Brucella* se transmet à l'être humain principalement par ingestion de lait infecté non pasteurisé issu de ruminants contaminés ou lors de contact direct avec des animaux infectés. La transmission par voie aérienne a été rapportée (Zhang *et al.* 2020), mais cette modalité de contamination reste cependant très rare. Concernant la transmission interhumaine de *Brucella*, seuls quelques cas ont été recensés dans la littérature²² (Tuon, Gondolfo et Cerchiari 2017).
- L'impact de trois espèces de *Brucella* est majeur : *Brucella melitensis* que l'on trouve surtout chez les petits ruminants, *Brucella abortus* chez les bovins et *Brucella suis*. Ces espèces sont subdivisées en biovars. Cette taxonomie permet de distinguer les bactéries pathogènes et non pathogènes pour l'être humain. Par exemple, le biovar 2 de *Brucella suis*, très présent chez les sangliers en Europe est très peu pathogène pour l'être humain, à la différence du biovar 1. Une audition a souligné que *B. suis* biovar 2 était la *Brucella* la plus souvent isolée. Les travaux sur cette bactérie seront grandement facilités du fait de son retrait de la liste des MOT. Le biovar 1 présent en Amérique du sud et le biovar 3 présent en Asie ont fait l'objet d'importations sporadiques en Europe. Les techniques nécessaires pour faire ce typage, fondamental en termes de santé publique, ne sont en général pas déployées dans les laboratoires de première intention. Des échanges de souches sont donc impératifs entre les laboratoires de première intention et des LNR.
- Au sein de l'Union européenne, la brucellose est globalement maîtrisée dans le cheptel. Le dernier rapport de l'Union européenne sur les zoonoses (EFSA et ECDC 2021) note que 24 des 28 Etats membres sont officiellement indemnes de brucellose chez les bovins et les ovins. Néanmoins, des foyers peuvent (ré)émerger ponctuellement, à l'instar des foyers de brucellose sur le massif du Bargy, qui nécessitent alors de déployer rapidement des capacités de diagnostic de *Brucella* très importantes (recherche de *Brucella* sur plusieurs prélèvements de tous les animaux après abattage total de(s) l'élevage(s) infecté(s)).

De plus, la brucellose reste enzootique dans de nombreuses régions du monde, notamment dans des pays les moins avancés. Ces derniers, faute de moyens, sont régulièrement amenés à envoyer des prélèvements et des souches dans des laboratoires européens pour analyse bactériologique, à des fins diagnostiques et de maîtrise de la brucellose. A ce titre, la réglementation MOT les conduira à ne pas adresser leurs prélèvements au LNR (ou au CNR) français.

- En laboratoire, la transmission de *Brucella* par voie aérienne a été responsable de quelques cas de contamination humaine, résultant principalement d'erreurs humaines (Wurtz *et al.* 2016). Conformément à la réglementation européenne, *Brucella* doit être manipulée en BSL-3, et ce indépendamment de la réglementation MOT.
- *Brucella* est considérée comme un agent potentiel du bioterrorisme du fait de sa transmission par voie aérienne, d'une dose infectieuse faible et de sa stabilité. Elle fait ainsi partie de la catégorie B des agents potentiels du bioterrorisme du CDC²³. Cependant, l'incubation est longue (2 à 4 semaines en moyenne), les taux de létalité et de mortalité sont faibles, et des traitements existent. De plus, l'infection reste souvent asymptomatique (Oliveira *et al.* 2020; Guihot, Bossi et Bricaire 2004).

Compte tenu de ces éléments, les experts soutiennent le retrait de *Brucella* de la liste des MOT, du fait de l'intérêt en santé publique vétérinaire de faciliter le diagnostic, l'épidémiosurveillance et la gestion rapide de foyers de brucellose animale.

²¹ La prévalence réelle de la maladie se situerait plutôt entre 5 et 12,5 millions de cas/an

²² Tuon *et al.* (2017) ont réalisé une revue systématique de la littérature et ont identifié 45 cas de transmission interhumaine *via* la barrière placentaire, l'allaitement, la voie sexuelle, une transfusion sanguine ou transplantation de moelle osseuse

²³ <https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>

Les experts soulignent qu'indépendamment de la réglementation MOT, *Brucella* est et restera à juste titre classée dans le groupe 3 des agents pathogènes selon la réglementation du Code du travail, et donc manipulée en BSL-3 et en animalerie A3. Dans ce cadre, ils soulignent l'importance du strict respect des procédures de biosécurité à suivre par le personnel afin de prévenir les contaminations humaines accidentelles lors de manipulations de *Brucella*. L'importance des formations à ces procédures occupe à ce titre une place importante.

4.3.5 Influenza A virus

Lors d'une suspicion d'IA sur le terrain, le laboratoire départemental de biologie clinique identifie le type de souche sur la base de la caractérisation des gènes codant la protéine HA (hémagglutinine) et la protéine NA (neuraminidase) *via* un test moléculaire (RT-PCR), mais il n'y a pas à ce stade de séquençage du virus, qui sera réalisé par le LNR. S'il s'agit d'un virus de sous-type H5 ou H7, l'échantillon (écouvillon ou cadavre, et non l'acide nucléique) est transmis au LNR. Les analyses vont jusqu'à la détermination du lignage dans les arbres phylogéniques, d'où l'obtention de groupes phylogéniques apparentés les uns aux autres sur la base d'un virus initial. Des virus sont affiliés à un lignage, avec quelques variations génétiques.

Les lignages cités dans le projet d'arrêté sont assez spécifiques (H7N9/Shanghai/02/2013-like, H7N9/Hong Kong/125/2017-like, H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like (lignage Gs/GD) et H5N6 A/Yunnan/14564/2015-like), tous ayant été isolés chez l'être humain (zoonose).

Le GT recommande de supprimer la mention du lignage Gs/GD précisé pour l'*Influenza A virus* de lignage H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like, car cette qualification est trop large et s'applique aussi à des virus influenza aviaires non zoonotiques, ce qui pourrait créer des confusions.

4.4 Toxines

Le projet d'arrêté prévoit plusieurs modifications, avec ajout de l'abrine, la modeccine, la viscumine, la volkensine, des autres entérotoxines de *Staphylococcus aureus* dont TSST1 (l'entérotoxine B de *Staphylococcus aureus* – SEB - étant en annexe II de l'actuel arrêté), et des mycotoxines T-2 et HT-2.

Seules deux toxines de la liste des MOT, la ricine et la saxitoxine, figurent également dans la liste de l'ensemble des toxines considérées dans le Tableau 1 – 'Produits chimiques toxiques et leurs précurseurs' de l'Organisation pour l'Interdiction des Armes Chimiques (OIAC)²⁴, réglementation sur les armes chimiques au-dessus de la réglementation MOT française pour laquelle les différents pays membres sont soumis aux mêmes règles. Dans le cadre de l'OIAC, ces deux toxines exigent une déclaration au préalable, un suivi administratif et une attention plus importants lors de transferts internationaux que les autres toxines.

Le GT note par ailleurs que la stabilité d'une toxine est un critère essentiel pour envisager son utilisation malveillante par rapport à une toxine moins facile d'accès mais plus stable.

4.4.1 Saxitoxine

Plus de 50 saxitoxines sont décrites dans la littérature dont une bonne dizaine est couramment analysée et régulée. Dans le Tableau 1 de la CIAC, seule la saxitoxine (phycotoxine de référence) est concernée. Dans la liste des MOT, il semblerait que les composés analogues le soient aussi, puisque le terme « saxitoxine » est au pluriel. Cependant, certains analogues n'ont des TEF (*Toxicity equivalent factor*) que de 0,1 par rapport à la saxitoxine (EFSA 2009; Suarez-Isla 2016).

Le GT recommande donc de ne retenir dans la liste des MOT que la saxitoxine de référence.

²⁴ https://www.opcw.org/sites/default/files/documents/CWC/CWC_fr.pdf Tableau 1 p 50

4.4.2 Mycotoxines HT-2 et T-2

Dans la proposition du CSST, aucun avis majoritaire n'avait permis de statuer sur l'inclusion ou non des mycotoxines T-2 et HT-2. Le projet d'arrêté préparé par l'ANSM les place en annexe B.

Ce choix pose question au regard des arguments suivants :

- elles sont largement retrouvées dans la nature, notamment l'alimentation animale et humaine (Kiš *et al.* 2021; EFSA 2017a; Krska *et al.* 2014; Pleadin *et al.* 2017). En effet, elles peuvent être produites par des souches de *Fusarium* ou d'*Aspergillus*, avant ou après récolte des céréales en fonction de la durée et des conditions de stockage ;
- leur DL50 est élevée, de l'ordre du mg/kg ;
- leur historique d'utilisation dans le cadre du CBRNe (*Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and high yield Explosive*) est très limité, se limitant à l'un ou l'autre cas ancien isolé en Asie du Sud Est ou en Union Soviétique (Mirocha *et al.* 1983; Haschek et Beasley 2009) ;
- les aflatoxines ou, de manière plus générale, les tricothécènes dans leur ensemble (T2-HT2 et apparentés) ne sont pas incluses dans la réglementation, ce qui s'avère cohérent avec le risque limité lié à ces mycotoxines.

Par conséquent, le GT recommande de ne pas inclure les mycotoxines T-2 et HT-2 dans la liste des MOT.

4.4.3 Modeccine, viscumine et volkensine

Ces phytotoxines n'ont qu'un historique CBRNe très limité (essentiellement assimilé à la ricine) et des DL50 de l'ordre du µg/kg. Il est vraisemblable qu'elles se trouvent dans la liste des MOT du fait de leur similarité avec la ricine et son utilisation comme agent du bioterrorisme. Considérée individuellement, il est peu probable qu'elles seraient retenues dans cette liste.

