

**Rapport annuel d'activité, année 2019**  
**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 oeuvre**

Laboratoire de sécurité des aliments

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

Laboratoire de Sécurité des Aliments - Site de Boulogne sur Mer  
Unité Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture (B3PA),  
Département Produits de la Pêche et de l'Aquaculture

**Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

sans objet

**Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

sans objet

## **Les faits marquants de l'année**

- Accréditation par le Comité Français d'Accréditation (Cofrac) de la méthode pour l'identification de *Vibrio cholerae* et la recherche des gènes codant pour la toxine cholérique (ctxA et ctxB) par PCR en point final.
- Accréditation par le Comité Français d'Accréditation (Cofrac) de la méthode pour l'identification de *Vibrio vulnificus* par PCR en temps réel et par PCR en point final.
- Réalisation d'un plan exploratoire relatif à la surveillance de la contamination des produits de la pêche et des mollusques bivalves par les *Vibrio* spp. (Instruction technique DGAL/SDSSA/2018-957, 27/12/2018)
- Révision de l'Instruction technique DGAL/SDSSA/2019-486, 02/07/2019)
- Mise à jour de la fiche Anses de description de danger biologique pour les *Vibrio* entéro-pathogènes

## **1. Méthodes développées ou révisées**

**Nombre de méthodes développées ou révisées proposées à l'autorité compétente**

5 méthode(s)

### **Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes**

Identification de *Vibrio vulnificus* par PCR en temps réel et par PCR en point final (Accréditation par le Cofrac).

Confirmation de l'identification de souches de *Vibrio vulnificus* par PCR en temps réel sur le fragment vvhA

Confirmation de l'identification de souches de *Vibrio vulnificus* par PCR en point final sur le fragment hly

Identification de *Vibrio cholerae* et recherche des gènes codant pour la toxine cholérique (ctxA et ctxB) par PCR en point final.

Confirmation de l'identification de souches de *Vibrio cholerae* sur le fragment ISR.

Recherche des gènes codant pour la toxine cholérique (ctxA et ctxB)

### **Informations complémentaires**

sans objet

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

0 méthode(s)

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

Information disponible auprès du LNR.

## **3. Activités d'analyse**

### **3.1 Analyses officielles de première intention**

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

648 analyse(s)

### Détail par type d'analyse de première intention

En 2019, 100 échantillons (n=1) ont été prélevés au stade de la distribution et analysés au LNR par la méthode décrite dans la norme XP ISO/TS 21872-1 dans le cadre d'un plan de surveillance réalisé à titre exploratoire. Ce plan est destiné à estimer la contamination par les trois espèces *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* des produits de la pêche mis sur le marché en France (Instruction technique DGAL/SDSSA/2018-957, 27/12/2018).

Le LNR prend également en charge les analyses officielles pour la détection de *Vibrio* en première intention des produits de la pêche car il n'existe pas de laboratoires agréés en France. 227 échantillons de produits de la pêche (crustacés et poissons) ont été analysés en 2019 pour la détection de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* par la méthode décrite dans la norme XP ISO/TS 21872-1.

Une fois les souches caractéristiques de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* isolées, la norme XP ISO/TS 21872-1 inclue la réalisation des analyses de confirmation par PCR pour identifier ces souches suspectes et rechercher la présence de facteurs de pathogénicité potentiels. Il est important de préciser qu'un seul échantillon de crustacés/poissons contaminé peut générer de nombreuses souches suspectes de *Vibrio parahaemolyticus* ou de *Vibrio cholerae* ou de *Vibrio vulnificus*. La confirmation de toutes les souches suspectes isolées a nécessité 321 analyses PCR décrites ci-dessous :

-106 souches ont été analysées par PCR pour contrôler leur appartenance à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus*. Parmi elles, 48 appartenant à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* ont été analysées pour rechercher la présence de facteurs de pathogénicité TDH et TRH.

-114 souches ont été analysées par PCR pour contrôler leur appartenance à l'espèce *Vibrio cholerae*. Parmi elles, 14 appartenant à l'espèce *Vibrio cholerae* ont été analysées pour rechercher la présence des gènes de la toxine cholérique et ont été sérotypées

-11 souches ont été analysées par PCR pour contrôler leur appartenance à l'espèce *Vibrio vulnificus*

Le nombre d'analyses a augmenté en 2019

### 3.2 Analyses officielles de confirmation

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

666 analyse(s)

#### Détail par type d'analyse de confirmation

Le LNR réalise des analyses de confirmation pour caractériser des souches suspectes de *Vibrio parahaemolyticus*, de *Vibrio cholerae* ou de *Vibrio vulnificus* isolées par des laboratoires externes. En 2019, 270 souches ont été réceptionnées pour analyse de confirmation par PCR :

-Parmi les 182 souches réceptionnées pour une confirmation d'identification à *Vibrio parahaemolyticus* par PCR, 171 appartenaient bien à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* ; la recherche des gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH (PCR en duplex TDH/TRH) a été réalisée sur ces 171 souches

