



Rapport annuel d'activité, année 2022

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 - site de Maisons-Alfort

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

Salmonella et Listeria

Les faits marquants de l'année

- Désignation du LNR comme fournisseur de données ("Data Provider User") pour déposer les données de séquençage des souches d'origine non humaine dans le dispositif européen « One Health WGS System », piloté par l'EFSA et l'ECDC et opérationnel depuis le 1er juillet 2022.
- 11 Janvier 2022: obtention de l'accréditation initiale selon la norme NF EN ISO/IEC 17043 pour l'organisation des EILA sur la détection des *Listeria monocytogenes*
- 25 août 2022: Publication d'un appel d'offre pour la sous-traitance d'EILA 2023-2025 sur les analyses de détection/dénombrement de *Listeria monocytogenes* (cet appel concerne également la détection de *Salmonella* et le dénombrement des staphylocoques)

Abréviations

cg-MLST : *core-genome Multi-Locus Sequence Typing*

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

Lm : *Listeria monocytogenes*

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

nd: non déterminé

PS/PC : Plan de surveillance/Plan de contrôle

WGS : Séquençage du génome entier

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Développement d'une méthode qPCR haut débit permettant d'identifier les sérogroupes de *Listeria monocytogenes* (accréditation N° 1-2246 du 29/04/2022, méthode non utilisée pour les analyses officielles)

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

0 méthode(s)

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

0 analyse(s)

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

47 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Séquençage des souches de *Lm* isolées des prélèvements officiels de PS/PC

3.3 Autres analyses

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

254 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- Sérotypage/typage moléculaire: 2
- Identification des complexes clonaux, méthode GenoListeria: 70
- WGS/cgMLST:107
- Détection/dénombrement 28
- Test de croissance: 94

Ces analyses couvrent des activités récurrentes liées à l'assurance qualité (habilitation, participation à des EILA), des projets de recherche, des activités de surveillance sur demande client et des études sur l'incertitude de mesure.

Tendance sur les 5 dernières années : augmentation des analyses, notamment par la méthode GenoListeria, à partir de 2021, qui est déployée pour les activités de surveillance et de recherche. Séquençage systématique depuis 2020 des souches isolées de PS/PC (démarrage : PS/PC 2019)

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

- National : EILA du BIPEA (détection/dénombrement de *Lm*; dénombrement de flore totale), de l'IFIP (pH, a_w), du LNR (autoparticipation : test de croissance)
- UE : EILA du LRUE (test de croissance), du GSC (détection/dénombrement de *Lm*; dénombrement de flore totale), du DTU (cg-MLST ; GenoListeria)

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

1 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)

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'AST de la Direction d'évaluation des risques, dans le cadre de la saisine 2022-SA-0137 adressée à l'Anses par la DGAL pour l'évaluation du Guide des bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP (GBPH) relatif à la transformation et au conditionnement du foie gras pasteurisé ou appertisé et du magret séché fumé dans le secteur industriel (expertise en cours).

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 ...).

- Expertise pour la Commission AFNOR V45C sur une méthode de dénombrement de *Lm* aux faibles niveaux de contamination dans la filière saumon et truite fumés
- 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* »
- 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 : 8 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

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Appui aux administrations :

- Appui à la DGAL et DGCCRF pour la programmation et la réalisation des plans de surveillance et des plans de contrôle 2022
- Appui à la DGAL et CNR pour investiguer des alertes nationales (2 clusters)

Autres appuis :

- Appui technique aux instituts techniques agro-industriels et aux laboratoires : mise en œuvre des méthodes de détection/dénombrement/caractérisation, 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
- Appui à la DGAL pour des travaux d'expertise internationaux (réflexion sur la révision des lignes directrices du Codex CAC/GL 61
- Appui au LRUE pour investiguer des cas groupés de listériose en Europe (1 cluster)
- Appui à des professionnels (1 consultation/EHPAD)

Temps passé : 18 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

Réalisation de test de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer

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

Non

Nombre de laboratoires participants

12 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

11 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

0 laboratoire(s)

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

1 laboratoire(s)

(**) Au sens de la norme 17043

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

1 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)

Non-conformité pour la maîtrise de l'inoculation de l'aliment et pour le calcul du potentiel de croissance

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

Audit prévu en 2023 du laboratoire par le LNR

Suivi de décisions sur l'agrément

En cours

Evolution du réseau dans le temps

Maintien des performances dans le temps

**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

2 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

1 atelier pour le réseau de laboratoires agréés (journée commune avec le LNR Staphylocoques à coagulase positive) : 60 participants

1 atelier pour le réseau laboratoires reconnus : 20 participants

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

1 session(s) de formation

Détail de ces activités, durée moyenne des sessions et nombre de participants par session

Formation à destination des laboratoires reconnus sur la conduite des tests de croissance relatifs à *Lm* dans les aliments : 3 j, nombre de participants = 6

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

(**) Au sens de la norme 17043

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)

Dans ce cadre

Pilotage ; Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de première intention ; 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)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

1 fiche(s)

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

Acronyme	Titre	Statut
OSCAR	Groupe de suivi des causes d'avortements chez les ruminants (plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale) : surveillance en appui à la recherche pour l'amélioration des connaissances sur la circulation de <i>L. monocytogenes</i> entre ruminants et environnement	en cours
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 <i>Lm</i>	en cours
LILIS	Thèse Diversité génomique et compétitivité de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les filières de valorisation agricole des effluents d'élevage	en cours
SILVERPROTECT	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 <i>Lm</i> en aquaculture	en cours
DORMANCE	Etude de l'état viable non cultivable (VNC) de <i>Lm</i> 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	terminé
RESASTOCK	Etude de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans le milieu marin, et impact en santé publique	terminé
OH-HARMONY-CAP	One Health Harmonisation of Protocols for the Detection of Foodborne Pathogens and AMR Determinants	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 *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

Partage des données de séquençage des souches isolées de PS/PC – identification de clusters génomiques. Au niveau national, les souches isolées d'un contexte d'alerte sont collectées et analysées par le CNR (et/ou le LNR lorsqu'il s'agit de souches isolées de PS/PC). Dans le cadre de la gestion des cas groupés de listériose au niveau européen, les données des séquences des

souches d'alerte isolées d'aliments au niveau national, obtenues par le CNR et/ou le LNR, sont déposées par le LNR (Data provider) dans le système One Health, sur demande de l'EFSA et avec l'accord de la DGAL.

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Etudes de la croissance de *Lm* selon leur caractérisation moléculaire (un article en cours de rédaction destiné à être soumis à *Food Microbiology* début 2023)

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

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

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 2022 dans le cadre du mandat de LNR *Listeria monocytogenes*

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

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

- Félix, B., Y. Sévellec, F. Palma, Listdadapt study group, J-C. Leblanc, L. Guillier, and S. Roussel. 2022. "A European-wide dataset to uncover adaptive traits of *Listeria monocytogenes* to diverse ecological niches." *Scientific data* 9:190. <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01278-6>.
- Oswaldi, V., S. Lüth, J. Dzierzon, D. Meemken, S. Schwarz, A. T. Feßler, B. Félix, and S. Langforth. 2022. "Distribution and Characteristics of *Listeria* spp. in Pigs and Pork Production Chains in Germany." *Microorganisms* 10 :3. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030512>.
- Palma, F., N. Radomski, A. Guérin, Y. Sévellec, B. Félix, A. Bridier, C. Soumet, S. Roussel, and L. Guillier. 2022. "Genomic elements located in the accessory repertoire drive the adaptation to biocides in *Listeria monocytogenes* strains from different ecological niches." *Food Microbiology* 106:103757. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103757>.
- Sévellec, Y., E. Ascencio, P.-E. Douarre, B. Félix, L. Gal, D. Garmyn, L. Guillier, P. Piveteau, and S. Roussel. 2022. "Investigation of fitness in soil does not support the relevance of ecotypes." *Frontiers in Microbiology* 13:917588. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.917588>
- Gnanou Besse, N. 2022. The problem of detection and enumeration at low numbers in food: the examples of *Listeria monocytogenes* and *Cronobacter* spp. *Técnicas de Laboratorio*, 468, 33-41.
- Denis M, C. Ziebal, E. Boscher, S. Picard, M. Perrot, M. Vila Nova, S. Roussel, A. Diara A, AM Pourcher. 2022. Occurrence and diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from two pig manure treatment plants. *Microbes and Environments* 37:4 <https://doi.org/10.1264/jsme2.me22019>