4.4.4 Entérotoxines de *S. aureus*

Le résultat de l'algorithme décisionnel a conduit le CSST à proposer d'ajouter à l'entérotoxine staphylococcique de type B (SEB), déjà inscrite sur la liste MOT, l'ensemble des entérotoxines staphylococciques y compris la *Toxic Shock Syndrome Toxin - TSST1* hors toxine *alpha*. Ainsi, les propositions du CSST mentionnent au c.b.3 : « pour les entérotoxines de *S. aureus*, excepté la toxine *alpha*, les membres du Comité ont suivi le résultat de l'algorithme décisionnel et proposent d'ajouter ces agents à la liste des MOT, l'entérotoxine B figurant déjà sur cette liste. Cependant, un membre souligne que le résultat obtenu l'a été en utilisant pour un critère important une extrapolation à partir des données de l'entérotoxine B. La cotation résultante fait basculer ces autres entérotoxines au-delà du seuil, et donc a priori parmi les agents devant figurer sur la proposition de liste des MOT. »

Le recours, pour un critère important, à une extrapolation, conduit, comme l'a signalé un membre du CSST, à une faiblesse de logique décisionnelle. Prendre en considération les seules données de la SEB et extrapoler à l'ensemble des entérotoxines staphylococciques (*Staphylococcal enterotoxins - SE*), y compris la TSST1, est une démarche scientifiquement hasardeuse. Il convient de rappeler en préambule que les symptômes d'une intoxication alimentaire à staphylocoques se manifestent rapidement (2-8 h) et comprennent des nausées, des vomissements violents, des crampes abdominales, avec ou sans diarrhée. La maladie est généralement autolimitée et se résorbe le plus souvent dans les 24-48 heures suivant son apparition. Elle peut parfois être suffisamment grave pour justifier une hospitalisation, en particulier lorsqu'il s'agit de nourrissons, de personnes âgées ou affaiblies. À ce jour, plus de 30 entérotoxines staphylococciques et variants associés ont été décrits. Parmi les SE identifiées et rapportées dans la littérature scientifique, seules huit SE (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH et SEI) sont détectables à l'aide de tests disponibles dans le commerce (SEA à SEE) ou par des méthodes développées en interne (SEG, SEH ou SEI, par exemple). Il est ainsi rapporté que les SEA, SED et SEE partagent 70 à 90 % d'homologie de séquence, alors

qu'elles n'en présentent que 40 à 60 % avec les SEB, SEC et TSST-1. Il convient également de rappeler que la SEC est communément isolée des animaux. Or, les SEC des souches bovines et ovines sont décrites comme présentant un faible degré d'hétérogénéité de séquence entre elles. *A contrario*, elles se caractérisent par un degré important d'hétérogénéité de séquence observé avec les variantes de SEC produites par les souches humaines (Argudín, Mendoza et Rodicio 2010; Etter *et al.* 2020; Féraudet Tarrisse *et al.* 2021; Hennekinne, De Buyser et Dragacci 2012). Au vu de ces informations, une extrapolation de critère est extrêmement contestable.

Par conséquent, compte tenu des connaissances actuelles sur ces toxines, le GT recommande de ne pas ajouter à la liste des MOT les entérotoxines staphylococciques autres que la SEB.

4.4.5 Commentaire sur la liste des toxines

Les experts s'interrogent sur la cohérence de la présence/l'absence de certaines toxines dans le projet d'arrêté. A titre d'exemple :

- la toxine ϵ de *Clostridium perfringens* a été retirée de la liste des MOT alors que sa DL50 est de l'ordre de quelques centaines de ng/kg (Alves *et al.* 2014).
- la tétrodoxtine, toxine marine neurotoxique absente de la liste des MOT et considérée comme émergente (vers 2016-2017), possède une toxicité similaire à la saxitoxine, notamment en termes de DL50 (EFSA 2017b; Madejska, Michalski et Osek 2019).

4.5 Parties de MOT

Le projet d'arrêté définit les parties de MOT :

- **pour les virus**, « *tout fragment de matériel génétique, qu'il soit d'origine naturelle ou synthétique, dès lors que, de manière cumulative :*
 - *sa séquence dépasse 800 bases (ou paires de bases) ;*
 - *la traduction de cette séquence, directe ou indirecte, dépasse 75% de la séquence en acides aminés d'une protéine de ce virus. »*
- **pour les bactéries**, « *tout fragment de matériel génétique, qu'il soit d'origine naturelle ou synthétique, dès lors que, de manière cumulative :*
 - *sa séquence dépasse 500 bases (ou paires de bases) ;*
 - *sa séquence est issue des gènes suivants :*
 - *Lef, codant le facteur létal de Bacillus anthracis ;*
 - *Cya, codant le facteur œdématogène de Bacillus anthracis ;*
 - *PagA, codant l'antigène protecteur de Bacillus anthracis ;*
 - *CapA, CapB et CapD, codant la capsule de Bacillus anthracis ;*
 - *BoaA et BoaB, codant des adhésines de Burkholderia mallei et B. pseudomallei ;*
 - *wcbE, wcbF, wcbG, wcbH, wcbI, wcbJ, wcbK, wcbL, wcbM, wcbN et gmhA codant pour une partie de la capsule de Burkholderia mallei et B. pseudomallei ;*
 - *bopC, codant pour une partie de du système de sécrétion de type III de Burkholderia mallei et B. pseudomallei ;*
 - *codant les toxines botuliques ;*
 - *recO, codant une méthyltransférase de Rickettsia prowazekii ;*
 - *pla, codant une protéase de Yersinia pestis. »*
- **pour les toxines**, « *tout fragment de toxine protéique dès lors qu'il présente une activité toxique pour l'Homme. »*

Pour rappel, dans l'arrêté du 30 avril 2012 en vigueur, une partie de MO est définie par une séquence de plus de 500 b/pb et une partie de toxine par un fragment des toxines protéiques de plus de 167 acides aminés de longueur (cf. § 2).

Pour ces parties de MOT, l'ANSM a saisi le HCB qui, dans son avis du 20 décembre 2019, les a définies comme « *toute séquence nucléotidique, ou selon les cas protéique, issue d'un organisme MOT. Tout système biologique porteur d'une partie de MOT doit être évalué indépendamment de la taille de la séquence, en considérant le risque réel ou potentiel qu'il présente pour la santé publique, selon les critères qui définissent les MOT de la liste en vigueur à l'aide de la méthode décrite ci-après.*

Sur un plan pratique, le CS (Comité scientifique) du HCB propose un processus en deux étapes :

- *la première consistera en une auto-évaluation des séquences mises en œuvre par l'équipe de recherche sur la base d'un document de référence ;*
- *la deuxième en une connexion sur une plateforme internet posant une série de questions permettant de définir le statut au regard de la réglementation MOT en vigueur. »*

Les critères d'inclusion des parties de MOT proposés dans l'avis du CS du HCB portent principalement sur leur potentiel pathogène (caractère répliatif des virus, expression de gènes codant des facteurs de virulence ou des toxines actives, caractère actif/toxique d'une partie de toxine...). Les critères d'exclusion sont liés à l'absence d'expression de gènes codant des facteurs de virulence ou des toxines actives, à l'atténuation/inactivation des MOT.

La proposition du projet d'arrêté de ne considérer MOT que « *tout fragment de toxine protéique dès lors qu'il présente une activité toxique pour l'Homme* » correspond à la démarche d'ER au cas par cas proposée par le CS du HCB. Les experts du GT estiment pertinente cette proposition. Pour les micro-organismes, l'ANSM n'a pas suivi cet avis du CS du HCB recommandant d'évaluer les parties de MOT au cas par cas, indépendamment de leur taille. Dans leur analyse, les experts du GT ont trouvé pertinente l'approche scientifique d'évaluation de risque proposée par le CS du HCB et validée par le CNCB. L'auto-évaluation présente en outre l'intérêt d'appuyer la réflexion des chercheurs sur les risques éventuels liés aux manipulations qu'ils souhaitent entreprendre et l'importance de la maîtrise de ces risques. Le GT rappelle qu'une analyse scientifique des risques est le socle recommandé par tous les guides internationaux pour élaborer une politique pertinente en matière de biosécurité et sûreté biologique. Sans cette analyse, il est donc impossible de mesurer l'impact des parties de MOT sur la santé publique et le bioterrorisme.

Concernant le **critère de tailles de séquences pour les micro-organismes**, le fond de la réglementation MOT, notamment la limite des 500 bases ou pb (qui a pu avoir un sens à une époque au regard des connaissances d'alors²⁵), est actuellement difficile à comprendre et compliqué de nombreux travaux sans que cela soit justifié. Ce critère ne repose pas sur des bases scientifiques. En particulier, cette notion de taille limite (500 b/pb pour les bactéries, 800 b/pb pour les virus), même associée à sa traduction (pour les virus) ou à des séquences de gènes (pour les bactéries) ne permet aucunement de conclure sur la dangerosité des parties de MOT, le nombre de b/pb et le pourcentage de séquence protéique ne permettant en aucune façon de définir le pouvoir infectieux d'une partie de virus. Pour les bactéries, lister un nombre limité de gènes n'est pas pertinent, dans la mesure où les ADN extraits des souches contiendront toujours ces gènes et de fait cela n'allègera pas la gestion quotidienne des MOT.

S'agissant des virus, une ambiguïté porte sur le pourcentage de la séquence en acides aminés, à savoir s'il s'agit de 75 % de l'identité ou de 75 % de la longueur. Les experts s'interrogent sur la définition d'une 'protéine' de ces virus. De par leur taille généralement restreinte, les génomes viraux présentent dans la grande majorité des cas une structure génétique compacte et complexe. Les ARN génomiques ou subgénomiques, les phases ouvertes de lecture chevauchantes contribuent à cette complexité. Par ailleurs, les processus de clivage protéique, fréquents chez les virus, agissent sur des polyprotéines dont la maturation progressive et les clivages alternatifs entraînent l'individualisation de protéines

²⁵ Dans le rapport du Secrétariat de l'OMS du 1^{er} avril 2004 sur « l'éradication de la variole : destruction des stocks de virus variolique », il est indiqué que « *des fragments d'ADN du virus variolique d'une longueur maximum de 500 paires de base pouvaient être distribués librement entre les laboratoires pour servir de témoins positifs dans les nécessaires de diagnostic* »

diverses et multiples pouvant aller d'une dizaine à plusieurs centaines d'acides aminés. Les études de ces génomes à ARN ou ADN et de leurs protéines virales sont essentielles, et les connaissances en permanente évolution.

Aussi la prise en compte, au jour le jour, des fragments génétiques viraux manipulés comme faisant partie de MOT, tels que définis dans le projet d'arrêté s'avère impossible à respecter *stricto sensu* dans les laboratoires de virologie fondamentale ou appliquée où les techniques moléculaires sont usuelles. Envisager qu'il faille tenir, régulièrement mettre à jour, et réviser en fonction des avancées scientifiques, un catalogue des centaines de fragments génomiques non-infectieux s'avère inutile et fastidieux. Il est fort probable que, par leur caractère irréaliste, ces critères de définition puissent induire des fautes de la part des intervenants, mettant en danger les titulaires en termes de conséquences pénales, de leur agrément, leurs missions et leurs projets. Ce passage de 500 à 800 pb pour les virus ne répondra pas aux attentes des chercheurs. La première étape en sécurité et sûreté biologiques est une évaluation de risque (ER), conduisant à une maîtrise des risques. Or, si une ER était réalisée pour les parties de MOT, elle conclurait probablement à un risque très faible sinon nul, en décalage avec les contraintes imposées par la réglementation MOT. En termes de sûreté, il convient de rappeler que toutes les données, les informations sur ces séquences sont en accès libre, et pourraient constituer un risque seulement via des manipulations de génétique inverse très poussée, difficilement réalisables. Pour des séquences anodines de virus, il n'est besoin ni de sécurité, ni de sûreté biologique.

Par ailleurs, recréer du matériel infectieux viral à partir de fragments génomiques contigus, chevauchants, ou même des génomes viraux complets, demande de faire appel à des techniques complexes et sophistiquées et à des moyens matériels et humains importants.

Concernant la manipulation des fragments génomiques viraux dans des vecteurs de clonage ou d'expression, les « OGM en milieu confiné » qui en résultent sont des outils usuels et indispensables des laboratoires de diagnostic et de recherche fondamentale ou appliquée (vaccins). La mise en œuvre de tels OGM est d'ores et déjà soumise à l'agrément préalable du Comité d'expertise des utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés du Ministère de l'Enseignement et de la Recherche (Ordonnance n° 2021-1325 du 13 octobre 2021) en cours de création. Or leur classement en ce qui concerne la sécurité biologique (C1-4) est fondé essentiellement sur une étude de risque et un argumentaire scientifique et est généralement bien compris et accepté par les chefs de projets. Le classement ou non de ces OGM sur la liste de MOT suite à une étude au cas par cas, comme proposé dans l'avis du HCB et du CNCB éviterait l'abandon de nombreux projets qui s'avèrent complexes, coûteux, voire irréalisables, alors qu'il s'agit de l'utilisation non « dangereuse » de parties de MOT.

Avec une telle définition des parties de MOT, même en passant de 500 à 800 bases (ou pb), une autorisation sera requise par exemple pour produire une protéine avec un *Baculovirus* afin de réaliser un test ELISA, ou une protéine d'enveloppe complète pour élaborer un test ELISA de détection du virus de la fièvre hémorragique Crimée Congo. Dans le cadre de projets de recherche, la France ne pourra pas non plus utiliser sans autorisation des méthodes telles que le Luminex et les antigènes multiplexés collés à des billes fluorescentes pour des MOT. Pour le virus Ebola, deux laboratoires américains ont produit des vecteurs vaccinaux, type de modèle sur lequel il est difficilement envisageable de travailler en France (Martin, Volchkov et Reynard 2020).

Pour ce qui concerne les activités d'analyse moléculaire haut débit sur les MOT (PCR et séquençage de nouvelle génération - NGS), la réglementation sur les parties de MOT comme les acides nucléiques paraît injustifiée. En particulier, la préparation des bibliothèques pour le séquençage NGS conduit à des préparations d'acides nucléiques fragiles et qui ne se conservent pas, ne présentant ainsi aucun risque biologique.

Pour les parties de MOT, il a souvent fallu résoudre des problèmes liés à des tests de compétence et des tests de qualité internationaux impliquant des transferts de matériel non inactivé mais non infectieux ou de matériel génétique, transferts qui ne pouvaient être assurés en temps et heure à cause des autorisations et du coût des MOT, avec passage en douane. Le caractère contraignant de la réglementation MOT impacte la qualité du diagnostic des

laboratoires français et engendre une incompréhension de la part de collègues étrangers qui constatent qu'un problème administratif retarde ou empêche la mise en œuvre de tests au bénéfice de tous.

Enfin, les coupes histologiques, réalisées à partir de tissus d'animaux morts à l'issue d'une infection par un MOT, sont *ipso facto* incluses dans la réglementation MOT. Or, d'une part la quantité de génome de MOT contenue dans une coupe est faible et surtout, la fixation des coupes par le formol fragmente les acides nucléiques, rendant leur extraction et leur utilisation à des fins de bioterrorisme irréaliste.

Les arguments présentés ci-dessus sont repris par la grande majorité des scientifiques français ou étrangers pour lesquels la soumission des fragments génomiques viraux à la réglementation des parties de MOT est un handicap certain, difficilement compréhensible et scientifiquement injustifié, et qui expose à un risque sanitaire. En effet, au regard du caractère mondial des épidémies et des échanges internationaux, les instances internationales comme l'OMS encouragent les programmes de recherche collaboratifs concernant le diagnostic, l'épidémiologie moléculaire, la standardisation des protocoles et des réactifs qui sont importants pour la surveillance des micro-organismes pathogènes et la santé publique mondiale. Le fait de considérer comme partie de MOT des fragments de matériel génétique non-infectieux, qui constituent essentiellement le matériel de base ou de référence de ces études, rend ces projets laborieux, coûteux sinon irréalisables. La plupart des laboratoires concernés ont été impactés par ces problèmes. Ainsi les compétences, la visibilité, la réputation de laboratoires nationaux sont menacées.

Ces problèmes ont été clairement perçus par les experts à l'origine de l'avis du CS du HCB sur les parties de MOT et les OGM MOT, avis auquel s'est associé le CNCB. Leurs propositions argumentées, pragmatiques et réalistes sont fondées sur une évaluation de risque au cas par cas et la prise en compte du caractère pathogène ou non-pathogène des parties de MOT. Le GT constate que le projet d'arrêté ne reprend pas à son compte tout ou partie de l'avis de ces deux commissions, et ne comprend pas ce choix, en l'absence d'argumentation scientifique.

Par conséquent, les experts recommandent de réévaluer la pertinence de maintenir les acides nucléiques, sous quelque forme que ce soit, dans la réglementation, à l'heure où tous les génomes sont disponibles dans les bases de données publiques et où existe la possibilité de synthèse d'oligonucléotides à la demande. En particulier, afin de favoriser la célérité et l'efficacité de la surveillance, du diagnostic et du typage moléculaire, comme indiqué par le CS du HCB (cf. Annexe 2), les experts du GT recommandent l'exclusion de la liste des MOT des librairies d'un génome complet de MOT produites à des fins de séquençage à haut débit (NGS) formées de séquences **non clonées** (fragments d'ADN obtenus *in vitro*) ainsi que les acides nucléiques (ARN/ADN) issus de MOT, couvrant un fragment ou un pool de fragments **non exprimés** utilisés à des fins de diagnostic ou de typage moléculaire.

En résumé, en ce qui concerne le projet de **liste des MOT**, le GT recommande :

- de retirer *Clostridium botulinum* et toxines du groupe III de la liste des MOT,
- de supprimer la mention du lignage Gs/GD pour l'*Influenza A virus* de lignage H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like,
- de ne pas inclure les entérotoxines staphylococciques autres que la SEB, celle-ci figurant déjà dans la liste des MOT,
- de ne retenir dans la liste des MOT que la saxitoxine de référence (et non les saxitoxines),
- de ne pas ajouter les mycotoxines HT-2 et T2.

S'agissant de *Brucella*, le GT souscrit à son retrait de la liste des MOT. Il rappelle que cet agent pathogène restera à manipuler en niveau de confinement 3 et souligne à ce titre l'importance du respect des mesures de biosécurité associées pour prévenir le risque de contamination humaine accidentelle en laboratoire.

Pour les parties de MOT, les évolutions scientifiques et techniques et la possibilité actuelle de synthétiser des acides nucléiques *de novo* remettent en question la pertinence de limites de longueur de bases/paires de bases, y compris leur association à un pourcentage de séquence de protéine (virus) ou des gènes particuliers (bactéries). En outre, ces limites ne s'appuient pas sur un argumentaire scientifique ni une évaluation de risque.

Par conséquent, le GT recommande de revoir la définition des parties de MOT (acides nucléiques et séquences protéiques) conformément à l'avis du CS du HCB (cf. Annexe 2) qu'il soutient, notamment sur l'analyse de risque de la dangerosité des parties de MOT par l'équipe de chercheurs les mettant en œuvre. Il conviendrait de conduire une analyse de risque et de maintenir uniquement dans cette réglementation le matériel biologique présentant un risque évident en termes de sûreté biologique. De plus, les experts du GT recommandent l'exclusion de la liste des MOT des librairies d'un génome complet de MOT produites à des fins de séquençage à haut débit (NGS) formées de séquences **non clonées** (fragments d'ADN obtenus *in vitro*) ainsi que les acides nucléiques (ARN/ADN) issus de MOT, couvrant un fragment ou un pool de fragments **non exprimés** utilisés à des fins de diagnostic ou de typage moléculaire. Ces mesures permettront notamment d'accroître les échanges d'acides nucléiques ou les séquences protéiques et de réaliser davantage d'activités de séquençage, d'épidémiologie moléculaire et de spectrométrie de masse pour le diagnostic sur les MOT, améliorant ainsi les connaissances scientifiques sur ces agents.

