



Rapport annuel d'activité, année 2023

Laboratoire National de Référence

***Vibrio* spp. dans les produits de la pêche**

Nom du responsable du LNR

Stéphanie COPIN

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

Laboratoire de sécurité des aliments -- site de Boulogne-sur-Mer

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

Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture (B3PA)

Les faits marquants de l'année

- Déclenchement des contrôles renforcés à *Vibrio cholerae* au niveau Européen et prévus par le règlement (UE) 2019/1873 pour les produits de la mer en provenance du Venezuela et de l'Equateur
- Agrément temporaire du LDA 76 pour prendre en charge, en cas de saturation du LNR, une partie des analyses officielles de première intention pour la recherche des espèces *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* potentiellement entéropathogènes dans les produits de la pêche (Instruction Technique DGAL/SDSSA/2023-117 du 13/02/2023)

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Pas de développement méthodologique

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

0 méthode(s)

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année

368 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

En 2023, le LNR a analysé 368 échantillons de produits de la pêche (en grande majorité des crustacés crus congelés) selon la méthode décrite dans la norme NF EN ISO 21872-1 (2017). Il s'agit d'une méthode de microbiologie conventionnelle avec isolement sur un milieu sélectif imposé (le TCBS) et un second milieu sélectif laissé au choix du laboratoire (un milieu chromogène : le CHROMID® Vibrio ou le CHROMagar™ Vibrio) :

- 198 échantillons réceptionnés pour des contrôles officiels aux Postes de Contrôle aux Frontières pour la détection de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae*
- 158 échantillons réceptionnés dans le cadre de l'alerte Européenne pour des contrôles renforcés aux Postes de Contrôle aux Frontières pour la détection de *Vibrio cholerae*
- 12 échantillons réceptionnés pour une suspicion de TIAC.

Le nombre d'analyses de première intention a triplé par rapport à l'année 2022. Il est en augmentation par rapport aux années précédentes.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année

1840 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le LNR réalise les analyses de confirmation par PCR pour caractériser toutes les souches suspectes de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* ou *Vibrio vulnificus* isolées à l'issue des analyses officielles de première intention :

- 450 souches suspectes isolées de 45 échantillons ont été analysées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* et les gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH ont été recherchés ;
- 290 souches suspectes isolées de 29 échantillons ont été analysées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio cholerae*, la recherche des gènes codant pour la toxine cholérique mais aussi le sérotypage (O1 et O139) a été effectuée ;
- 1000 souches suspectes isolées de 100 échantillons ont été analysées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio cholerae*
- 100 souches suspectes isolées de 10 échantillons ont été analysées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio vulnificus*.

Le nombre d'analyses officielles de confirmation a augmenté de 12% par rapport à 2022. Il est en augmentation par rapport aux années précédentes.

3.3 Autres analyses

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

644 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le LNR réalise des analyses de confirmation pour caractériser des souches suspectes de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* ou *Vibrio vulnificus*, isolées dans le cadre d'autocontrôles par des laboratoires privés. En 2023, le LNR a reçu 405 souches pour être confirmées par PCR :

- 306 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* par PCR. 302 appartenaient bien à cette espèce. Le LNR a par ailleurs recherché parmi ces 302 souches les gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH par PCR.
- 94 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio cholerae* par PCR. 89 appartenaient bien à celle-ci, la recherche des gènes codant pour la toxine cholérique mais aussi le sérotypage (O1 et O139) ont été effectués sur ces 89 souches.
- 5 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio vulnificus* par PCR. 1 seule appartenait bien à cette espèce.

En 2023, le nombre d'analyses pour confirmer l'identification de souches et rechercher leurs facteurs de pathogénicité reste stable par rapport à 2022.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Le LNR a participé à 1 EILA pour la détection des *Vibrio* spp pathogènes (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* ou *Vibrio vulnificus*) ; cet EILA était organisé par Public Health England (PHE), Royaume-Uni

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor ...).

Participation au GT *Vibrio* du Comité du Codex Alimentarius sur l'hygiène alimentaire (CCFH) pour la révision des Directives sur l'application des principes généraux d'hygiène alimentaire au contrôle des espèces pathogènes de *Vibrio* dans les fruits de mer (CXG 73-2010).

Estimation du temps passé : 2 semaines

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

1 dossier(s)

Détail de ces activités et estimation du temps consacré

La Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) du Ministère chargé de l'Agriculture a sollicité le LNR pour l'agrément temporaire du LDA76 pour prendre en charge une partie des analyses de première intention pour la recherche des espèces *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* potentiellement entéropathogènes dans les produits de la pêche selon la méthode NF EN ISO 21872-1 (2017).

Temps consacré : 1 mois

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Le LNR a été sollicité par certains LNR d'Etats membres de l'UE, ainsi que par les autorités roumaines, espagnoles, irlandaises et portugaises pour connaître les méthodes utilisées par le LNR *Vibrio* spp. pour identifier les souches suspectes de *Vibrio cholerae* et rechercher les gènes codant pour la toxine cholérique, ainsi que pour réaliser le sérotypage de ces souches.

Temps consacré : 1 jour

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Non

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

0

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Le LNR a organisé un essai bilatéral d'aptitude dans le but de mesurer l'aptitude du LDA 76 à réaliser la recherche des *Vibrio* spp. et à rendre des résultats conformes à ceux attendus. Une étude préalable a été effectuée par le LNR pour étudier la contamination de crevettes cuites par *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* et pour contrôler la stabilité des échantillons contaminés.

6.4 Formation, organisation d'ateliers

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

0 journée(s)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
SILVERPROTECT	Matériaux innovants incluant des ions argent pour garantir une meilleure sécurité sanitaire des produits de l'aquaculture	terminé
OMEVIB	Analyses du MOBILOME, VIRULOME et RESISTOME de <i>V. parahaemolyticus</i> isolées de produits de la mer en lien avec des caractéristiques phénotypiques	en cours
DATASET	Identification de bactéries pathogènes et détermination de leur état de viabilité par microspectroscopie Raman couplée au marquage isotopique	en cours
VIBRATO	Détermination de l'état de viabilité de bactéries soumises à un stress environnemental (<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Escherichia coli</i>) par un système innovant de microspectroscopie Raman et marquage isotopique	en cours
SEASAFEFOOD	Approche innovante pour éliminer les agents pathogènes tout au long de la chaîne de production des produits de la mer	en cours

9. Relations avec le CNR

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

Oui

Intitulé du CNR

Centre national de référence Vibrions et choléra

Organisme porteur du CNR

Institut Pasteur

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Non

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Sans objet

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Sans objet

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Un échange inter-laboratoires a été réalisé en 2023 pour l'identification et la caractérisation de *Vibrio* spp. sur souches. Les tests évalués étaient :

- Identification de l'espèce *Vibrio cholerae*, sérogroupage, sérotypage, recherche des gènes de virulence (toxine cholérique *ctxA*)
- Identification de l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* et recherche des gènes de virulence (*tdh/trh*)
- Identification de l'espèce *Vibrio vulnificus*

Transfert de matériel biologique

Oui

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

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

Non

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun