



Rapport annuel d'activité, année 2020
Laboratoire National de Référence
***Campylobacter* spp.**

Nom du responsable du LNR

Martine DENIS

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

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort

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

Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins (Site de Ploufragan)

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

Au cours de l'année 2020, le LNR *Campylobacter* a poursuivi ses activités en vue du maintien de son accréditation sur la norme NF EN ISO 10272 (2017) pour la partie 1 et la partie 2 portant respectivement sur la recherche et le dénombrement de *Campylobacter*. Le LNR a organisé l'EILA 2020C1_Recherche qui portait sur la recherche de *Campylobacter* à partir de viande de poule SPF contaminée artificiellement (14 laboratoires dont 7 agréés pour la recherche), et l'EILA 2020C1_Dénombrement sur le dénombrement de *Campylobacter* sur les mêmes matrices (18 laboratoires dont 4 agréés pour le dénombrement). Depuis 2018, la gestion des EILA se fait au travers du logiciel LEILA de l'Anses.

En 2020, le LNR a testé la performance de deux méthodes bactériologiques avec ajustement ou non du PH de la matrice pour l'isolement de *Campylobacter* à partir du lait brut. Cet EILA était organisé par le laboratoire de référence européen pour *Campylobacter* (EURL). L'objectif est de proposer une méthode performante pour isoler cette bactérie de cette matrice.

Par ailleurs, le LNR a avancé sur le développement d'une méthode bactériologique et d'une PCR pour détecter *Campylobacter hepaticus* et isoler les souches. *Campylobacter hepaticus* est responsable de la maladie des foies tachetés (Spotty liver disease SLD) chez la volaille et cette maladie est émergente en filière poules pondeuses. Ces développements méthodologiques se sont faits au travers de publications récentes sur cette problématique qui touchent différents pays. Ces publications ont également permis d'identifier les trois matrices cibles pour confirmer toute suspicion de SLD; celles-ci sont la bile, le foie et le contenu caecal ou cloacal. A partir d'échantillons du terrain, le LNR a pu isoler une souche de *C. hepaticus*.

1. Méthodes développées ou révisées

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

0 méthode(s)

Informations complémentaires

Les méthodes développées pour *C. hepaticus* ne concernent pas aujourd'hui les autorités compétentes. Par ailleurs, elles sont du domaine de la santé animale et pas de l'hygiène alimentaire.

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...)

23 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

23 analyses de recherche *C. hepaticus* dans échantillons "bile, foie" dans le cadre de mortalités en élevage de poules pondeuses.

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

341 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- Analyses (recherche et dénombrement) des échantillons du PT 26 (Proficiency Test) organisé par le LRUE *Campylobacter* : 10 échantillons de peau de poulet artificiellement contaminés ou non par *Campylobacter* (testé en double dans l'unité)
- Analyses (recherche) des échantillons du PT 27 organisé par le LRUE *Campylobacter* : 10 contenus caecaux de volailles artificiellement contaminés ou non par *Campylobacter* ;
- Séquençage WGS (Whole Genome Sequencing) du génome de deux souches (ADN extrait par le LNR) et de 2 extraits d'ADN de *Campylobacter* (fournit par LRUE *Campylobacter*) du PT 28 pour évaluer la performance de l'extraction de l'ADN destiné au séquençage;
- Analyses (recherche et dénombrement) des échantillons de l'EILA organisé par le LNR *Campylobacter* : 10 échantillons de viande de dinde artificiellement contaminés ;
- Identification de l'espèce (n=200) des souches récupérées des deux PT et des EILA.
- Analyses sur peau de poulet pour le calcul du SiR (17)
- Test des lyophilisats de *Campylobacter* pour la mise en place de l'EILA 2021 (recherche et dénombrement) (14)
- Détection de *C. hepaticus* à partir de 24 échantillons (bile et foie) de volailles. Ces échantillons ont été prélevés par un vétérinaire dans un élevage de poules pondeuses présentant les symptômes de la maladie des foies tachetés (SLD). La méthode mise en place au LNR a permis d'isoler une souche de la bile qui a été confirmée *C. hepaticus* par PCR.
- Détection de *Campylobacter* à partir d'échantillons de lait brut avec ajustement ou non du PH (72 échantillons) dans le cadre d'un EILA organisé par le laboratoire de référence européen pour *Campylobacter* (LRUE).

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**

- EILA (PT) organisés par le LRUE *Campylobacter*:
- PT 26 : 10 échantillons de peau de poulet artificiellement contaminés ou non par *Campylobacter* (Recherche et dénombrement, identification espèces)
- PT 27 : 10 échantillons de contenus caecaux artificiellement contaminés ou non par *Campylobacter* (Recherche et identification espèces).
- PT 28 : 2 souches et 2 extraits d'ADN de *Campylobacter* analysés par WGS pour vérifier la performance de l'extraction d'ADN destiné au séquençage.