5 Conclusions et recommandations du groupe de travail

Les micro-organismes et toxines (MOT) sont définis dans le Code de la santé publique et le décret 2010-736 du 30 juin 2010 relatif aux MOT comme les « *micro-organismes ou toxines dont l'emploi serait de nature à présenter un risque pour la santé publique et les produits qui en contiennent* ». La réglementation MOT a pour objectif la protection de la santé publique, en termes de sûreté biologique, pour prévenir un usage malveillant du MOT, et de sécurité biologique. Elle se fonde sur un régime d'autorisation, pour chaque opération sur chaque MOT ou partie de MOT, attribuée à une personne physique, le titulaire de l'autorisation. Divers types d'établissements sont concernés par cette réglementation, tels que des laboratoires de diagnostic, des établissements de recherche, de référence ou des fabricants de médicaments ou de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Le non-respect de la réglementation expose le titulaire à de lourdes sanctions pénales.

L'arrêté du 30 avril 2012 fixe la liste des MOT, où ils sont répartis en deux annexes : l'annexe I des MO hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique, et soumis à un plan particulier d'intervention, et l'annexe II regroupant d'autres micro-organismes, des toxines et les parties de MOT. Parmi ces MOT, certains concernent aussi la santé publique vétérinaire. C'est à ce titre que, dans l'optique d'une actualisation de la liste des MOT, l'ANSM a sollicité l'avis de l'Anses sur un projet d'arrêté, après s'être entourée des avis du Comité Scientifique Spécialisé Temporaire dédié (CSST), du Haut Conseil des biotechnologies (HCB) et du Conseil national consultatif pour la biosécurité (CNCB).

L'analyse du projet d'arrêté fixant la liste des MOT ayant une incidence en santé publique vétérinaire, après consultation des avis du CSST, du HCB et du CNCB, a conduit les experts à émettre les conclusions et recommandations suivantes :

- Les MOT inscrits dans la proposition d'annexe A n'appellent pas de remarque particulière.
- La plupart des MOT inscrits dans la proposition d'annexe B n'appellent pas non plus de remarque particulière, mis à part certains d'entre eux pour lesquels le GT recommande :
 - de suivre l'avis de CSST de supprimer de la liste *Clostridium botulinum* du groupe III et leurs toxines (C, D et chimères C/D et D/C) ;
 - de supprimer la mention du lignage Gs/GD précisé pour l'*Influenza A virus* de lignage H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like ;
 - de ne retenir que la saxitoxine de référence, et non les saxitoxines ;
 - de ne pas inclure les mycotoxines T-2 et HT-2 à la liste des MOT ;
 - de ne pas ajouter les entérotoxines staphylococciques autres que la SEB à la liste des MOT.
- Les dernières recommandations portant sur le projet d'arrêté fixant la liste des MOT concernent les parties de MOT définies à l'annexe B. Compte tenu de la disproportion des mesures mises en place par la réglementation MOT par rapport au risque lié à ces parties de MOT, les experts, suivant en cela l'avis des personnes auditionnées et les conclusions du GT, recommandent :
 - l'abandon de la définition des parties de MOT proposée dans le projet d'arrêté (cf. § 4.5) fondée sur des critères de taille et de pourcentages de séquence de protéine (pour les virus) et de gènes particuliers (pour les bactéries). Ces critères, non justifiés scientifiquement, ne permettent pas de préjuger du caractère infectieux ou non de la partie de MOT considérée.
 - la révision de cette définition des parties de MOT (acides nucléiques et séquences protéiques) conformément à l'avis du HCB (cf. Annexe 2) que les experts soutiennent, notamment sur l'analyse de risque de la dangerosité des parties de MOT par l'équipe de chercheurs les mettant en œuvre. Il conviendrait

de conduire une analyse de risque de la partie de MOT manipulée, tant sur son pouvoir pathogène et son impact en santé publique, que sur la réalité d'un risque de dissémination et/ou d'utilisation provoquée à des fins malveillantes, et ne maintenir dans cette réglementation que le matériel biologique présentant un risque évident en termes de sûreté biologique ;

- l'exclusion de la liste des MOT des librairies d'un génome complet de MOT produites à des fins de séquençage à haut débit (NGS) formées de séquences **non clonées** (fragments d'ADN obtenus *in vitro*) ainsi que les acides nucléiques (ARN/ADN) issus de MOT, couvrant un fragment ou un pool de fragments **non exprimés** utilisés à des fins de diagnostic ou de typage moléculaire.

Ces recommandations répondront à une attente forte de la communauté scientifique dans la mesure où cette définition des parties de MOT n'est plus d'actualité et entrave tant la recherche nationale et internationale que l'épidémiologie moléculaire, désormais largement fondée sur l'épidémiologie moléculaire, comme le montre l'exemple récent de la pandémie de COVID-19, due au virus SARS-CoV-2 qui n'a pas été inclus dans la liste des MOT. Reconsidérer la réglementation sur les acides nucléiques MOT en France en allégeant les actuelles procédures administratives devrait, d'une part, amener de nouveaux laboratoires à soumettre des acides nucléiques possiblement MOT au séquençage et, d'autre part, donner à d'autres laboratoires équipés en séquençage la possibilité de réaliser ce séquençage des MOT, améliorant ainsi les connaissances scientifiques sur ces agents. En effet, trop peu de plateformes génomiques en France sont autorisées par l'ANSM à séquencer les MOT. Cette situation est regrettable et pénalisante sur le plan scientifique et pour la santé publique. L'actualité sur la COVID-19 montre tout l'intérêt d'avoir une activité de séquençage fluide, rapide et massive dans le cadre de la surveillance épidémiologique.

En ce qui concerne l'impact du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire, en réponse à l'auto-saisine intégrée dans le même processus d'expertise, des témoignages convergents recueillis par les experts ont conduit à plusieurs constats présentés dans le rapport. Si la réglementation MOT vise un objectif de santé publique légitime et a permis des progrès notables en termes de biosécurité, son champ d'application (liste des MOT) n'a pas évolué conjointement avec les avancées scientifiques. De plus, de nombreuses règles ou procédures décrites au chapitre 3 paraissent disproportionnées, chronophages et pas toujours adaptées aux réalités du terrain. Cette complexité et cette singularité de la réglementation MOT entraînent :

- un retard du diagnostic de maladies zoonotiques, et donc de la mise en place de mesures de lutte dans les meilleurs délais ;
- un désengagement des laboratoires de diagnostic de première intention et de recherche, une démotivation des personnels, confrontés à des pertes de temps, une surcharge administrative, ainsi qu'au stress lié au risque de sanctions pénales pour le titulaire ;
- une destruction de souches et de collections de souches, d'où une perte patrimoniale et scientifique irremplaçable ;
- une perte de technicité et de compétences des opérateurs ;
- une perte de compétitivité de la recherche française, de renoncement définitif à manipuler les MOT.

Il en résulte une perte de connaissances et d'expertise sur les MOT, en termes de surveillance, de diagnostic, d'épidémiologie moléculaire et de recherche sur des maladies zoonotiques d'importance. La réglementation MOT conduit finalement à un manque d'outils et d'expérience pour identifier les agents de la menace, ce qui pourrait s'avérer dommageable dans l'éventualité d'une crise biologique de grande ampleur et de la nécessité de garantir les capacités de réponse nationale à une telle crise.

Par conséquent, le GT recommande, outre l'évolution de la réglementation pour les parties de MOT, mentionnée ci-dessus, l'allègement des procédures d'obtention des autorisations, par exemple en :

- délivrant des autorisations non plus individuelles à un titulaire, mais à un établissement pour la détention et le maniement de MOT ;
- formalisant et mettant en place une procédure facilitée, comme un mode déclaratif, pour les transferts de souches MOT identifiées sur le terrain, nécessitant une confirmation rapide. Les laboratoires de première intention pourraient par exemple soit disposer d'une autorisation systématique dès lors qu'ils identifient un MOT pour isoler, caractériser plus avant la souche et l'envoyer au LNR avec un circuit sécurisé, soit recourir à un mode déclaratif d'envoi des souches.

Ces allègements seraient un gage de maintien du maillage territorial de la surveillance et de rapidité de gestion de maladies humaines comme animales dues à des MOT.

Cette procédure facilitée pourrait aussi être appliquée aux LNR, en prenant en compte tant leur rôle dans la confirmation des souches MOT et leur stockage, que leur rôle de responsables d'EIL, afin qu'ils ne perdent pas leur expertise des MOT et jouent pleinement leurs missions de surveillance et de gestion des maladies animales dues à des MOT. La rapidité d'intervention et l'épidémiosurveillance moléculaire sont indispensables pour une gestion efficace de ces maladies ;

- donnant aux laboratoires de recherche, par l'allègement des procédures de demandes d'autorisation et de contrôle, la possibilité de reprendre, en termes de compétence et d'expertise, la place prépondérante dans les projets internationaux sur les MOT qu'ils ont progressivement perdue. Cet allègement pourrait notamment concerner les échanges de MOT entre la France et les pays européens, voire au niveau mondial, qui ne seraient plus entravés par des contraintes en douanes, spécifiques à ces agents.

Les experts soulignent l'importance de préserver d'une part le réseau des laboratoires de diagnostic de première intention et ses capacités de diagnostic et, d'autre part, le patrimoine national que constituent les collections de MOT, ce que permettrait un allègement de la réglementation MOT.

