Département Ressources Biologiques et Environnement
Unité Santé Génétique et Microbiologie des Mollusques
Auteurs : Garry Pascal et Le Guyader Soizick

Collaborateurs :
Desdouit Marion, Euller Gabriel, Gourmelon Michèle, Hervio-Heath Dominique, Hubert Françoise, Kaelin Gaëlle, Kergaravat Cédric, Le Mennec Cécile, Loiseau Véronique, Lozach Solen, Maillot Jessica, Ollivier Joanna, Parnaudeau Sylvain, Piquet Jean-Côme, Quenot Emmanuelle, Rocq Sophie, Schaeffer Julien, Serghine Joëlle, Sorée Marion, Strubbia Sofia, Vallade Emilie, Véron Antoine, Wacrenier Candice.

RAPPORT D'ACTIVITES 2019

Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie
Laboratoire National de Référence de Microbiologie des coquillages

Fiche documentaire

Titre du rapport : Rapport d'activités 2019 – Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie.	
Référence interne : RBE/SG2M/LSEM **Diffusion :** ☒ libre (internet) ☐ restreinte (intranet) – date de levée d'embargo : AAA/MM/JJ ☐ interdite (confidentielle) – date de levée de confidentialité : AAA/MM/JJ	**Date de publication :** 04/2020 **Version :** 1.0.0 **Référence de l'illustration de couverture** IFREMER/LSEM 2018 **Langue(s) :** Français
Résumé/ Abstract : Ce rapport présente une synthèse des actions, et travaux réalisés par le laboratoire Santé Environnement et Microbiologie pendant l'année 2019. Les divers projets de recherche sont résumés et les derniers développements ou résultats sont brièvement évoqués. Les actions en tant que Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages et les activités pour la coordination du réseau REMI sont également présentées.	
Mots-clés/ Key words : Microbiologie sanitaire, bactéries entériques, vibrions, virus entériques humains, norovirus, coquillage. Activité de référence, REMI.	
Comment citer ce document :	
Disponibilité des données de la recherche :	
DOI :	

Commanditaire du rapport :
Nom / référence du contrat : ☐ Rapport intermédiaire (réf. bibliographique : XXX) ☒ Rapport définitif (réf. interne **du rapport intermédiaire** : R.DEP/UNIT/LABO AN-NUM/ID ARCHIMER)

Projets dans lesquels ce rapport s'inscrit (programme européen, campagne, etc.) :	
Auteur(s) / adresse mail	**Affiliation / Direction / Service, laboratoire**
Garry Pascal, pascal.garry@ifremer.fr	RBE/SG2M/LSEM
Le Guyader Soizick, soizick.le.guyader@ifremer.fr	RBE/SG2M/LSEM
Encadrement(s) :	
Destinataire :	
Validé par :	

Table des matières

1. introduction 6
2. Rappel des objectifs 6
3. Moyens et effectifs 7
3.1 Personnels Ifremer : 7
3.2 Doctorants 8
3.3 Post-doctorants 8
3.4 Stagiaires 9
3.5 Apprentis en alternance 10
3.6 Accueil de chercheurs étrangers .....
3.7 Equipement .....
4. Actions liées aux missions de LNR 12
4.1 Démarche qualité 12
4.2 Coordination technique des laboratoires agréés 12
4.2.1 Organisation des essais d'aptitude pour les laboratoires agréés - Appui à la démarche d'accréditation des laboratoires 12
4.2.2 Expertises, avis, assistance technique 14
4.3 2ème Workshop organisé par le LRUE virus 14
4.4 Journée Santé Environnement et Microbiologie, 7 novembre 2019 17
4.5 Assistance à l'administration 17
4.6 Normalisation 18
4.7 Analyses officielles 18
4.8 Participation aux essais du LR-UE et PHE 18
4.9 Diffusion de l'information à l'administration et/ou aux laboratoires agréés 20
4.10 Etude européenne sur la prévalence des norovirus dans les huîtres 20
4.11 Développement /validation de méthode 21
4.11.1 Culture cellulaire et infectiosité virale 21
4.11.2 Développement NGS 22
5. Actions liées aux Projets de Recherche 24
5.1 Campyshell – Campylobacter dans les coquillages : sources de contamination et risque pour l'homme 24
5.2 Projet COMPARE 25

5.3 Goyave 27
5.4 Projet IQUINOR 28
5.5 BACTRAC 28
5.6 Projet Vivaldi 29
5.7 Projet ROME 30
5.8 Projet Moonstone 31
5.9 Projet Phobie 32
6. Coordination REMI 33
7. Conclusion et perspectives 2020 35
Production scientifique et technique 36
Expertise 48
Sigles / abréviations 50

1. introduction

Ce rapport présente une synthèse des actions, travaux menés par l'équipe, accompagnée par des stagiaires, doctorants, post doctorants qu'il est important de remercier pour leur contribution. Cette année 2019 a de nouveau été une année riche en résultats innovants, procurant à notre équipe une reconnaissance nationale et internationale. En effet la Microbiologie sanitaire, thème de recherche fédérant notre laboratoire, thématique à l'interface de la santé publique, de la qualité des eaux côtières et des coquillages, nous permet de développer nos activités sur le terrain ou sur une approche plus fondamentale. Les résultats obtenus nous permettent d'exercer notre activité de Laboratoire National de Référence, en apportant connaissance scientifique et expertise technique. La connaissance de la qualité microbiologique des zones littorales obtenu via le REMI contribue à notre approche intégrée de la compréhension des facteurs liés à la contamination des coquillages.

2. Rappel des objectifs

Le Laboratoire a pour mandat de :

- développer une recherche sur les microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme, connus ou émergents. A cette fin, des techniques de biologie moléculaire visant les principaux virus et bactéries entériques ainsi que les vibrions seront mises au point et validées;
- étudier les mécanismes de survie et de dissémination en milieu marin des micro-organismes présentant des risques pour la santé humaine et en particulier de rechercher des moyens analytiques pour évaluer leur pouvoir pathogène, qu'ils soient cultivables ou non ;
- effectuer des travaux de recherche sur des systèmes de prévention de la contamination des zones de production et des techniques de purification des coquillages et de les valider ;
- anticiper l'apparition de nouveaux agents pathogènes (veille bibliographique et épidémiologique).

Au titre de Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des coquillages, les missions et objectifs en 2019 étaient les suivants :

- coordonner des activités des laboratoires réalisant des analyses microbiologiques sur des coquillages dans le cadre des contrôles officiels exercés par la puissance publique,
- appuyer la puissance publique dans le suivi de réseaux de laboratoires agréés pour la recherche des norovirus, des *Salmonella* et le dénombrements des *E. coli* dans les coquillages,
- organiser des essais inter-laboratoires d'aptitude afin d'évaluer les performances des laboratoires agréés pour la réalisation d'analyses microbiologiques sur des coquillages (*E. coli*, *Salmonella* et norovirus),
- assister l'administration par l'expertise et l'appui scientifiques et techniques au plan national, européen (DG Sanco) ou international (OMS, FAO, Codex), notamment concernant les projets de réglementation ou de normalisation,
- réaliser à la demande de l'administration, des analyses bactériologiques et virologiques de contrôle officiel sur les échantillons de coquillages notamment lors des épisodes de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) liées à la consommation de coquillages, en relation avec Santé publique France et la DGAl (Sous-Direction de la Sécurité Sanitaire des Aliments), à la collecte et à la gestion des informations nationales et européennes liées à des alertes sanitaires,
- réaliser des analyses bactériologiques et virologiques sur des échantillons qui lui sont confiées directement par le ministère ou à sa demande dans des situations qui ont ou peuvent avoir des incidences sur la santé publique. Plus particulièrement en 2019 le laboratoire a anlysé des échantillons d'huîtres et moule dans le cadre d'un plan de surveillance « *Vibrio* enteropathogène »

3. Moyens et effectifs

Le Laboratoire est bilocalisé sur les Centres Ifremer de Nantes et de Brest.

Titre : Laboratoire de Microbiologie - LNR Ifremer		
Adresses	Rue de l'Ile d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 03	Z.I de la pointe du diable CS 10070 29280 Plouzané
Téléphone	(33) 2 40 37 40 52	(33) 2 98 22 44 18
Fax	(33) 2 40 37 40 27	(33) 2 98 22 45 94
Mail	Soizick.Le.Guyader@ifremer.fr	

3.1 Personnels Ifremer :

Personnel permanent (pendant la période)

Laboratoire de Santé, Environnement et Microbiologie

Responsable du laboratoire : LE GUYADER Soizick* (Nantes)

BREST		**NANTES**	
GOURMELON Michèle	C - 100%	DESDOUIT Marion	C – 100%
HERVIO HEATH Dominique**	C - 100%	GARRY Pascal	C - 100%
LOISEAU Véronique	T- 50%	HUBERT Françoise	C - 80%
LOZACH Solen	T - 80%	KAELIN Gaëlle	C - 100%
QUENOT Emmanuelle	T - 80%	KERGARAVAT Cédric	C - 100%
SERGHINE Joëlle	T - 80%	LE MENNEC Cécile	T - 100%
		MAILLOT Jessica	T – 80%
		OLLIVIER Joanna	C - 100%
		PARNAUDEAU Sylvain	T - 100%
		PIQUET Jean-Côme	C –100%
		ROCQ Sophie	C – 100%
		SCHAEFFER Julien	C - 100%
		VALLADE Emilie	T - 80%
		VERON Antoine	T - 100%
		WACRENIER Candice	T- 100%

* : responsable du laboratoire, ** : adjointe à la responsable du laboratoire sur Brest.

C: cadre, T : technicien

Personnels titulaires d'un contrat à durée déterminée

Nom - Prénom	Qualification	Date arrivée	Date départ	Type contrat	Site
BESNARD Alban	ingénieur	06/08/18	02/19	Etude EFSA	Nantes
BROCHARD Solène	Technicienne	09/07/18	30/08/19	Remplacement congé maternité Emilie Vallade	Nantes
DINTHEER Adeline	Technicienne	01/04/19	31/12/19	Etude exploratoire sur la prévalence des Vibrio dans les mollusques	Nantes

3.2 Doctorants

Nom - Prénom	Début de thèse	Date de soutenance	Sujets	Ecoles Doctorales d'inscription	Encadrements scientifiques
STRUBBIA Sofia	02/11/16	4/12/19	Norovirus et huître: infectiosité et approche génomique	ED Mer & Littoral, Université Nantes	S. Le Guyader
SOREE Marion	01/10/18		Mécanismes de virulence de *Vibrio parahaemolyticus*, bactérie potentiellement pathogène pour l'homme	ED Mer & Littoral, Université Bretagne Occidentale, Brest	D. Hervio Heath
EULLER Gabriel	01/10/19		Rôle des glycanes dans la sélection et de la persistance des virus entériques humains dans les huîtres et le milieu littoral	ED Mer & Littoral, Université Nantes	S. Le Guyader, M. Desdouits

3.3 Post-doctorants

Nom Prénom	Date début	Date fin	Sujet	Encadrement scientifique
NABI Nesrine	11/06/19	11/12/20	Les *Campylobacter* en environnement littoral : identification des sources et caractérisation	Michèle Gourmelon

3.4 Stagiaires

Nom - Prénom	Début du stage	Fin du stage	Sujet	Catégorie	Ecole	Encadrements scientifiques
Brefort Morgane	03/06/19	05/07/19	Etude sanitaire	BTS 1ere année, BTSA GPN (gestion protection de la nature)	LEGTPA Henri-Queuille Neuvic (19)	Jean-Côme Piquet
Pesme Calixte	04/11/19	08/11/19	Découverte du laboratoire	3ème	Collège externat des enfants Nantais	Pascal Garry
Cabasse Julie	20/05/19	14/06/19	Contamination microbienne de l'environnement littoral	1ère année d'étude d'ingénieur en option BCPST (Biologie Chimie Physique et Sciences de la Terre)	Sorbonne Université, Paris	Michèle Gourmelon
CHARIF Said Abdallah	04/01/18	29/06/18	Mécanismes de bioaccumulation des norovirus dans l'huître	Master 2 Nutrition Santé Aliment	Université de Nantes / Oniris	Marion Desdouits
DANTAN Luc	07/01/19	15/06/19	Détermination des sources de contamination fécale dans les eaux et coquillages : identification de nouveaux marqueurs par utilisation de données de séquençage haut débit	Master 2 Microbiologie Parcours Mécanismes Moléculaires Microbiens	Université de Caen	Michèle Gourmelon
EULLER Gabriel	07/01/19	05/07/19	Mécanismes cellulaires de bioaccumulation de norovirus par les huîtres	Master 2 Virologie Moléculaire et Médicale	Université Paris VIII Diderot	Marion Desdouits
HADJIEV Emilie	07/01/19	01/03/19	Etude de l'inhibition de la croissance de *Vibrio parahaemolyticus*	M1 Microbiologie Fondamentale et Appliquée	Université Bretagne occidentale, Brest	Dominique Hervio Heath / Solen Lozach

			par des bactéries lactiques			
FERRE Théo	08/04/19	14/06/19	Optimisation de la technique RT-PCR et typage des souches de norovirus	DUT Génie Biologique 2ème année	IUT Quimper	Joanna Ollivier
SIMONET Jérémy	25/02/19	23/08/19	Suivi des communautés microbiennes et dynamique temporelle de microorganismes d'intérêt dans deux écosystèmes côtiers – Projet Microplastiques	M2 Diplôme d'ingénieur	UBO ESIAB	Dominique Hervio-Heath / Raffaele Siano
Terceve Olivia	18/11/19	30/06/20	Etude de la stabilité des norovirus et acide nucléiques lors de la congélation	Licence 3 science de la vie	Université Sciences et Techniques Nantes	

3.5 Apprentis en alternance

Nom Prénom	Date début	Date fin	Sujet	Encadrement scientifique
Jousse Sarah	02/09/19	31/08/20	Approche métagénomique virale dans l'eau de mer.	Sylvain Parnaudeau

3.6 Accueil chercheurs étrangers

Début de l'accueil	Fin de l'accueil	Nom – Prénom	Nationalité	Organisme	Encadrements scientifiques
01/03/19	30/04/19	Patrice Bonny	Cameroun	Institut de Recherche Médicinale et d'étude des plantes, Centre de recherche en alimentation et nutritiion	S. Le Guyader

3.7 Equipement

Le LSEM a fait l'acquisition d'équipements classiques de microbiologie et biologie moléculaire en remplacement d'équipement obsolète ainsi qu'un système « gut-on-a-chip » utile pour le développement de la culture des norovirus permettant la caractérisation de leur infectiosité. Un deuxième investissement important pour le laboratoire est un système de filtration permettant de traiter des volumes importants d'eau, en vue d'analyses en métagénomique par exemple.

4. Actions liées aux missions de LNR

4.1 Démarche qualité

L'année 2019 a été marquée par la mise en place de nouvelles dispositions afin de répondre aux exigences de la version 2017 de la norme NF EN ISO/IEC 17025 « Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais ». Le LSEM a passé avec succès son évaluation de transition sur cette nouvelle version de la norme en février 2019, maintenant ainsi son accréditation par le Cofrac (Comité Français d'Accréditation) pour la réalisation d'essais sur les paramètres *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., norovirus et virus de l'hépatite A dans les mollusques bivalves (portée disponible sur www.cofrac.fr, n° accréditation 1-5451)

Plusieurs audits internes ont été organisés afin de s'assurer de la bonne application des procédures internes, dans le respect des dispositions normatives. Les conclusions de ces évaluations montraient la confiance des auditeurs dans le système de management du laboratoire et dans la qualité des résultats rendus.

Des évolutions vont de nouveau avoir lieu en 2020 au niveau du système de management de la qualité. Elles auront pour objectif d'intégrer le LSEM dans la démarche de centralisation des systèmes qualité des sept laboratoires accrédités à l'Ifremer.

Concernant les activités de recherche à Nantes et à Brest, il a été maintenu le suivi des équipements mis en place depuis plusieurs années (balances, pipettes, étuves). L'effort a été poursuivi dans ces activités en prenant en compte les exigences liées à la certification ISO 9001 de l'Ifremer.

4.2 Coordination technique des laboratoires agréés

4.2.1 Organisation des essais d'aptitude pour les laboratoires agréés - Appui à la démarche d'accréditation des laboratoires

Dans le cadre de la coordination des laboratoires agréés, le laboratoire a organisé, une campagne d'essais inter-laboratoires d'aptitude, pour les critères *E. coli* et *Salmonella*, norovirus le 02 avril 2019.
L'essai d'aptitude portant sur les deux paramètres réglementaires (*E. coli* et *Salmonella*), a eu lieu le 02 avril 2019 sur la matrice huître. L'envoi aux participants comportait cinq échantillons pour l'essai *E. coli* (contaminé à environ 4800 *E. coli*/100g de CLI) et deux échantillons pour l'essai *Salmonella* (un positif et un négatif). L'absence de *Salmonella* spp. dans l'échantillon négatif n'a pas pu être confirmée. Par conséquent, n'étant pas en mesure de garantir une homogénéité suffisante pour cet échantillon le LNR a décidé de ne pas traiter les résultats de l'essai pour cet échantillon. L'évaluation de l'aptitude des laboratoires a reposé uniquement sur les résultats obtenus pour le premier échantillon. Le nombre de participants est donné dans le Tableau 1 et les résultats obtenus par les laboratoires sont reportés dans le Tableau 2. Chacun des laboratoires peut utiliser une ou plusieurs méthodes pour chacune des bactéries cibles.

Tableau 1 : Bilan des participations aux essais d'aptitude *E. coli* et *Salmonella*

Escherichia coli	*Salmonella*
30 laboratoires (37 couples laboratoire/méthode)	25 laboratoires (44 couples laboratoire/méthode)

Tableau 2 : Résultats des participants (couples laboratoire/méthode) aux essais d'aptitude *E. coli* et *Salmonella*

Escherichia coli			*Salmonella*	
Satisfaisant	Discutable	Insatisfaisant	Satisfaisant	Insatisfaisant
84 % (31 couples)	13 % (5 couples)	3 % (1couple)	100% (44 couples)	

Des résultats non satisfaisants ou discutables pour le dénombrement des *E. coli* ont été obtenus avec la méthode NF EN ISO 16649-3 et sont dus à des problèmes de fidélité pour 3 laboratoires (2 discutables et 1 non satisfaisant) et 3 laboratoires pour des problèmes de justesse.
Le système d'évaluation des laboratoires pour *E. coli* a évolué, les participants étant évalué uniquement sur la justesse et la fidélité depuis 2 ans. Cependant les erreurs et incohérences sont notées sur le rapport, même si celles-ci n'ont pas d'impact sur l'évaluation du laboratoire. Le LNR a apporté son appui à ces laboratoires pour identifier les causes de ces non conformités et définir les actions correctives à mettre en place.
Pour l'essai inter-laboratoire pour la recherche des norovirus dans les coquillages, les 10 laboratoires participant à ont reçu trois échantillons d'huîtres creuses. Les résultats attendus sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Résultats attendus dans le cadre des EILs norovirus

Echantillon	Matrice	NoV GI	NoV GII
1	Huitres creuses	Génome viral Détecté dans 2g de tissus digestifs	Génome viral Détecté dans 2g de tissus digestifs
2	Huitres creuses	Génome viral Détecté dans 2g de tissus digestifs	Génome viral Détecté dans 2g de tissus digestifs
3	Huitres creuses	Génome viral Détecté dans 2g de tissus digestifs	Génome viral Détecté dans 2g de tissus digestifs

NoV : norovirus, GI (GII) : génogroupe I (II).

Neuf laboratoires ont présenté une performance satisfaisante pour cet essai d'aptitude et un laboratoire une performance non satisfaisante ce laboratoire (non agréé) n'ayant pas détecté le norovirus GII dans un des échantillons.

4.2.2 Expertises, avis, assistance technique

L'assistance technique a concerné essentiellement le suivi de la performance des laboratoires participant aux essais inter-laboratoires d'aptitude avec les deux méthodes de référence pour le dénombrement des *E. coli* (NF EN ISO 16649-3 – Technique du Nombre le Plus Probable (NPP) et NF V08-106 - Technique par impédancemétrie).
Le laboratoire a également apporté son assistance aux laboratoires dans l'application de la norme ISO 15216-2 pour la détection des norovirus et plus particulièrement sur des problèmes de rendement d'extraction.

4.3 2ème Workshop organisé par le LRUE virus

Le LSEM a participé au deuxième Workshop organisé par le LRUE virus (Uppsala, Suède) du 13 au 14 juin 2019. Le champs d'action de ce LRUE concerne tous type de virus pour l'ensemble des matrices alimentaires. Les discussions ont porté sur les épidémies dans les diférents pays. Plusieurs présentations ont également été faites sur le virus de l'hépatite E (Italie, Allemagne). Il a également été discuté de l'importance des techniques de métagénomique (NGS).

Le bilan des actions décidées au 1er Workshop a été fait (tableau 4) et les résolutions prise lors de ce deuxième workshop sont présentées dans le tableau 5.

Tableau 4 Bilan des actions décidée au 1er workshop

Action	Notes
Reference material with high level of norovirus	The EURL continuously collects norovirus-positive faecal samples. At present, there is a small collection but it will be extended to be able to distribute to NRLs. Distribution can be done on request but no guaranty. The collection will be available for official laboratories via the NRLs. Distribution will be carried out directly to official laboratories. Official laboratories will pay a fee for transport and other expenses.
Reference materials for HAV and HEV	On request, the EURL has the possibility to provide RT-qPCR quantified cell culture propagated HAV. Reference material for HEV is not available under current Commission remit.
Validation protocols for different matrices.	Included in the work programme for 2019 and 2020. The work will start in 2020.
PT distributions to official control laboratories.	The EURL has decided that this is possible from 2020. The priority is Member States that have problems with evaluation of national PT distributions due to poor statistics. The PT distributions of 2020 will be norovirus and HAV on leafy greens and norovirus and HAV in oysters. The fee will be decided in due time.
Request for reference material for all methods listed in the ISO method.	This is not in the EURL Work Programme 2019-2020. The EURL will investigate possibilities to include this in future Work Programmes. For verification or validation studies, material has to be produced in each NRL and OL.
Distribution of virus contaminated matrices for LOD and LOQ calculations.	The production of samples for such validations has to be done at each NRL.
How to calculate virus spike concentrations during validation? Concentration after extraction of spiked sample or concentration (amount of) spiked virus.	The EURL will produce a validation protocol during 2020, to support the accreditation process at the NRLs. The validation procedure will be discussed with the NRLs during the 3rd workshop in 2020.
Question about outbreak definition was raised.	Discussion about outbreak definitions is included in the agenda of the workshop in 2019.
Swabbing techniques turned out to be important in many outbreak investigations.	Presentations and discussions on this matter are included in the 2nd workshop 2019.
Monitoring of primer and probe sequences.	The Public Health Agency (PHA) of Sweden has an in-house developed software for continuous monitoring of sequence variations via GenBank. It was suggested that the EURL should buy the service from PHA and then distribute the reports to the NRLs. The EURL will negotiate an agreement with PHA, Sweden. The agreement, if possible, is not part of the EURL Work Programme 2019 and 2020.
An NRL NGS working group	A questionnaire has been sent out and results has been compiled **(Annex 3)**. Formation of such a group will be discussed at the 2nd workshop in 2019. Yearly physical meetings are included in the work programme.
Digital PCR should be added into the working program for 2019-2020	Included in the EURL Work Program for 2019 and 2020.