Communications internationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

- Bergis, H. 2022 "Methodological Considerations in the design of pathogen inoculation studies: Implications for validity and application of results". Oral IAFP Europe, Munich (A), 4 mai
- Brauge, T., G. Leleu, A. Colas, and G. Midelet. 2022. "Impact of Disinfectants Neutralizing Buffers Used for Sampling Methods on the Viability of *Listeria Monocytogenes* Cells in Monospecies Biofilm." Oral IAFP Europe, Munich (A), 4-6 mai
- Brauge, T., G. Leleu, B. Félix, K. Capitaine, and G. Midelet. 2022. "Population Genetic Structure of *Listeria Monocytogenes* Strains Isolated from Salmon and Trout Products and in Food Plants in France." Oral IAFP Europe, Munich (A), 4-6 mai
- Duqué, B., F. Gravey, T. Brauge, M. Lefevre, E. Sonnet, G. Leleu, S. Le Hello, C. Soumet, A. Bridie, G. Midelet, and A. Hanin. 2022. "Whole Genome Sequencing-Based Typing of *Listeria Monocytogenes* isolated from Seafood and Production Environments." Oral IAFP Europe, Munich (A), 4-6 mai
- Félix, B., et al. 2022. "*Listeria monocytogenes*: Identification by high-throughput real-time PCR of 30 Clonal Complexes prevalent circulating in food, animal, environment and human in Europe." Oral Food Micro 2022, Athens (GR), 28-31 août.
- Trigueros, S., T. Brauge, T. Dedole, S. Debuiche, V. Rebuffel, S. Morales, P.R. Marcoux, and G. Midelet. 2022. "Evaluation of Viability of Cells of *Listeria Innocua* with Raman Microspectroscopy after Incorporation of Heavy Water (D2O)." Poster IAFP Europe, Munich (A), 4-6 mai
- Trigueros, S., T. Dedole, T. Brauge, S. Debuiche, V. Rebuffel, S. Morales, P.R. Marcoux, and G. Midelet. 2022. "Impact of Environmental Stresses on the Viability State of *Listeria Monocytogenes* and *Listeria Innocua* analyzed By Raman Microspectroscopy, Molecular Biology and Microbiology Techniques." Poster IAFP Europe, Munich (A), 4-6 mai
- Trigueros, S., T. Dedole, T. Brauge, V. Rebuffel, S. Morales, P.R. Marcoux, and G. Midelet. 2022. "Detection of the Viable but Non-Culturable State (VBNC) of *Listeria Monocytogenes* and *Listeria Innocua* induced By Biocide Stress Using Raman Microspectroscopy." Oral IAFP Europe, Munich (A), 4-6 mai

Gnanou Besse, N., C.R.R. Souza, L. Guillier L., P. NG and H. Bergis. 2022. Relationship between MLST genetic diversity of *L. monocytogenes* and its growth under selective and non-selective conditions. 26th Conference on Food Microbiology, Brussels, 13-14 octobre

Souza, C.R.R., H. Bergis, P. NG and N. Gnanou Besse. Assessment of the relationship between MLST genetic diversity of *L. monocytogenes* and their growth under selective and non-selective conditions. IUMS 2022 (International Union of Microbiological Societies), Rotterdam, 20-22 juillet.

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

Danan, C. B. Félix, J.P. Amat, and F. Gauchard. 2022. "Note sur les rapports Efsa/ECDC 2019 et 2020 : Zoonoses, agents zoonotiques et toxi-infections alimentaires collectives en Europe " *Bull Epidemiol Santé Animale Alimentation* 96

Rapport d'expertise collective

Danan, C. A. Assere : Contribution au rapport European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and. 2022. "The European Union One Health 2021 Zoonoses Report." *EFSA Journal* 20 (12): 7666. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>.