Ces recommandations pourront servir aux instances décisionnaires à l'occasion d'une actualisation législative de la réglementation MOT.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail et par le comité d'experts spécialisé : 05 avril 2022

6 Bibliographie

- Agut, H. 2015. "Pour une gestion raisonnable du risque viral en biologie médicale." *Virologie* 19 (4): 165-171. <https://doi.org/10.1684/vir.2015.0614>.
- Alves, G.G., R.A. Machado de Ávila, C.D. Chávez-Olórtegui et F.C.F. Lobato. 2014. "Clostridium perfringens epsilon toxin: The third most potent bacterial toxin known." *Anaerobe* 30: 102-107. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.08.016>.
- Anses. 2021. *Clostridium botulinum : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïque C/D et D/C et E. (saisines 2019-SA-0112 à 2019-SA-0115)*. (Maisons-Alfort : Anses.), 170.
- Argudín, M.Á., M. C. Mendoza et M. R. Rodicio. 2010. "Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins." *Toxins (Basel)* 2 (7): 1751-73. <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>.
- Beeckman, D., S. A. et P. Rüdelsheim. 2020. "Biosafety and Biosecurity in Containment: A Regulatory Overview." *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00650>.
- Devaux, C. A. 2015. "The hidden face of academic researches on classified highly pathogenic microorganisms." *Infect Genet Evol* 29: 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.10.028>.
- EFSA. 2009. "Marine biotoxins in shellfish – Saxitoxin group." *EFSA Journal* 7 (4). <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1019>.
- EFSA. 2017a. "Human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin " *EFSA Journal* 15 (8): 4972.
- EFSA. 2017b. "Risks for public health related to the presence of tetrodotoxin (TTX) and TTX analogues in marine bivalves and gastropods." *EFSA Journal* 15 (4): 4752. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4752>.
- EFSA et ECDC. 2021. "The European Union One Health 2019 Zoonoses Report." *EFSA Journal* 19 (2): :6406, 286 pp. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.640>.
- Etter, D., J. Schelin, M. Schuppler et S. Johler. 2020. "Staphylococcal Enterotoxin C-An Update on SEC Variants, Their Structure and Properties, and Their Role in Foodborne Intoxications." *Toxins (Basel)* 12 (9). <https://doi.org/10.3390/toxins12090584>.
- Féraudet Tarrisse, C., C. Goulard-Huet, Y. Nia, K. Devilliers, D. Marcé, C. Dambrune, D. Lefebvre, J.A. Hennekinne et S. Simon. 2021. "Highly Sensitive and Specific Detection of Staphylococcal Enterotoxins SEA, SEG, SEH, and SEI by Immunoassay." *Toxins* 13 (2): 130.
- Guihot, A., P. Bossi et F. Bricaire. 2004. "Brucellose par bioterrorisme." *La Presse Médicale* 33 (2): 119-122. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0755-4982\(04\)98500-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0755-4982(04)98500-4).
- Harris, R. A., F. Anniballi et J. W. Austin. 2020. "Adult Intestinal Toxemia Botulism." *Toxins (Basel)* 12 (2). <https://doi.org/10.3390/toxins12020081>.
- Hars, J., S. Rautureau, M. Jay, Y. Game, D. Gauthier, JP. Herbaux, JM. Le Horgne, E. Maucci, JJ. Pasquier, A. Vaniscotte, V. Mick et B. Garin-Bastuji. 2012. "Un foyer de brucellose chez les ongulés sauvages du massif du Bargy en Haute-Savoie." *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* (60): 2-7. <https://doi.org/https://www.anses.fr/fr/system/files/BEP-mq-BE60.pdf>.
- Haschek, W. et V. Beasley. 2009. "Trichothecene Mycotoxins." 353-369.
- Hennekinne, J. A., M. L. De Buyser et S. Dragacci. 2012. "Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation." *FEMS Microbiol Rev* 36 (4): 815-36. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>.

- Hull, N. et B. Schumaker. 2018. "Comparisons of Brucellosis between Human and Veterinary Medicine." *Infection Ecology & Epidemiology* 8. <https://doi.org/10.1080/20008686.2018.1500846>.
- Kiš, M., A. Vulić, N. Kudumija, B. Šarkanj, V. Jaki Tkalec, K. Aladić, M. Škrivanko, S. Furmeg et J. Pleadin. 2021. "A Two-Year Occurrence of Fusarium T-2 and HT-2 Toxin in Croatian Cereals Relative of the Regional Weather." *Toxins* 13 (1): 39.
- Krska, R., A. Malachova, F. Berthiller et H.P. van Egmond. 2014. "Determination of T-2 and HT-2 toxins in food and feed: an update." *World Mycotoxin Journal* 7 (2). <https://doi.org/https://doi.org/10.3920/WMJ2013.1605>.
- Madejska, A., M. Michalski et J. Osek. 2019. "Marine Tetrodotoxin as a Risk for Human Health." *J Vet Res* 63 (4): 579-586. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0060>.
- Martin, B., V. Volchkov et O. Reynard. 2020. "Ebola, the first vaccines available." *médecine/sciences* 36 (11): 1027-1033. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020174>.
- Mick, V., G. Le Carrou, Y. Corde, Y. Game, M. Jay et B. Garin-Bastuji. 2014. "*Brucella melitensis* in France: persistence in wildlife and probable spillover from *Alpine ibex* to domestic animals." *PloS one* 9 (4): e94168-e94168. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094168>.
- Mirocha, C. J., R. A. Pawlosky, K. Chatterjee, S. Watson et W. Hayes. 1983. "Analysis for Fusarium toxins in various samples implicated in biological warfare in Southeast Asia." *J Assoc Off Anal Chem* 66 (6): 1485-99.
- Oguma, K., K. Yokota, S. Hayashi, K. Takeshi, M. Kumagai, N. Itoh, N. Tachi et S. Chiba. 1990. "Infant botulism due to *Clostridium botulinum* type C toxin." *The Lancet* 336 (8728): 1449-1450. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)93157-K](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)93157-K).
- Oliveira, M., G. Mason-Buck, D. Ballard, W. Branicki et A. Amorim. 2020. "Biowarfare, bioterrorism and biocrime: A historical overview on microbial harmful applications." *Forensic Science International* 314: 110366. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110366>.
- Pastorino, B., F. Touret, M. Gilles, L. Luciani, X. Lamballerie et R. Charrel. 2020. "Evaluation of Chemical Protocols for Inactivating SARS-CoV-2 Infectious Samples." *Viruses* 12: 624. <https://doi.org/10.3390/v12060624>.
- Pleadin, J., A. Vulić, J. Babić et D. Šubarić. 2017. "The Incidence of T-2 and HT-2 Toxins in Cereals and Methods of their Reduction Practice by the Food Industry. in Fusarium - Plant Diseases, Pathogen Diversity, Genetic Diversity, Resistance and Molecular Markers. London, United Kingdom: IntechOpen, ."
- Raza, N., S. Dhital, V. E. Espinoza, R. Jariwal, C. W. Chiu, M. Valdez, A. Heidari, G. Petersen et K. Sabetian. 2021. "Wound Botulism in Black Tar Heroin Injecting Users: A Case Series." *J Investig Med High Impact Case Rep* 9: 23247096211028078. <https://doi.org/10.1177/23247096211028078>.
- Rossetto, O. et C. Montecucco. 2019. "Tables of Toxicity of Botulinum and Tetanus Neurotoxins." *Toxins (Basel)* 11 (12). <https://doi.org/10.3390/toxins11120686>.
- Suarez-Isla, B.A. 2016. "Saxitoxin and Other Paralytic Toxins: Toxicological Profile." Dans *Marine and Freshwater Toxins. Toxinology*, édité par Haddad Jr. V. Gopalakrishnakone P., Tubaro A., Kim E., Kem W. (eds).
- Timofeev, V., I. Bakhteva, G. Titareva, P. Kopylov, D. Christiany, A. Mokrievich, I. Dyatlov et G. Vergnaud. 2017. "Russian isolates enlarge the known geographic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*." *PLoS One* 12 (9): e0183714. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183714>.
- Tuon, F. F., R. B. Gondolfo et N. Cerchiari. 2017. "Human-to-human transmission of *Brucella* - a systematic review." *Trop Med Int Health* 22 (5): 539-546. <https://doi.org/10.1111/tmi.12856>.

- Zhang, T., X. Liang, X. Zhu, H. Sun et S. Zhang. 2020. "An outbreak of Brucellosis via air-born transmission in a kitchen wastes disposing company in Lianyungang, China." *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 96. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.008>.
- Zou, J., S. Zhi, M. Chen, X. Su, L. Kang, C. Li, X. Su, S. Zhang, S. Ge et W. Li. 2020. "Heat inactivation decreases the qualitative real-time RT-PCR detection rates of clinical samples with high cycle threshold values in COVID-19." *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 98 (1): 115109. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115109>.

Annexe 1 Lettre de saisine



Direction des Affaires juridiques et réglementaires
Dossier suivi par Mélanie Driot

Direction de l'inspection
Dossier suivi par Cyril Stern

N/Réf. 21MOT378 / 21V197

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Saint-Denis, le 17 AOÛT 2021

La Directrice générale

à

M. Roger GENET
Directeur général

ANSES
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex

Objet : Demande d'avis sur la proposition d'arrêté fixant la liste des micro-organismes et toxines.

L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), la Direction générale de la santé (DGS) et le Secrétariat général de la défense et de la sécurité nationale ont conjointement identifié en 2018, la nécessité de faire évoluer les dispositions actuelles de l'arrêté du 30 avril 2012 modifié fixant la liste des Micro-Organismes et Toxines (MOT).

Le processus d'évolution retenu a garanti la prise en compte simultanée des aspects de sécurité biologique et de sûreté biologique avec l'ensemble des parties prenantes. Il s'est déroulé en 3 étapes successives :

1. Une actualisation des bactéries, toxines et virus qui doivent figurer sur la liste des MOT par un comité scientifique spécialisé temporaire de 13 experts externes à l'ANSM, qui a rendu sa proposition le 3 septembre 2019. A ce titre, une méthodologie décisionnelle pour classer toute bactérie, toxine et tout virus a permis de réviser substantiellement la liste des MOT.
2. Une saisine du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) pour proposer une révision de la notion de « partie de MOT » présentant un risque réel ou potentiel pour la santé et pour définir les critères justifiant le placement d'OGM sous ce régime d'autorisation. L'avis du HCB rendu le 20 décembre 2019 a été étayé par la saisine de cinq centres nationaux de référence, s'agissant spécifiquement des « parties de bactéries ».
3. Un avis du Conseil national consultatif pour la biosécurité afin qu'il apporte un éclairage sur les propositions retenues au regard des enjeux de défense et de sûreté nationales. Cet avis a été rendu le 12 mai 2021.

A son terme, ce schéma d'élaboration d'une nouvelle liste des MOT, a conduit l'ANSM à finaliser une proposition d'arrêté.

En effet, les dispositions de l'article L. 5139-1 code de la santé publique établissent qu'« *un arrêté du ministre chargé de la santé pris sur proposition du directeur général de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé fixe la liste de ces micro-organismes et toxines. Lorsque ces micro-organismes et toxines sont destinés à un usage vétérinaire, le directeur général de l'ANSM sollicite, préalablement à sa proposition, l'avis du directeur général de l'Agence nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail* ».

.../...

Ainsi, je sollicite votre avis relatif à cette proposition de l'ANSM, d'arrêté fixant la liste des MOT, concernant les micro-organismes et toxines destinés à un usage vétérinaire. Je vous saurais gré de me transmettre cet avis dans le délai du 15 octobre 2021.

Mes services se tiennent à votre disposition pour toute précision complémentaire.

Bien à ti -

Dr Caroline SEMAILLE

Directrice générale adjointe
chargée des opérations

Pièces jointes : - Dispositions en vigueur : arrêté du 30 avril 2012 modifié fixant la liste des MOT
- Dispositions projetées : projet d'arrêté fixant la liste des MOT

2

Copie : M. le Professeur Jérôme Salomon, Directeur général de la santé

1 **Arrêté du** fixant la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L. 5139-
2 **1 du code de la santé publique**

3
4
5
6 Le ministre des solidarités et de la santé,

7
8 Vu le code de la santé publique, notamment ses articles L. 5311-1, L. 5139-1, L. 5139-2, L.
9 5139-3, R. 5139-1, R. 5139-20 et R. 5139-25 ;

10
11 Vu le code du travail, notamment ses articles R. 4421-2 et R. 4421-3 ;

12
13 Vu le code de l'environnement, notamment ses articles L. 531-1, L. 532-1 et D. 532-2 ;

14
15 Vu l'article 15 de la loi n° 2004-811 du 13 août 2004 de modernisation de la sécurité civile ;

16
17 Vu le code de la sécurité intérieure et notamment son article R. 741-18;

18 Vu l'avis du Haut Conseil des Biotechnologies rendu le 20 décembre 2019 ;

19
20 Vu les avis des centres nationaux de référence en date des 21 août 2020, 14 septembre
21 2020, 22 septembre 2020, 23 septembre 2020, 27 septembre 2020 ;

22
23 Vu l'avis du Conseil national consultatif pour la biosécurité rendu le 12 mai 2021 ;

24
25 Vu l'avis du directeur général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
26 de l'environnement et du travail du ;

27
28 Sur proposition du directeur général de l'Agence nationale de sécurité du médicament et
29 des produits de santé du ;

30
31 Arrête :

32
33
34
35 **Article 1**

36
37
38 Sont classés sur la liste prévue à l'article L. 5139-1 du code de la santé publique les micro-
39 organismes et toxines mentionnés dans les annexes du présent arrêté.

40
41 **Article 2**

42
43
44 Toute opération portant sur les micro-organismes et toxines inscrits sur la liste fixée par le
45 présent arrêté doit faire l'objet d'une demande d'autorisation conformément à l'article R.
46 5139-1 du code de la santé publique, dans un délai de 6 mois à compter de la publication
47 du présent arrêté.

48
49 Jusqu'à ce que la décision mentionnée à l'article R. 5139-6 du code de la santé publique
50 intervienne, les opérations portant sur ces micro-organismes et toxines peuvent se
51 poursuivre.

52

53 En l'absence de dépôt d'une demande dans le délai imparti, les micro-organismes et toxines
54 ne pourront plus être manipulés à l'issue du délai de 6 mois.

55

56 Sans préjudice des dispositions de l'article R.5139-10, les opérations portant sur les micro-
57 organismes et toxines qui font déjà l'objet d'une autorisation délivrée conformément à
58 l'article R. 5139-1 du code de la santé publique, ne sont pas soumis à l'obligation de déposer
59 une nouvelle demande d'autorisation.

60

61

62 **Article 3**

63

64 L'arrêté modifié du 30 avril 2012 fixant la liste des micro-organismes et toxines prévue à
65 l'article L. 5139-1 du code de la santé publique est abrogé.

66

67

68 **Article 4**

69

70 La directrice générale de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de
71 santé est chargée de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la
72 République française.

73

74

75 **Annexes**

76

77

78 **Préambule**

79 Pour les agents biologiques, les groupes de risque 1 à 4 considérés dans les présentes
80 annexes sont ceux définis à l'article R. 4421-3 du code du travail.

81

82 Pour les organismes génétiquement modifiés, les groupes de risque I à IV considérés dans
83 les présentes annexes sont ceux définis à l'article D. 532-2 du code de l'environnement.

84

85

86

87 **ANNEXE A**

88

89 Cette annexe comprend :

90

91 1° Les micro-organismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour
92 la santé publique, ci-après désignés :

93

94 a) Les bactéries :

95

96 De la famille des *Bacillaceae*, du genre *Bacillus* :

97 — de l'espèce *Bacillus anthracis*.

98

99 De la famille des *Francisellaceae*, du genre *Francisella* :

100 — de l'espèce *Francisella tularensis* et de la sous-espèce *tularensis*.

101

102 De la famille des *Yersiniaceae* du genre *Yersinia* :

103 — de l'espèce *Yersinia pestis*.

104

105

106 b) Les virus :

107

108 De la famille des *Arenaviridae*, du genre *Mammarenavirus* :

109 — de l'espèce *Argentinian mammarenavirus* [anciennement nommé virus Junín] ;

110 — de l'espèce *Brazilian mammarenavirus* [anciennement nommé virus Sabiá] ;

111 — de l'espèce *Chapare mammarenavirus* ;

112 — de l'espèce *Guanarito mammarenavirus* ;

113 — de l'espèce *Lassa mammarenavirus* ;

114 — de l'espèce *Lujo mammarenavirus* ;

115 — de l'espèce *Machupo mammarenavirus* ;

116 — de l'espèce *Whitewater Arroyo mammarenavirus*.

117

118 De la famille des *Coronaviridae*, du genre *Betacoronavirus* :

119 — de l'espèce *Middle East respiratory syndrome-related coronavirus* [MERS-CoV] ;

120 — de l'espèce *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, responsables
121 d'infections humaines à l'exception du coronavirus responsable de la Covid-19
122 [SARS-CoV-2].

123 *Commentaire ANSM : la mention en rouge ci-dessus appelle à statuer sur la volonté*

124 *d'inclure/d'exclure l'identification des personnes qui détiennent le virus SARS-CoV-2, et les*

125 *mesures de sécurité et de sûreté biologiques qui doivent ou pas accompagner cette*

126 *détention pour les laboratoires qui souhaiteront conserver ce virus post pandémie.*

127

128 De la famille des *Filoviridae* :

129 — du genre *Marburgvirus* ;

130 — du genre *Ebolavirus*.

131

132 De la famille des *Hantaviridae*, du genre *Orthohantavirus* :

133 — de l'espèce *Andes orthohantavirus*.

134

135 De la famille des *Nairoviridae*, du genre *Orthonairovirus* :

136 — de l'espèce *Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonairovirus*.

137

138 De la famille des *Orthomyxoviridae*, du genre *Alphainfluenzavirus* :

139 — de l'espèce *Influenza A virus* et du lignage H1N1-1918 A/Brevig Mission/1/ 1918-like.

140

141 De la famille des *Paramyxoviridae*, du genre *Henipavirus* :

142 — de l'espèce *Hendra henipavirus* ;

143 — de l'espèce *Nipah henipavirus*.

144

145 De la famille des *Poxviridae*, du genre *Orthopoxvirus* :

146 — de l'espèce *Monkeypox virus* ;

147 — de l'espèce *Variola virus*.

148

149 2° Les micro-organismes non cités au 1° de la présente annexe et classés par l'autorité
150 compétente dans le groupe de risque 4.

151

152 3° Les organismes génétiquement modifiés, ci-après désignés :

153

154 a) Les organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes
155 hautement pathogènes mentionnés au 1° de la présente annexe, lorsqu'ils sont
156 classés par l'autorité compétente dans un groupe de risque équivalent ou supérieur
157 à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus.

158

159 b) Les organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes
160 mentionnés au 1° de l'annexe B, lorsqu'ils sont classés par l'autorité compétente
161 dans un groupe de risque strictement supérieur à celui présenté par la souche
162 parentale dont ils sont issus.

163

164 c) Les organismes génétiquement modifiés responsables d'infections humaines
165 classés par l'autorité compétente dans le groupe de risque IV.

166

167

168 L'annexe A exclut les souches qui, du fait de leur atténuation, sont classées par l'autorité
169 compétente dans les groupes de risque 1 ou 2. Ces souches sont comprises dans l'annexe
170 B.

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180 **ANNEXE B**

181

182 Cette annexe comprend :

183

184 1° Les micro-organismes et toxines ci-après désignés :

185

186 a) Les bactéries :

187

188 De la famille des *Burkholderiaceae*, du genre *Burkholderia* :189 — de l'espèce *Burkholderia mallei* ;190 — de l'espèce *Burkholderia pseudomallei*.