Tableau 5 : Résolutions prises lors du 2ème workshop

Action	Owner	Completed	Notes
1. The restricted website does not have a satisfactory security level. A more secure login system should be designed.	EURL		As soon a new login system is designed, this will be communicated to the NRLs.
2. For development of NGS techniques for viruses, it is important to collaborate with other EURLs working with viruses (e.g. animal viruses).	EURL		The EURL will investigate if there are other EURLs outside the EURL NGS working group that develop NGS techniques for viruses.
3. The NRLs noted the importance of method development and method harmonisation in the area of HEV. The workshop recommended the EURL to seek acceptance for these issues in the Work Programme for 2021 and onwards.	EURL		The EURL will approach the Commission and discuss the issue to seek an agreement on the inclusion of HEV method development and standardisation in the Work Program for 2021 and onwards.
4. The NRLs requested a list on the EURL website about available reference material (i.e. viruses), and the possibility of NRLs and other labs to order such material.	EURL		Most reference material goes to PT distributions. The EURL will try to intensify the collection of reference materials during 2020 and list available material on the restricted area of the website. Any aspects of import restrictions need to be managed by the NRLs. Distribution to laboratories other than NRLs should be managed as inquiries via the NRLs to the EURL.
5. It was suggested that resolutions should be an outcome of the NRL workshops.	EURL		The EURL will adopt such a procedure in the third workshop and onwards.
6. Monitoring of primer and probe sequences towards other databases than GenBank.	EURL		The Public Health Agency (PHA) of Sweden has an in-house developed software for continuous monitoring of sequence variations via GenBank. The EURL will investigate if the software can be used for monitoring other sequence databases such as HAVnet, HEVnet and NoroNet.
7. The workshop noted the need to specify viral agents and indicators for data collection on viral foodborne outbreaks.	EURL		As a basis for a workshop discussion, the EURL will invite ECDC to the workshop in 2020 to give a presentation on specifications of data collection of viral foodborne outbreaks.
8. The workshop suggested a future survey on norovirus prevalence in different food items to create a baseline that can be used for risk assessment.	EURL		The EURL will invite EFSA to the workshop in 2020 to give a presentation on the European baseline survey of norovirus in oysters and possible future risk assessment/management actions. We will discuss the relevance of future surveys in other food items.
9. Outbreak definitions were discussed and it was recommended to the NRLs to use EFSA's definitions on foodborne outbreaks.	EURL		DIRECTIVE 2003/99/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents defines foodborne outbreak. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003L0099&from=EN. EFSA describes the nature and strength of evidence in "Manual for reporting on food-borne outbreaks in accordance with Directive 2003/99/EC for information deriving from the year 2016" https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2016.EN-989 See **Annex 3** for important excerpts from the two publications.
10. To distribute a questionnaire about participation in an NRL working group on Next Generation Sequencing (NGS)	EURL		The questionnaire is to be sent out together with the minutes from this workshop.
11. To organise a physical meeting for the formed NGS group	EURL		The EURL has decided to combine the first NGS meeting with the workshop held in 2020.

4.4 Journée Santé Environnement et Microbiologie, 7 novembre 2019

La journée Santé Environnement et Microbiologie a été organisée sur le centre Ifremer de Nantes et a rassemblé 95 personnes, dont des représentants de l'administration centrale (DGAl et SPF), de l'administration locale (ARS, DDTM, DDPP, CIRE) des agences de l'eau, des professionnels (CRC) et des laboratoires agréés.
Les thèmes récurrents, bilan des activités du LNR et des essais d'aptitude, point sur la réglementation et la normalisation, ont été présentés. Un point sur la surveillance microbiologique des zones de production 5REMI) 2018 et les études de zone en cours et à venir a également été réalisé. Un point sur l'évolution de la réglementation a également été fait.