-Parmi les 88 souches réceptionnées pour une confirmation d'identification à *Vibrio cholerae* par PCR, 75 appartenaient bien à l'espèce *Vibrio cholerae*, la recherche des gènes codant pour la toxine cholérique (PCR ctxA et PCR ctxB) mais aussi le sérotypage ont été effectués sur ces 75 souches

Le nombre d'analyses a augmenté en 2019

### **3.3 Autres analyses**

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

0 analyse(s)

#### **Détail par type d'autres analyses**

sans objet

### **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 2 EILA par an organisé par le Public Health England (PHE), United Kingdom

## **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, etc...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR**

**Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année**

0 demande(s)

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

0 rapport(s)

## **5.2 Autres expertises**

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

Expert rapporteur pour la mise à jour de la fiche Anses de description de danger biologique pour les *Vibrio* entéropathogènes : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* (disponible sur le site de l'Anses :

<https://www.anses.fr/en/system/files/BIORISK2016SA0272Fi.pdf> )

## **5.3 Dossiers de demande d'agrément**

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

0 dossier(s)

## **5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels**

Le LNR a été régulièrement sollicité en 2019 par les laboratoires des entreprises de la filière " produits de la pêche " et par des laboratoires privés pour des renseignements concernant les méthodes d'isolement et d'étude des souches de *Vibrio* par PCR.

# **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 EILA

**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**

sans objet

## **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
DEVIB	Développement et standardisation d'une méthode miniaturisée pour le dénombrement de <i>Vibrio</i> spp. potentiellement entéropathogènes pour l'homme dans les produits de la mer	terminé
B-Vibriop	Construction d'une base de donnée de spectres de référence MALDI TOF à partir de souches de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> et de <i>Vibrio cholerae</i> isolées de produits de la pêche et caractérisées par PCR au LNR.	terminé
PRORESVIB	Etude et comparaison des profils de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> isolées d'aliments avec celles isolées de cas humains	terminé

## **9. Relations avec le CNR**

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

### **Intitulé du CNR**

CNR des Vibrions et du 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**

sans objet

**Transfert de matériel biologique**

Non

**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

## Annexes

### Liste des publications et communications 2019 dans le cadre du mandat de LNR *Vibrio* sp. dans les produits de la pêche

#### Publications scientifiques nationales et internationales (Revues à comité de lecture)

Hartnell, R. E., L. Stockley, W. Keay, J. P. Rosec, D. Hervio-Heath, H. Van den Berg, F. Leoni, D. Ottaviani, U. Henigman, S. Denayer, B. Serbruyns, F. Georgsson, G. Krumova-Valcheva, E. Gyurova, C. Blanco, S. Copin, E. Strauch, K. Wiczorek, M. Lopatek, A. Britova, G. Hardouin, B. Lombard, P. in't Veld, A. Leclercq, et C. Baker-Austin. 2019. "A pan-European ring trial to validate an International Standard for detection of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in seafoods." *International Journal of Food Microbiology* 288:58-65. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.008>.

Mougin, Julia, Stéphanie Copin, Daline Bojolly, Virginie Raguene, Annick Robert-Pillot, Marie-Laure Quilici, Graziella Midelet-Bourdin, Thierry Grard, et Maryse Bonnin-Jusserand. 2019. "Adhesion to stainless steel surfaces and detection of Viable But Non Cultivable cells of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* isolated from shrimps in seafood processing environments: stayin' alive?" *Food Control*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.024>.

#### Communications nationales

Dominique Hervio Heath, Stephanie Copin, Evelyne Fenart, Pascal Garry, Solen Lozach, Nina Revoux, Claire Valla, Antoine Veron. 2019. « Développement et standardisation d'une méthode miniaturisée pour le dénombrement de *Vibrio* spp. potentiellement enteropathogènes pour l'homme dans les produits de la mer ». *Congrès national de la Société Française de Microbiologie, Paris, France, 30 septembre -2 octobre 2019* (Affiche).

Stéphanie Copin, Julia Mougin, Virginie Raguene, Annick Robert-Pillot, Marie-Laure Quilici, Graziella Midelet-Bourdin, Thierry Grard, Maryse Bonnin-Jusserand. 2019. « Comparaison de la toxicité du traitement par l'éthidium monoazide (EMA) et par le propidium monoazide (PMA) pour différencier les *Vibrio* viables par qPCR ». *Congrès national de la Société Française de Microbiologie, Paris, France, 30 septembre -2 octobre 2019* (Affiche).

#### Communications internationales

Stéphanie Copin, Julia Mougin, Virginie Raguene, Annick Robert-Pillot, Marie-Laure Quilici, Graziella Midelet-Bourdin, Thierry Grard, Maryse Bonnin-Jusserand. 2019. « Toxicity comparison of ethidium monoazide and propidium monoazide treatment for the differentiation of viable *Vibrio* cells by qPCR ». 8th biennial International Conference on the Biology of Vibrios (ICBV), Montreal, Canada, 17-20 November 2019 (Affiche).

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

Fiche Anses de description de danger biologique pour les *Vibrio* entéropathogènes : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* (COPIN S. membre du GT) ; disponible sur le site de l'Anses : <https://www.anses.fr/en/system/files/BIORISK2016SA0272Fi.pdf>