191

192 De la famille des *Clostridiaceae*, du genre *Clostridium* :193 — de l'espèce *Clostridium botulinum* ;194 — de l'espèce *Clostridium baratii*, productrices de neurotoxines ;195 — de l'espèce *Clostridium butyricum*, productrices de neurotoxines.

196

197 De la famille des *Francisellaceae*, du genre *Francisella* :198 — de l'espèce *Francisella tularensis* et de la sous-espèce *holarctica*.

199

200 De la famille des *Rickettsiaceae*, du genre *Rickettsia* :201 — de l'espèce *Rickettsia prowazekii*.

202

203 b) Les virus :

204

205 De la famille des *Hantaviridae*, du genre *Orthohantavirus* :206 — de l'espèce *Dobrava-Belgrade orthohantavirus* ;207 — de l'espèce *Hantaan orthohantavirus* ;208 — de l'espèce *Laguna Negra orthohantavirus* ;209 — de l'espèce *Sin Nombre orthohantavirus*.

210

211 De la famille des *Herpesviridae*, du genre *Simplexvirus* :212 — de l'espèce *Macacine alphaherpesvirus 1*.

213

214 De la famille des *Orthomyxoviridae*, du genre *Alphainfluenzavirus*, de l'espèce *Influenza A virus* :

215 — du lignage H7N9 A/Shanghai/02/2013-like ;

216 — du lignage H7N9 A/Hong Kong/125/2017-like ;

217 — du lignage H5N1 A/Vietnam/1203/2004-like (lignage Gs/GD) ;

218 — du lignage H5N6 A/Yunnan/14564/2015-like.

219

220 c) Les toxines :

221

222 — l'abrine ;

223 — les entérotoxines du *Staphylococcus aureus* sauf l'alpha toxine ;

224 — la modécine ;

225 — la ricine ;

226 — les saxitoxines ;

227 — les toxines botuliques ;

228 — la viscumine ;

229 — la volkensine ;

230

- 231 — la mycotoxine HT-2 ;
232 — la mycotoxine T-2.
233
- 234 2° Les parties des micro-organismes mentionnés au 1° et au 2° de l'annexe A et au 1° de
235 l'annexe B. Aux fins d'application du présent arrêté, on entend par partie des micro-
236 organismes :
- 237
- 238 a. pour les virus, tout fragment de matériel génétique, qu'il soit d'origine naturelle ou
239 synthétique, dès lors que, de manière cumulative :
- 240 — sa séquence dépasse 800 bases (ou paires de bases) ;
241 — la traduction de cette séquence, directe ou indirecte, dépasse 75% de la séquence en
242 acides aminés d'une protéine de ce virus ;
243
- 244 Pour le virus de la variole, cette définition s'entend sans préjudice des recommandations en
245 vigueur de l'Organisation mondiale de la santé.
246
- 247 b. pour les bactéries, tout fragment de matériel génétique, qu'il soit d'origine naturelle ou
248 synthétique, dès lors que, de manière cumulative :
- 249 — sa séquence dépasse 500 bases (ou paires de bases) ;
250 — sa séquence est issue d'un des gènes suivants :
- 251 • *Lef*, codant le facteur létal de *Bacillus anthracis* ;
252 • *Cya*, codant le facteur œdématogène de *Bacillus anthracis* ;
253 • *PagA*, codant l'antigène protecteur de *Bacillus anthracis* ;
254 • *CapA*, *CapB* et *CapD* codant la capsule de *Bacillus anthracis* ;
255 • *BoaA* et *BoaB*, codant des adhésines de *Burkholderia mallei* et *B.*
256 *pseudomallei* ;
257 • *wcbE*, *wcbF*, *wcbG*, *wcbH*, *wcbI*, *wcbJ*, *wcbK*, *wcbL*, *wcbM*, *wcbN* et *gmhA*
258 codant pour une partie de la capsule de *Burkholderia mallei* et *B.*
259 *pseudomallei* ;
260 • *bopC*, codant une partie du système de sécrétion de type III de *Burkholderia*
261 *mallei* et *Burkholderia pseudomallei* ;
262 • codant les toxines botuliques ;
263 • *recO*, codant une méthyltransférase de *Rickettsia prowazekii* ;
264 • *pla*, codant une protéase de *Yersinia pestis*.
265
- 266 3° Les parties des toxines mentionnées au 1° de l'annexe B.
267
- 268 Aux fins d'application du présent arrêté, on entend par partie de toxine, tout fragment de
269 toxine protéique dès lors qu'il présente une activité toxique pour l'Homme.
270
- 271 4° Les organismes génétiquement modifiés non inclus dans l'annexe A et ci-après désignés
272 :
273
- 274 a) Les organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes
275 hautement pathogènes mentionnés au 1° de l'annexe A, lorsqu'ils sont classés par
276 l'autorité compétente dans un groupe de risque strictement inférieur à celui présenté
277 par la souche parentale dont ils sont issus ;
278
- 279 b) Les organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes
280 mentionnés au 1° de l'annexe B, lorsqu'ils sont classés par l'autorité compétente
281 dans un groupe de risque inférieur ou égal à celui présenté par la souche parentale
282 dont ils sont issus ;

283

284 c) Les organismes génétiquement modifiés intégrant une partie d'un des micro-
285 organismes hautement pathogènes mentionnés au 1° de l'annexe A ;

286

287 d) Les organismes génétiquement modifiés intégrant une partie d'un des micro-
288 organismes mentionnés au 1° de l'annexe B ;

289

290 e) Les organismes génétiquement modifiés contenant du matériel génétique codant
291 pour les parties des toxines mentionnées au 3° de l'annexe B ;

292

293

294

295

296 Fait le

297

298

299

300

301

Annexe 2 Extrait de l'Avis du Comité Scientifique du HCB du 20 décembre 2019 relatif à l'évolution de la réglementation sur les micro-organismes et toxines (MOT), en particulier sur les parties de MOT et les OGM qui devront figurer sur la liste des MOT²⁶

« Point n°1 de la saisine : Définition et proposition de critères d'inclusion et d'exclusion de systèmes biologiques porteurs de parties de MOT dans la catégorie MOT.

Définition et principe de la confirmation du statut MOT :

On entend par partie de MOT toute séquence nucléotidique, ou selon les cas protéique, issue d'un organisme MOT²⁷. Tout système biologique porteur d'une partie de MOT doit être évalué indépendamment de la taille de la séquence, en considérant le risque réel ou potentiel qu'il présente pour la santé publique, selon les critères qui définissent les MOT de la liste en vigueur à l'aide de la méthode décrite ci-après.

Sur un plan pratique, le CS du HCB propose un processus en deux étapes :

- la première consistera en une auto-évaluation des séquences mises en œuvre par l'équipe de recherche sur la base d'un document de référence ;
- la deuxième en une connexion sur une plateforme internet posant une série de questions permettant de définir le statut au regard de la réglementation MOT²⁸ en vigueur.

PREAMBULE GENERAL²⁹ :

Rentrent dans la catégorie MOT :

- Les organismes recombinants porteurs de vecteurs d'expression hétérologue (en bactéries, levures, cellules eucaryotes) dans lesquels sont clonés un génome entier de MOT.
- Les ensembles de parties d'un MOT de la liste qui, assemblés, sont susceptibles de reconstituer le génome du MOT entier, y compris les librairies sous forme de clones représentant une séquence complète de génome de MOT (i.e. constituées à partir de fragments recouvrant l'intégralité d'un génome de MOT) et détenues sur un même site.

N'entrent pas dans la catégorie MOT :

- Les séquences non transcrites ou d'ARN non messagers d'un MOT.

1) Critères d'inclusion et d'exclusion de virus de la catégorie MOT

Critères d'inclusion

- Tout système biologique (vecteur, virus, bactérie, levure, cellule eucaryote...) porteur d'un génome entier de virus MOT ou d'un ensemble de séquences (continues ou segmentées) qui recouvrent un génome entier de virus MOT, entre dans le cadre de la réglementation MOT.
- Une ou plusieurs séquences codantes dérivées d'un virus MOT clonées dans un virus répliatif ne relevant pas de la réglementation MOT, donne le statut MOT à ce receveur

²⁶ <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/avis/avis-cs-hcb-relatif-a-levolution-reglementation-sur-micro-organismes-toxines-mot-particulier>

²⁷ Pour les séquences nucléotidiques purifiées, la purification doit être associée à l'élimination d'organismes vivants ou de virus adventices par des processus validés. Les formes protéiques concernent les toxines

²⁸ Pour chacune des deux étapes, le site de la plateforme internet fournira une liste de critères d'inclusion ou d'exclusion du statut MOT, qui permet d'établir le besoin de déposer un dossier MOT complet.

²⁹ Pour les bactéries, ce préambule peut sembler difficile d'application mais couvre tous les types de MOT.

jusqu'à ce que son éventuelle innocuité³⁰ soit établie dans un modèle pertinent. Les données établissant l'innocuité doivent faire l'objet d'une évaluation par le HCB.

Critères d'exclusion

- Un virus MOT atténué, dépourvu des séquences qui lui confèrent sa virulence de manière non réversible spontanément³¹, n'est pas MOT. Le caractère atténué doit avoir été établi dans un modèle pertinent. Les données établissant le caractère atténué et non réversible doivent faire l'objet d'une évaluation par une instance, le HCB par exemple.
- Un système biologique (vecteur viral défectif, bactérie, levure, cellule eucaryote...) porteur (i) d'une séquence codante dérivée d'un virus MOT n'est pas MOT ; ou (ii) dans le cas de plusieurs séquences codantes dérivées d'un virus MOT s'il ne libère pas de particules virales répliquatives (voir le caractère atténué ci-dessus) de ce MOT, ne relève pas de la réglementation MOT.
- Un système biologique porteur de séquences non transcrites ou **d'ARN non messagers d'un MOT** ne relève pas de la réglementation MOT.
- Les bibliothèques³² de séquençage à haut débit (NGS), dans leur forme non clonée (fragments d'ADN obtenus in vitro) d'un génome complet de virus MOT ne nécessitent pas d'être déclarées dans le cadre de la réglementation MOT.
- Les acides nucléiques (ARN/ADN)³⁰ issus de MOT, couvrant un fragment ou un pool de fragments **non exprimés**, utilisés à des fins de diagnostic ou de typage moléculaire, ne nécessitent pas d'être déclarées dans le cadre de la réglementation MOT.