Le LSEM a présenté l'avancé de ses travaux sur l'Infectiosité des norovirus et la culture cellulaire.
L'après-midi une table ronde autour des résultats de l'étude européenne norovirus a été organisée, participaient à cette table ronde l' ANSES, la DGAl, le CNC, l'Agence de l'eau Loire Bretagne, Santé Publique France et l' Ifremer. Afin d'initier les échanges, différents exposés ont été réalisés :

- Politique d'intervention de l'AELB pour la qualité des zones conchylicoles (Agence de l'eau Loire Bretagne)
- Résultats de l'étude européenne norovirus (Ifremer)
- Appréciation Quantitative des Risques microbiologiques : principes et applications au cas norovirus (ANSES)
- Bilan des TIAC à norovirus liées à la consommation de coquillages (Santé Publique France)

4.5 Assistance à l'administration

En tant que Laboratoire National de Référence, le laboratoire a assisté à différentes réunions:

- le 14 mars copil de la surveillance dans les locaux de la DGAl,
- le 14 mars coordination des EILA, dans les locaux de l'Anses,
- le 22 mars réunion de programmation des plan de surveillance dans les locaux de la DGAl
- le 23 mai journée de la référence, dans les locaux de l'Anses,

Le LNR a été interrogé dans le cadre de l'audit mené par l'ANSES (méthode OASIS) sur les réseaux de surveillance (REMI, REPHY…) le 29 janvier.
Par ailleurs le laboratoire a participé en tant qu'expert EFSA au suivi de l'étude européenne sur la prévalence de norovirus dans les huîtres au niveau des zones de production et des centres d'expédition. Pour cela plusieurs réunions ont été organisées à l'EFSA (Parme, Italie). Le laboratoire a contribué à l'analyse des données et à la rédaction du rapport final.

4.6 Normalisation

Le laboratoire est membre de la Commission Afnor V08B et de ses groupes de travail (GT), ainsi que ceux du CEN :

- GT « Statistiques - Incertitudes de mesure » et GT « Validation » sur les questions statistiques relatives aux normes CEN et ISO et sur la révision de la norme EN ISO16140 validation des méthodes d'analyse ;
- GT « *Vibrio* » : pour préparer les propositions françaises concernant les normes ISO pour la recherche des *Vibrio spp*, potentiellement entéropathogènes ;
- CEN/TC 275 WG 6 TAG3 "Utilisation de la PCR en microbiologie" : projet de norme sur la recherche des *Vibrio parahemolyticus* totaux et potentiellement pathogènes dans les aliments (techniques de numération et de détection par hybridation ou par PCR temps réel) et d'une nouvelle norme ISO/TS 21872 Recherche des *Vibrio parahaemolyticus, Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* dans les aliments ;
- CEN/TC 275 WG 6 TAG4 "Les virus dans les aliments".

4.7 Analyses officielles

Toxi-infections alimentaires collectives

Depuis 2019 le LNR est destinataire, uniquement des restes de repas où les coquillages sont suspectés dans le cadre d'une TIAC. Le LNR a été destinataire de 9 échantillons d'huîtres (1 en janvier et 8 en décembre). Ces échantillons concernaient 6 TIAC. Ces échantillons étaient tous positifs en norovirus GI et GII.

Notifications RASFF
Aucune notification RASFF n'a conduit à des analyses.

Alerte sur les dysfonctionnements des structures d'assainissement d'eaux usées en période d'épidémie hivernale gastro-entérite aigüe (GEA)
Aucune alerte de dysfonctionnement sur un réseau d'eaux usées n'a conduit à des analyses microbiologiques.

4.8 Participation aux essais du LR-UE et PHE

Le LSEM a participé à différents essais inter-laboratoires européens au cours de l'année 2019. Ces essais sont organisés par le CEFAS, PHE (Public Health England) ou encore par le LRUE virus (Uppsala, Suède).

E. coli* et *Salmonella :
Pour le dénombrement des *E. coli* et la recherche des *Salmonella*, le laboratoire a participé à un essai sur lenticules organisés par le PHE et à un essai sur coquillages entiers organisé par le CEFAS. Les résultats sont présentés sur les Tableaux 6 et 7.

