



## Rapport annuel d'activité, année 2021

### Laboratoire National de Référence

#### *Listeria monocytogenes*

**Nom du responsable du LNR**

Corinne DANAN

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

Laboratoire de sécurité des aliments

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

Unité Salmonella et Listeria

Unité Bactériologie et Parasitologie des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture

## **Les faits marquants de l'année**

Avancée majeure des discussions pour la construction d'une base de données européenne centralisant des données de séquençage de *Listeria monocytogenes* : réflexions conjointes ECDC/EFSA, relayées au niveau français avec la DGAL et la DGCCRF pour le rôle de l'Anses et du LNR *Listeria monocytogenes*, sur le One Health System destiné à être opérationnel en juin 2022.

## **Abréviations**

Efsa : *European Food Safety Authority* (Autorité européenne de sécurité alimentaire)

*Listeria monocytogenes* = Lm

LRUE : Laboratoire de référence de l'Union européenne (EURL : European Union Reference Laboratory)

PS/PC : Plan de surveillance/Plan de contrôle

WGS : Whole Genome Sequencing

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

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

0 méthode(s)

### **Informations complémentaires**

Développement d'une méthode interne (Geno-*Listeria*) : Identification par PCR en temps réel des 26 principaux complexes clonaux de souches de *Listeria monocytogenes* – accréditation obtenue le 30/09/2021 (attestation Cofrac 1-2246)

**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...)**

0 analyse(s)

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

Sans objet

### **3.2 Analyses officielles de confirmation**

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

84 analyse(s)

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

- Arrêt du sérotypage moléculaire courant 2020
- Utilisation du WGS systématique depuis 2020 sur les souches isolées de contrôles officiels (souches isolées des prélèvements des PS/PC)

2021: 84 WGS

Tendance sur les 5 dernières années : volume d'activité variable d'une année à l'autre selon méthodes mises en oeuvre, diminution par rapport à 2019 et 2020.

### **3.3 Autres analyses**

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

1465 analyse(s)

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

- prestation de service ou projets de recherche, études
- WGS : 125 (prestation) + 241 (hors prestation)
- Détection/dénombrement : 10 (prestation) + 90 (hors prestation)
- Tests de croissance : 7 (prestation) + 39 (hors prestation)
- Geno-Listeria : 155 (prestation) + 798 (hors prestation)

Augmentation globale et régulière de plus de 300% du nombre d'analyses sur la période 2017-2021

### **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**

- Niveau national :

2 EILA « Détection/dénombrement de Lm » organisés par GSC et BIPEA

1 EILA « détermination de l'a<sub>w</sub> et du pH » organisé par IFIP

- Niveau européen :

1 EILA « WGS » et « typage moléculaire » organisé par LRUE Lm

1 EILA « Sérotypage moléculaire de Lm » organisé par SSI

## **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**

1 demande(s)

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

1 rapport(s)

### **Détail des demandes d'AST, le cas échéant numéro de saisine pour les demandes de portée nationale ayant fait l'objet d'un traitement en Comité de Traitement des Saisines, et noms des mandataires de ces demandes**

Demande d'expertise par le LNR Lm d'une méthode de dénombrement pour *Listeria monocytogenes* aux faibles niveaux de contamination pour la filière pêche : courrier DGAL du 17/5/2021 et rapport du LNR, rendu en septembre 2021

### **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 groupe de travail WG 19 de l'ISO/TC 34/SC 9 qui prépare deux normes sur les tests d'épreuve d'étude d'inactivation (ISO 20976-2) et sur la détermination & utilisation des valeurs cardinales (ISO 23981)
- Participation au groupe de travail WG 7 de l'ISO/TC 34/SC 9 « Exigences générales et recommandations pour les examens microbiologiques »
- Participation au groupe de travail WG 3 de l'ISO/TC 34/SC 9 « Validation de méthodes »
- Participation au groupe de travail WG 25 de l'ISO/TC 34/SC 9 « Séquençage complet du génome pour le typage et la caractérisation génomique »
  
- Organisateur et participation au groupe de travail du LRUE Lm pour la révision du guide « Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of Lm »
  
- Présidence de la Commission AFNOR V08B " Microbiologie des aliments "
  
- Membre du RMT ACTIA QUALIMA " Maîtrise de la qualité microbiologique des aliments "
- Membre du RMT CHLEAN « Conception hygiénique des lignes et équipements et amélioration de la nettoyabilité»
  
- Temps passé : 55 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**

- Appui à la DGAL et DGCCRF dans le cadre de la programmation et la réalisation des plans de surveillance et des plans de contrôle 2021
- Appui à la DGAL dans le cadre d'alertes produits (3 alertes)
- Appui technique aux instituts techniques agro-industriels et aux laboratoires pour des demandes non décrites dans le paragraphe 6 : disponibilités de souches de référence,

durées de vie des aliments en fonction de leur composition, des procédés de transformation et des circuits de distribution, mise en œuvre des tests de vieillissement et des tests de croissance