2) Critères d'inclusion et d'exclusion de bactéries dans la catégorie MOT

Critères d'inclusion

- Les bibliothèques génomiques d'une bactérie MOT qui couvrent l'intégralité de son génome réalisées dans des vecteurs d'expression bactériens et clonées dans une bactérie, doivent être déclarées dans le cadre de la réglementation MOT.
- Les bibliothèques génomiques d'une bactérie MOT toxigène qui couvrent l'intégralité de son génome et susceptibles d'être exprimées in vitro, doivent être déclarées dans le cadre de la réglementation MOT.
- Les clones individuels caractérisés qui exprimeraient une toxine MOT active dans un organisme receveur approprié, doivent être déclarés dans le cadre de la réglementation MOT.
- Les séquences codantes de bactéries MOT clonées dans une bactérie non MOT du même genre lui confèrent un statut MOT si elles codent un facteur de virulence ou une toxine. Le statut MOT pourra être réévalué après que l'éventuelle innocuité de la bactérie réceptrice sera établie.

Critères d'exclusion

- Les bibliothèques²⁵ produites à des fins de séquençage à haut débit (NGS) formées de séquences **non clonées** (fragments d'ADN obtenus in vitro) d'un génome complet de bactérie MOT, ne confèrent pas un statut MOT dans le cadre de la réglementation.
- Les acides nucléiques (ARN/ADN)²⁵ issus de MOT, couvrant un fragment ou un pool de fragments **non exprimés**, utilisés à des fins de diagnostic ou de typage moléculaire, ne nécessitent pas d'être déclarées dans le cadre de la réglementation MOT.

³⁰ Innocuité : au sens d'absence de risque réel ou potentiel pour la santé publique

³¹ Par délétion par exemple, les mutations ponctuelles étant par nature susceptibles de réversion.

³² Pour les séquences purifiées, la purification doit être associée à l'élimination d'organismes vivants ou de virus adventices par des processus validés.

- Les séquences de bactéries MOT, à l'exclusion des toxines, clonées dans une bactérie non MOT ne lui confère pas nécessairement un statut MOT. Cette dérogation d'exclusion devra faire suite à une évaluation via la plateforme internet dédiée.
- Les séquences non codantes de bactéries MOT, transcrites ou non, ne confèrent pas le statut MOT dans le cadre de la réglementation.
- Les séquences de bactéries MOT qui codent des facteurs de virulence intrinsèques modifiés génétiquement de manière non réversible spontanément³³, ne confèrent pas à l'organisme récepteur un statut de MOT. Cette dérogation d'exclusion devra faire suite à une évaluation via la plateforme internet dédiée.
- Les séquences de bactéries MOT qui sont des facteurs de virulence accessoires ou dépendants d'autres fonctions absentes de la cellule hôte, ne confèrent pas le statut MOT à l'organisme receveur.
- Les bactéries MOT en cours d'évaluation clinique (dès la phase 1) utilisées comme vaccin vivant ou dépourvues des gènes codant des toxines fonctionnelles et des facteurs de virulence intrinsèques, par des modifications non réversibles spontanément, ne sont pas à déclarer dans le cadre de la réglementation MOT. Avant cette phase clinique, l'évaluation sera effectuée via la plateforme internet dédiée.
- Les séquences d'une bactérie MOT, identifiées dans un échantillon biologique par les plateformes de séquençage, ne nécessitent pas une déclaration MOT dès lors que l'échantillon d'origine n'est pas mis en culture.

3) Critères d'inclusion et d'exclusion de toxines et de parties de toxines MOT (protéines et gènes) dans la catégorie MOT

Critères d'inclusion

- Tout acide nucléique cloné dans un vecteur d'expression (in vivo et in vitro) qui code une forme active/toxique de toxine MOT doit être déclaré dans le cadre de la réglementation MOT.
- Tout fragment protéique actif/toxique d'une toxine MOT, doit être déclaré dans le cadre de la réglementation MOT.

Critères d'exclusion

- Toute séquence codante, dérivée de celle d'une toxine MOT dépourvue d'activité/toxicité réversible spontanément²⁴, n'est pas à déclarer dans le cadre de la réglementation MOT.
- Tout fragment protéique de toxine MOT non porteur de l'activité toxique, n'est pas à déclarer dans le cadre de la réglementation MOT. »

Annexe 3 Eléments révisés

Tableau 6 Modifications apportées dans le rapport révisé de septembre 2022

| Page | Rapport d'avril 2022 | Rapport révisé de septembre 2022 |
|-------|---|--|
| 12 | l'Agence répondra à une seconde question | l'Agence répondra sous auto-saisine à une question complémentaire |
| 15 | <p>Arrêté du 21 novembre 2021</p> <p>Tableau 1 Groupes d'agents biologiques (bactéries, virus, parasites, prions, champignons) en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent pour les travailleurs (sécurité biologique) (art R. 4421-3 du Code du travail)*</p> <p>*Ces quatre groupes reprennent une classification européenne unique des agents biologiques, ainsi répartis en fonction du risque d'infection selon les définitions de l'OMS</p> | <p>Arrêté du 16 novembre 2021</p> <p>Tableau 1 Groupes d'agents biologiques (bactéries, virus, parasites, prions, champignons) en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent pour les travailleurs (art R. 4421-3 du Code du travail)</p> |
| 17 | | Ce chapitre décrit les éléments d'analyses et de conclusion des experts relatifs à la question complémentaire sous auto-saisine. |
| 20 | (...) les manipulations d'agents non MOT tels que les mycobactéries ou <i>B. suis</i> biovar 2 appartenant au groupe 3 | (...) les manipulations d'agents non MOT tels que <i>B. suis</i> biovar 2 (non MOT dans le projet d'arrêté) ou certaines mycobactéries appartenant groupe 3 |
| 20 | En outre, il n'est pas possible d'extrapoler les résultats des tests de désinfection des LNR aux laboratoires de diagnostic. De ce fait, chaque laboratoire doit effectuer ses propres tests pour prouver l'efficacité de ses méthodes de désinfection sur le MOT considéré. | En outre, il est possible d'utiliser les résultats des tests de désinfection des LNR dans les laboratoires de diagnostic. Toutefois, chaque laboratoire doit effectuer ses propres tests pour prouver l'efficacité, sur le MOT considéré, des méthodes de désinfection adaptées aux conditions spécifiques du laboratoire en question. |
| 20 | (...) un dossier technique de 300 à 400 pages | (...) un dossier technique pouvant aller jusqu'à plus de 300 pages, annexes incluses. |
| 20 | l'ANSM (...) autorise le personnel à accéder et manipuler des MOT | l'ANSM (...) donne son accord au titulaire pour habilitier du personnel pour accéder et manipuler des MOT |
| 21 | Lors de foyer dû à un MOT, une répétition des demandes d'autorisation est également nécessaire en cas de suspicions fréquentes et l'envoi de souches peut se répéter avec une augmentation notable du coût associé. | Lors de foyer dû à un MOT, l'envoi de souches peut se répéter avec une augmentation notable du coût associé. |
| 21 | Le transport d'un MOT nécessite que le transporteur soit agréé MOT, ce qui entraîne un surcoût important équivalant le plus souvent aux coûts liés à un transport soumis à la réglementation ONU 2814 (matières infectieuses pour l'être humain) et ONU 2900 (matières infectieuses pour les animaux uniquement). | Le transport d'un MOT entraîne un surcoût du fait d'un marché captif où toute négociation tarifaire s'avère compliquée. |
| 21 | genre <i>Francisella</i> | espèce <i>Francisella tularensis</i> |
| 22 | | Un exemple de destruction d'une collection de souches a été supprimé, l'information n'ayant pas été confirmée |
| 22/24 | laboratoire(s) titulaire(s) | titulaire(s) |
| 23 | les experts recommandent la mise en place d'une procédure facilitée (...) | les experts recommandent la formalisation et la mise en place d'une procédure facilitée (...) |
| 24 | la possession d'une séquence d'ADN ou d'une toxine ne requiert pas le même niveau de sécurité qu'un organisme vivant | la possession d'une séquence d'ADN ou d'une toxine ne requiert pas le même niveau de sûreté qu'un organisme vivant |
| 25 | En effet, il n'a pas été possible de remplir intégralement le formulaire de demande ANSM pour l'acquisition de souches à l'étranger, notamment le volet relatif au passage en douane. | ajout en note de bas de page : « alors que le Royaume Uni était encore dans l'Union européenne » |
| 26 | (...) dans la mesure où il faut un mois de formation et d'habilitation | (...) dans la mesure où les titulaires estiment qu'il faut un mois pour la formation et l'habilitation |
| 27 | (...) MOT viables tels <i>Bacillus anthracis</i> , | (...) MOT viables hautement pathogènes tels <i>Bacillus anthracis</i> , |
| 27 | dérogation | dispense d'autorisation |
| 42 | En ce qui concerne l'impact du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire, (...) | En ce qui concerne l'impact du dispositif réglementaire sur les activités liées aux MOT en santé publique vétérinaire, en réponse à l'auto-saisine intégrée dans le même processus d'expertise, (...) |
| 43 | • mettant en place une procédure facilitée | • formalisant et mettant en place une procédure facilitée |



anses

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 42 76 40 40
www.anses.fr — @Anses_fr