EILA organisés par le LNR *Campylobacter* :

- EILA 2020C1_Recherche : 10 échantillons de viande de poulet artificiellement contaminés ou non par *Campylobacter*.
- EILA 2020C1_Dénombrement : 10 échantillons de viande de poulet artificiellement contaminés ou non par *Campylobacter*.

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...).

Pour la DGAL :

Participation à la rédaction et à la relecture de l'Instruction technique DGAL/SDSSA/2020-XXX portant sur la mise en œuvre d'un plan de surveillance relatif à la contamination des foies de bovin par *Campylobacter* au stade de l'abattoir pour 2021 (temps : 3 jours)

Pour l'AFNOR :

Depuis juin 2019, le LNR est impliqué dans un groupe de travail de l'AFNOR (WG3) dont l'objet est de travailler au niveau européen sur un projet d'annexe (amendement 1) à la norme 10272 ; annexe portant sur l'identification des espèces en *Campylobacter* par PCR (5 jours).

Pour l'EFSA :

Présidence d'une scientifique du Working Group "Update and review of *Campylobacter* control options in broilers" (Décembre 2018-Mars 2020) (5 jours).

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 par ailleurs été sollicité par des laboratoires :

- Pour des conseils méthodologiques pour la recherche et dénombrement de *Campylobacter*
- Pour la conservation des souches

Le LNR a assuré un appui scientifique et technique :

- En recherchant *Campylobacter* lors de cas sur le terrain
- En envoyant des échantillons et en analysant les résultats *Campylobacter* obtenues par certains laboratoires utilisant des méthodes alternatives à la norme ISO 10272.

Le LNR a participé à un essai inter-laboratoire organisé par le LRUE *Campylobacter* pour tester la performance de trois méthodes bactériologiques avec ajustement ou non du PH de la matrice lait pour l'isolement de *Campylobacter* à partir de cette matrice. L'objectif est de proposer une méthode performante pour isoler cette bactérie de cette matrice (72 analyses au total).

Le LNR estime à 105 jours ouvrés le temps passé en 2020 à ces activités.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

8 laboratoires

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

2 EILA

Nom de l'EILA

EILA 2020C1_Recherche

L'EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Oui

Nombre de laboratoires participants

14 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

7 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

6 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

Laboratoires privés et publics français

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

1 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

En 2019 : Nombre de laboratoires participants 15 laboratoires dont 8 laboratoires agréés

En 2020 : Nombre de laboratoires participants 14 laboratoires dont 7 laboratoires agréés

Maintien des performances dans le temps des laboratoires agréés

Nom du 2^e EILA

EILA 2020C1_Dénombrement

Cet EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Oui

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

18 laboratoire(s)

(**) Au sens de la norme 17043

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

4 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à cet EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants à cet EILA, en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants à cet EILA

13 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants à cet EILA: français/étrangers

Laboratoires privés et publics français

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

3 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau de cet EILA dans le temps

En 2019 : Nombre de laboratoires participants 19 laboratoires dont 4 laboratoires agréés

En 2020 : Nombre de laboratoires participants 18 laboratoires dont 4 laboratoires agréés

Maintien des performances dans le temps des laboratoires agréés

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**

1 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

Une réunion de restitution des résultats des EILA 2020C1_Recherche et EILA 2020C1_Dénombrement a été organisée le 03 décembre 2020. La réunion s'est déroulée à Ploufragan et était accessible par téléphone ou en visioconférence. Une présentation concernant les deux EILA (déroulement, résultats, exploitation des données, etc.) a été adressée aux participants avant la réunion.

Cette réunion s'est déroulée en quatre temps :

- Présentation par la coordinatrice du déroulement des deux EILA de l'année et résultats ;

(**) Au sens de la norme 17043

- Présentation par le LNR des nouveautés portant sur *Campylobacter* (PS/PC, réglementation, méthodes, ...). Ainsi ont été annoncés que le PS/PC 2020 portant sur la recherche et dénombrement de *Campylobacter* sur foie de volaille à la distribution a été reporté en 2021 en raison de la situation sanitaire et qu'un PS/PC 2021 (à partir de mars) portera sur la recherche et dénombrement de *Campylobacter* sur foie de bovin prélevé à l'abattoir.
- Intervention des laboratoires et échange avec le LNR sur leur attente vis à vis de l'EILA, sur leurs difficultés, les méthodes,
- et annonce de la date des prochains EILA.

