



Rapport annuel d'activité, année 2024

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
Sécurité sanitaire des aliments d'origine aquatique (SANAQUA)

Les faits marquants de l'année

- Maintien 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 Vénézuëla et de l'Equateur
- Renouvellement de l'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)
- Du 1er juillet au 8 septembre 2024, le LNR *Vibrio* dans les produits de la pêche s'est mobilisé en priorité pour analyser les échantillons susceptibles d'être prélevés pendant les JO/JOP 2024
- Le nombre d'analyses pour confirmer l'identification de souches suspectes de *Vibrio* spp et rechercher leurs facteurs de pathogénicité suite à des autocontrôles reste très élevé depuis 4 ans.

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

- Le LNR *Vibrio* dans les produits de la pêche a constitué un dossier de validation de méthode pour rechercher le gène codant pour l'hémolysine TDH de *Vibrio parahaemolyticus* en PCR en temps réel en vue de l'extension de son accréditation par le COFRAC.
- Le LNR a révisé la méthode PCR en point final pour confirmer la toxigénicité des souches de *Vibrio cholerae* : cette méthode cible désormais seulement le gène codant pour la sous-unité A de la toxine cholérique (ctxA). Pour cette révision, le LNR s'est appuyé sur l'expertise du CNR des vibrios et du choléra et sur des recommandations intégrées dans le rapport « Surveillance du choléra, Lignes directrices provisoires » (février 2023), rédigé par le groupe de travail sur la surveillance (épidémiologie et laboratoire) du Groupe spécial mondial de lutte contre le choléra.

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

1 méthode

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes

Le LNR a optimisé et validé une méthode de PCR en temps réel pour rechercher l'hémolysine TDH de *Vibrio parahaemolyticus*. Cette méthode est dérivée de l'annexe D de la norme NF EN ISO 21872-1 (2017). Le LNR réalise désormais les analyses officielles selon cette méthode, intégrée dans sa portée d'accréditation, très spécifique pour ce marqueur reconnu de la pathogénicité de *Vibrio parahaemolyticus*.

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

65 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

En 2024, le LNR a analysé 65 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). :

- 40 échantillons réceptionnés pour des contrôles officiels aux Postes de Contrôle aux Frontières (PCF) pour la détection de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae*
- 25 échantillons réceptionnés dans le cadre de l'alerte européenne pour des contrôles renforcés aux PCF pour la détection de *Vibrio cholerae*.

Le nombre d'analyses de première intention a diminué par rapport à l'année 2023 et les années précédentes. Les importations en provenance du Vénézuéla et de l'Equateur ont rarement été déchargées sur le sol français en 2024. D'autre part, dans l'Instruction Technique DGA1 2024-271 du 13/05/2024, les *Vibrio* ne font plus partie des analytes recherchés dans le cadre du plan de surveillance sur les produits alimentaires importés.

3.2 Analyses officielles de seconde intention

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

180 analyse(s)

Détail par type d'analyse de seconde intention

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 :

- 50 souches suspectes isolées de 5 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
- 80 souches suspectes isolées de 8 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) ont été effectués
- 50 souches suspectes isolées de 4 échantillons ont été analysées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio vulnificus*.

3.3 Autres analyses

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

576 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 2024, le LNR a reçu 576 souches pour être confirmées par PCR :

- 374 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* par PCR. 352 appartenaient bien à cette espèce. Le LNR a par ailleurs recherché parmi ces 352 souches les gènes codant pour les hémolysines TDH et TRH par PCR.
- 189 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio cholerae* par PCR. 124 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 124 souches.
- 13 souches ont été réceptionnées pour une confirmation d'identification à l'espèce *Vibrio vulnificus* par PCR. Aucune n'appartenait à cette espèce.

En 2024, le nombre d'analyses pour confirmer l'identification de souches et rechercher leurs facteurs de pathogénicité est resté stable par rapport à 2023 et les années précédentes.

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

- UE : Le LNR a participé à 2 EILA pour la détection des *Vibrio* spp pathogènes (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* ou *Vibrio vulnificus*) organisés par LGC Standards, Royaume-Uni et 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, CEN, ISO...).

- 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).

- Participation au GT « *Vibrio* spp » ISO/TC 34/SC 9/WG 27 pour la prise en compte des commentaires reçus dans le cadre de la revue systématique de l'ISO 21872-1 et 2 de 2017 : "Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la détermination de *Vibrio* spp." Partie 1 : Détection de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* ; Partie 2 : Dénombrement des *Vibrio* totaux et potentiellement entéropathogènes

Estimation du temps passé : 4 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

Le LNR a été sollicité la DGAI pour évaluer la compétence technique du LDA 76, en vue du maintien de son agrément temporaire pour prendre en charge une partie des analyses de première intention pour la recherche des espèces de *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 : 2 semaines

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

- Suite à la sollicitation des autorités espagnoles, le LNR a transmis la référence bibliographique des méthodes utilisées pour identifier les souches suspectes de *Vibrio cholerae* et rechercher les gènes codant pour la toxine cholérique, ainsi que pour réaliser leur sérotypage. La liste des souches de référence de *Vibrio cholerae* utilisées par le LNR leur a également été fournie.

- Le LNR a souvent été sollicité au cours de cette année par les entreprises de la filière « produits de la pêche » pour des renseignements concernant des moyens de maîtrise efficaces du risque *Vibrio*.

- Prise de contact avec des laboratoires intéressés et compétents pour prendre en charge les analyses de caractérisation de souches suspectes de *Vibrio* spp isolées dans le cadre des autocontrôles, par des méthodes de biologie moléculaire.

Temps consacré : 5 jours

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

Le LNR a organisé un essai bilatéral d'aptitude dans le but d'évaluer l'aptitude du LDA 76 à réaliser la recherche des *Vibrio* spp. et à rendre des résultats conformes à ceux attendus.

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
AquaAMR	Évaluation des facteurs d'exposition dans les environnements aquatiques pour la diffusion des antimicrobiens (AMR)	en cours
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 spp.</i> , <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

CNR 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 essai inter-laboratoires a été réalisé en 2024 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 par l'Anses d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE hors Anses 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 2024 dans le cadre du mandat de LNR *Vibrio spp.* dans les produits de la pêche

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

Conférence et webinaire

Copin, Stéphanie, et Thomas Brauge, 2024. « Prévalence des *Vibrio* spp entéropathogènes pour l'homme dans les produits de la pêche importés en France et antibiorésistance » Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2024, IFREMER, 21 novembre 2024, Nantes, France (France).