



Rapport annuel d'activité, année 2020
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

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

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 interne pour l'identification des souches de *Vibrio parahaemolyticus* par PCR en temps réel en sonde taqman (toxR) (extension).

1. Méthodes développées ou révisées

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

0 méthode

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes).

Sans objet

Informations complémentaires

En 2017, la norme internationale NF EN ISO 21872-1 a été remise à jour. Des méthodes de biologie moléculaire ont été proposées pour identifier les principales espèces de *Vibrio* potentiellement entéropathogènes d'origine alimentaire. Le LNR *Vibrio* dans les produits de la pêche a constitué un dossier de validation pour mettre en place la méthode pour identifier des souches de *Vibrio parahaemolyticus* par PCR en temps réel en sonde taqman (sur la cible *toxR*).

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...)

60 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Le LNR prend en charge les analyses officielles pour la détection de *Vibrio* en première intention dans les produits de la pêche car il n'existe pas de réseau de laboratoires agréés en France. En 2020, un total de 60 échantillons de produits de la pêche (crustacés et poissons, en grande majorité crus congelés) ont été analysés pour la détection de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* selon la méthode décrite dans la norme XP ISO/TS 21872-1.

Les 60 échantillons réceptionnés au LNR se répartissaient de la façon suivante :

- 59 échantillons réceptionnés pour des contrôles officiels aux Postes aux Frontières :
 - *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes : non détecté dans 54 échantillons (25 g/ échantillon analysé),
 - *Vibrio parahaemolyticus* tdh-/trh- : détecté dans 1 échantillon,
 - *Vibrio parahaemolyticus* tdh-/trh+ : détecté dans 4 échantillons
- 1 échantillon réceptionné pour une suspicion de TIAC : *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes : non détecté dans 25 g

Le nombre d'analyses a diminué en 2020 (en lien avec l'épidémie de COVID)

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Sans objet

3.3 Autres analyses

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

350 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

En 2020, un total de 9 échantillons de crustacés ont été réceptionnés pour des contrôles internes pour des prestataires privés. Ces 9 échantillons ont été analysés pour la détection de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. cholerae* selon la méthode décrite dans la norme XP ISO/TS 21872-1.

Parmi ces 9 échantillons :

- *Vibrio spp.* potentiellement entéropathogènes : non détecté dans 3 échantillons (25 g/ échantillon analysé)
- *Vibrio parahaemolyticus* tdh-/trh- : détecté dans 1 échantillon,
- *Vibrio parahaemolyticus* tdh-/trh-, *V. cholerae* non O1/non O139 ctxA - et ctxB et *V. vulnificus* : détectés simultanément dans 5 échantillons.

Le LNR réalise des analyses de confirmation pour caractériser des souches suspectes de *Vibrio parahaemolyticus*, de *Vibrio cholerae* ou de *Vibrio vulnificus* isolées dans le cadre d'autocontrôles dans des laboratoires externes privés. En 2020, 341 souches ont été réceptionnées pour être confirmées par PCR :

- 236 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* par PCR. 228 appartenaient bien à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* ; la recherche des gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH par PCR a été réalisée sur ces 228 souches, 1 seule portait le gène codant pour l'hémolysine TRH
- Parmi les 73 souches réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio cholerae* par PCR, 65 appartenaient bien à celle-ci, la recherche des gènes codant pour la toxine cholérique mais aussi le sérotypage (O1 et O139) sur ces 65 souches de *Vibrio cholerae* se sont avérés négatifs
- Parmi les 13 souches réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio vulnificus* par PCR, 2 appartenaient bien à celle-ci. Les facteurs de pathogénicité majeurs de *Vibrio vulnificus* n'étant pas clairement identifiés à ce jour, toutes les souches sont considérées comme pathogènes.

Le nombre d'analyses pour confirmer l'identification de souches et rechercher leurs facteurs de pathogénicité a légèrement augmenté en 2020, ce qui est probablement induit par l'introduction de techniques de biologie moléculaire dans la norme ISO 21872-1 de 2017.

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 EIL organisé par LGC Standards (National)

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...).

sans objet

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 sollicité en 2020 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 (5h environ sur l'année).

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

Non

7.2 Autres activités de surveillance

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

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

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

Non

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

Acronyme	Titre	Statut
SILVERPROTECT	MATÉRIAUX INNOVANTS INCLUANT DES IONS ARGENT POUR GARANTIR UNE MEILLEURE SÉCURITÉ SANITAIRE DES PRODUITS DE L'AQUACULTURE	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

CNR des Vibrions et du Choléra

Organisme porteur du CNR

Institut Pasteur

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

sans objet

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

PRORESVIB (plan Ecoantibio)

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

sans objet

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

Annexes

Liste des publications et communications 2020 dans le cadre du mandat de LNR *Vibrio* sp. dans les produits de la pêche

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

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

Copin, S., J. Mougin, V. Raguenet, A. Robert-Pillot, G. Midelet, T. Grard, and M. Bonnin-Jusserand. 2020. "Ethidium and propidium monoazide: comparison of potential toxicity on *Vibrio* sp. viability." *Letters in Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/lam.13412>.