- Temps passé : 15 jours

## **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**

64 laboratoires

#### **Animation d'un réseau de laboratoires reconnus**

Oui

#### **Nom du réseau et/ou description de l'activité du réseau**

Réseau de laboratoires reconnus pour la réalisation des tests de croissance de Lm dans les denrées alimentaires

#### **Nombre de laboratoires reconnus dans le réseau**

11 laboratoires

### **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**

1 EILA

##### **Nom de l'EILA**

1 EILA « Détection de Lm » (réseau de laboratoires agréés)

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

Non

##### **Nombre de laboratoires participants**

65 laboratoire(s)

##### **Nombre de laboratoires agréés participants**

65 laboratoire(s) agréé(s)

##### **Le LNR a-t-il participé à l'EILA?**

Non

##### **Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément**

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

##### **Nombre d'autres laboratoires participants**

0 laboratoire(s)

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

6 laboratoire(s)

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

6 laboratoire(s) agréé(s)

**Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)**

Résultat non rendu pour un échantillon non contaminé

Non-conformité observée pour le niveau faible de contamination

Non détection pour le niveau fort de contamination

**Gestion des écarts (limiter aux laboratoires agréés) : actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives**

Les laboratoires non satisfaisants ont été contactés par le LNR et devront justifier de la mise en place d'action(s) corrective(s) qui seront évaluées par le LNR. La prochaine campagne d'EILA permettra de vérifier l'efficacité de ces actions.

**Suivi de décisions sur l'agrément**

En cours

**Evolution du réseau dans le temps**

stable

**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**

13/4/2021 : atelier annuel du réseau de laboratoires reconnus pour les tests de croissance.

Objectifs : dresser un bilan des actions menées depuis la précédente réunion (6 février 2020), envisager les actions à mener et d'aborder des sujets d'actualités nationaux, européens, normatifs sur la thématique. Nombre de participants : 22 (en visioconférence)

**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

\*\* Au sens de la norme 17043

### **Autres formations dans le cadre des activités du LNR**

Formations à destination des laboratoires reconnus

une session de formation sur « la conduite des tests de croissance relatifs à Lm dans les aliments" : 3 j - Nombre de participants = 3

### **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**

Oui

**Cadre de ces activités**

Surveillance de Lm sur la chaîne alimentaire par un réseau de laboratoires d'analyses (réseau en cours de définition)

**Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans ce cadre**

Pilotage ; Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de confirmation

**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
UMT ASIICS	Actions pour la Surveillance et l'Investigation des Crises Sanitaires	terminé
UMT FASTYPERS	« Mise en place d'outils rapides de détection de souches de <i>Listeria monocytogenes</i> et de <i>Salmonella</i> isolées en Industries Agro-alimentaires et susceptibles de persister dans les environnements d'ateliers	en cours
PERMALI	Marqueurs de la persistance intracellulaire de Lm	en cours
LILIS	Thèse Diversité génomique et compétitivité de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les filières de valorisation agronomique des effluents d'élevage	en cours
EJP CARE	Cross-sectoral framework for quality Assurance Resources for countries in the European Union	en cours
PATHOBIOMOE	Analyse du pathobiome dans les denrées alimentaires végétales	terminé
SYLVERPROTECT	Matériaux innovants incluant des ions Argent pour garantir une meilleure sécurité sanitaire des produits de l'aquaculture	en cours
PERSISTANCE	Approche combinée phénotypique et génomique pour une meilleure connaissance de la persistance de Lm en aquaculture	en cours
DORMANCE	Etude de l'état viable non cultivable (VNC) de Lm et de la flore résidente en entreprise par des techniques innovantes (microspectroscopie Raman et marquage isotopique vs PMA-qPCR et microscopie) dans la filière des produits de la pêche et de l'aquaculture	en cours
RESASTOCK	Etude de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans le milieu marin, et impact en santé publique	en cours
OH-HARMONY-CAP	One Health Harmonisation of Protocols for the Detection of Foodborne Pathogens and AMR Determinants	en cours
LACTI-4-SAFE	Thèse : Caractérisation de la microflore du lait cru et compréhension de son impact sur la qualité sanitaire des produits laitiers en France et au Cameroun	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 *Listeria*

**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**

Les souches isolées d'un contexte d'alerte sont prises en charge par le CNR ou le LNR lorsqu'il s'agit de souches isolées de plans de surveillance ou de contrôle officiels. Dans le cadre de la gestion des épidémies de listérioses européennes, les données des séquences des souches d'alerte isolées d'aliments au niveau national, sont transmises par le LNR au LRUE Lm qui les analyse et les transmet à l'Efsa.



**Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche**  
sans objet

**Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant**  
gestion d'alertes nécessitant un séquençage des souches d'origine non humaine

**Transfert de matériel biologique**  
Oui

## **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**  
EURL *Listeria monocytogenes*

## **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 2021 dans le cadre du mandat LNR *Listeria monocytogenes*

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

#### Publications destinées aux professionnels ou au grand public

- Brauge, T., C. Soumet, A. Hanin, and G. Midelet. 2021. "Résistance de *Listeria monocytogenes* aux procédures de nettoyage et désinfection dans l'industrie des produits de la pêche." *FR IAA*.
- Hermon, C., G. Midelet, M. Denis, S. André, T. Brauge, B. Frémaux, M. Guilbaud, C. Faille, N. Oulahal, N. Rossi, and C. Soumet. 2021. *Guide sur les bonnes pratiques de prélèvement de surface en industrie*. Edited by Guide ACTIA. Intra-LSAI. France.

#### Publications scientifiques nationales et internationales

- Brauge, T., S. Copin, M. Gay, and G. Midelet. 2021. "Les produits de la mer peu transformés et les dangers bactériens et parasitaires." In *ISTE*
- Bridier, A., C. Soumet, I. Attig, T. Brauge, G. Bourdin-Midelet, B. Frémaux, C. Hermon, F. Zuber, C. Millet, P. Poulpaut, N. Rossi, A. Hanin, and S. La Carbona. 2021. "Les biocides en agroalimentaire." In *Antimicrobiens (RMT ChleanPass)*.
- Fritsch, L., A. Baleswaran, H. Bergis, A. Lintz, E. Hamon, V. Stahl, J. C. Augustin, and L. Guillier. 2021. "A microscopy-based approach for determining growth probability and lag time of individual bacterial cells." *Food Research International* 140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110052>.
- Guérin, A., A. Bridier, P. Le Grandois, Y. Sévellec, F. Palma, B. Félix, Study group LISTADAPT, S. Roussel, and C. Soumet. 2021. "Exposure to quaternary ammonium compounds selects resistance to ciprofloxacin in *Listeria monocytogenes*." *Pathogens*. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020220>.
- Kubicová, Z., S. Roussel, B. Félix, and L. Cabanová. 2021. "Genomic Diversity of *Listeria monocytogenes* Isolates From Slovakia (2010 to 2020)." *Frontiers in Microbiology* 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.729050>.
- Maćkiw, E., D. Korsak, J. Kowalska, B. Felix, M. Stasiak, K. Kucharek, A. Antoszevska, and J. Postupolski. 2021. "Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat food products in retail in Poland." *International Journal of Food Microbiology* 358. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109397>.
- Maćkiw, E., D. Korsak, J. Kowalska, B. Felix, M. Stasiak, K. Kucharek, and J. Postupolski. 2021. "Incidence and genetic variability of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetables in Poland." *International Journal of Food Microbiology* 339. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109023>.
- Palma, F., N. Radomski, A. Guérin, Y. Sévellec, B. Félix, A. Bridier, C. Soumet, S. Roussel, and L. Guillier. 2021. "Genomic elements located in the accessory repertoire drive the adaptation to biocides in *Listeria monocytogenes* strains from different ecological niches." *Food Microbiology*: 103757. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103757>.

#### Communications nationales

- Trigueros, S., T. Brauge, S. Debuiche, V. Rebuffel, P. Marcoux, and G. Midelet. 2021. "Effect of heavy water incorporation on the viability on *Listeria innocua*." Poster 16ème congrès national de la SFM: Microbes 2021, Nantes (FR), 22 au 24 septembre

#### Communications internationales

- Brauge, T., L. Barre, G. Midelet, G. Leleu, and A. Colas. 2021. "Impact of Neutralizing Buffers of Disinfectants on the Viability of *Listeria monocytogenes* Cells from Monospecies Biofilm." On-line Virtual IAFP European Symposium on Food Safety, 27-28 April.
- Gnanou-Besse, N. 2021. "El problema de la detección y la enumeración de recuentos bajos en alimentos: los ejemplos de *Listeria monocytogenes* y *Cronobacter* spp.) –." Oral XIX.2 WORKSHOP Metodos rapidos y automatizacion en microbiologia alimentaria Memorial DYCFung-Barcelona (Sp).

Trigueros, S., T. Brauge, S. Debuiche, V. Rebuffel, P. Marcoux, and G. Midelet. 2021. Poster 2021 IAFP European Symposium on Food Safety Schedule, On-line, 27 April 2021.

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

Félix, B., Y. Sévellec, F. Palma, Listdadapt study group, J-C. Leblanc, L. Guillier, and S. Roussel. 2021. "A European-wide dataset to decipher adaptation mechanisms of *Listeria monocytogenes* to diverse ecological niches." Scientific data

Rapport d'expertise : méthode de dénombrement pour *Listeria monocytogenes* aux faibles niveaux de contamination, septembre 2021 (contact : Gnanou-Besse, N.)

Rapport d'expertise : Bilan de la caractérisation des souches de *Listeria monocytogenes* isolées dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des aliments mis en place en 2020 en France métropolitaine, décembre 2021 (Contacts : Yvon, C., Barre, L.)