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
Alg-AD	Creating value from waste nutrients by integrating algal and anaerobic digestion	terminé
DISCOVER	Discovering the sources of <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , VTEC and antimicrobial Resistance	en cours
PATHOD'TECT	Développement de méthodes de PCR quantitative (qPCR) et PCR digitale (dPCR) pour la détection et la quantification de pathogènes alimentaires	en cours
PATHOD'TECT PATHOGAZ	Impact sanitaire de la méthanisation agricole mésophile : comment limiter la dissémination potentielle de souches pathogènes et/ou résistantes aux antibiotiques	en cours
SACACIR	Etude de la circulation de <i>Salmonella</i> et <i>Campylobacter</i> entre les filières avicole et bovine	en cours
CaMIConVo (thèse)	Apport de nouvelles méthodes pour la détection et quantification de <i>Campylobacter</i> et étude des interactions avec d'autres microorganismes comme approche innovante pour son contrôle à l'élevage	en cours
protectCamp (thèse)	Réponses immunitaires protectrices des poulets de chair contre <i>Campylobacter</i> : paramètres clés pour le développement de futurs vaccins	en cours
UdoFric	Understanding the development of fluoroquinolone (FQ) resistance in <i>Campylobacter</i> present in broilers and the risks of FQ resistance persisting through the food-chain to cause disease in people	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 des *Campylobacter* et *Helicobacter*

<https://www.cnrch.fr/>

Organisme porteur du CNR

CNRCH - Laboratoire de Bactériologie, Université Bordeaux Segalen, 146, rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux cedex.

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Le LNR a pour mission de réaliser des investigations en cas de TIAC ; il doit récupérer et analyser les échantillons supposés être à l'origine des infections humaines. Les souches isolées sont alors génotypées et leur génotype comparé à celui de celles issues des infections humaines en vue de confirmer l'origine des infections. En 2019, aucune investigation n'a été réalisée dans ce cadre.

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

La collaboration avec le CNR *Campylobacter* concerne principalement nos activités de recherche. Le CNR participe à ces projets en fournissant des souches humaines permettant ainsi la comparaison génétique de ces souches avec celles issues d'animaux ou de l'environnement.

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

La collaboration avec le CNR se traduit par des publications et communications en co-auteurs.

Transfert de matériel biologique

Non

10. Relations avec le LRUE**Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR**

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

European Union Reference Laboratory (EURL) for *Campylobacter*, SVA, Uppsala, Suède.
<https://www.sva.se/en/service-and-products/eurl-campylobacter>

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 *Campylobacter*

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

Publications scientifiques nationales et internationales (Revue à comité de lecture)

Thépault A., X. Roulleau, P. Loiseau, L. Cauquil, T. Poezevara, B. Hyronimus, S. Quesne, F. Souchaud, A. Keita, M. Chemaly and M. Guyard-Nicodème 2020. « Effect of litter treatment on *Campylobacter jejuni* in broilers and on cecal microbiota. » *Pathogens*. 2020;9 (5):E333. doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens9050333>.

Thépault A., V. Rose, M. Queguiner, M. Chemaly and K. Rivoal 2020. « Dogs and cats: reservoirs for highly diverse *campylobacter jejuni* and a potential source of human exposure. » *Animals* (Basel). 2020;10 (5):E838. <https://doi.org/10.3390/ani10050838>.

Communications nationales

Guyard M., A. Nagham, L. Bonifait, G. Gillot, S. Quesne, N. Desriac and M. Chemaly 2020. « Développement d'une méthode rapide de détection de *Salmonella* Spp. et de quantification de *Campylobacter* Spp. » 3^e rencontre d'échanges du LNR *Salmonella*, ANSES Ploufragan, 26 Novembre, 2020.

Autres

Rapports d'expertise

EFSA (BIOHAZ (EFSA Panel on Biological Hazards), Koutsoumanis K, A. Allende, A. Alvarez-Ordóñez, D. Bolton, S. Bover-Cid, R. Davies, A. De Cesare, L. Herman, F. Hilbert, R. Lindqvist, M. Nauta, L. Peixe, G. Ru, M. Simmons, P. Skandamis, E. Suffredini, T. Alter, M. Crotta, J. Ellis-Iversen, M. Hempen, W. Messens, and M. Chemaly 2020. « Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production. » *EFSA Journal* 2020;18 (4):6090. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6090>.

Rapports de projets

Denis M., F. Souchaud, V. Rose, B. Nagard, M. Gourmelon, J. Serghine, E. Cauvin, F. Benoit, M. Meunier, I. Rincé et A. Rincé 2020. « *Campylobacter* spp dans les coquillages : sources de contamination et risque pour l'homme. » Projet CAMPYSHELL, FEAMP, 77 pages (confidentiel).