Tableau 6: Résultats obtenus par le LSEM à EIL organisé par le PHE, sur lenticules

	Méthode d'analyses	Performance
Dénombrement *E. coli*	ISO 116649-3	Satisfaisante
Recherche *Salmonella* spp.	NF EN 6579	Satisfaisante

Tableau 7 : Résultats obtenus par le LSEM aux EILs organisés par le CEFAS, sur coquillages

	Méthode d'analyses	Performance
Dénombrement *E. coli*	NF V 08-106	Satisfaisante
	ISO 16649-3	Satisfaisante
Recherche *Salmonella* spp.	NF EN 6579	Satisfaisante

Norovirus et VHA

Au cours de l'année 2019, le LSEM a participé à deux essais inter-laboratoire pour la recherche et la quantification des norovirus et du virus de l'hépatite A, organisé par le LRUE (Cefas), le premier Eil portait sur deux lenticules et le second sur trois échantillons de broyat de tissus digestifs.

Tableau 8 : Résultats obtenus à l'EIL organisé par le CEFAS/PHE

Distribution	Echantillon	Virus cible	Performance du laboratoire	
			Analyse qualitative	Analyse quantitative
Distribution n°1	Lenticule	NoV GI	Satisfaisante	Satisfaisante
		NoV GII	Satisfaisante	Satisfaisante
		VHA	Satisfaisante	Satisfaisante
	Lenticule	NoV GI	Satisfaisante	Satisfaisante
		NoV GII	Satisfaisante	Satisfaisante
		VHA	Satisfaisante	Satisfaisante
Distribution n°2	Broyat de tissus digestif	NoV GI	Performance non encore évaluée par le CEFAS	
		NoV GII		
		VHA		
	Broyat de tissus digestif	NoV GI		
		NoV GII		
		VHA		
	Broyat de tissus digestif	NoV GI		
		NoV GII		
		VHA		

Concernant les EILA *Vibrio* spp. organisés par le PHE, le laboratoire a participé à un essai comportant deux échantillons (lenticules) (Tableau 9).

Tableau 9 : Résultats des EILA Vibrio spp. organisés par PHE

Germe cible	Performance	
	Echantillon 1	Echantillon 2
Vibrio parahaemolyticus	Satisfaisante	Satisfaisante
Vibrio cholerae	Satisfaisante	Satisfaisante
Vibrio vulnificus	Satisfaisante	Satisfaisante

4.9 Diffusion de l'information à l'administration et/ou aux laboratoires agréés

Liste des documents diffusés :

- Rapport d'activités LNR 2018 et relevé des dépenses (Convention LNR – DGAl 2018)
- Rapports des essais d'aptitude *E. coli* et *Salmonella* sur des échantillons d'huîtres
- Rapport de l'essai d'aptitude norovirus sur des huîtres
- Compte rendu et résolutions du 2ème workshop des LNR virus
- Etude sur la prévalence de norovirus dans les huîtres : bilan

4.10 Etude européenne sur la prévalence des norovirus dans les huîtres

Cette étude, mise en place par la Commission européenne, a pour l'objectif d'estimer la prévalence des norovirus en Europe au niveau des zones de production et de centres d'expédition. En France les sites de prélèvement étaient repartis sur 74 zones de production (dont 10 zones de claires) et 167 centres d'expédition. Les résultats du projet montrent une faible prévalence des norovirus dans les huîtres en France, pour les zones de production 87% (659) d'échantillons ont été négatifs (contre 62% (1349) en Europe) et 94% (1694) échantillons prélevés au niveau de centres d'expédition (89% (1903) en Europe). La contamination a été mis en évidence pendant la période hivernale, de novembre à avril. Les zones de production classe A ont été moins contaminées que les zones classées B et la contamination a été observée 1 fois pour la plupart des cas. Six zones classe B étaient contaminées 4 à 5 fois durant l'étude. Dix-sept zones class A (56%) et 8 zones B (34%) n'ont pas été contaminées par les norovirus pendant la durée de l'étude. Les échantillons provenant de centres d'expéditions ont été moins contaminés que les échantillons prélevés dans les zones de production (effet de purification ?). Le niveau de contamination était faible, inférieure à 100 copies d'ARN/g de tissus digestifs (TD) pour 67% (144) d'échantillons positifs (données cumulées pour les norovirus de génogroupe I et II). Les données cumulées sur la prévalence et la concentration des norovirus sont présentés en Fig. 1.

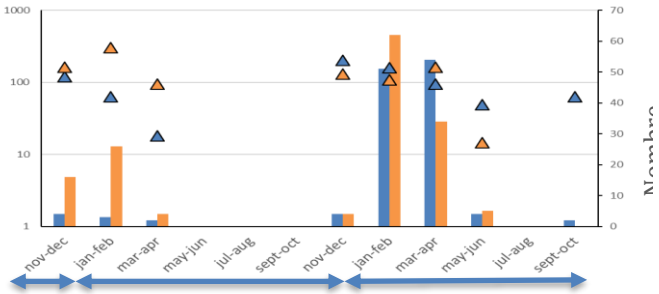

Figure 1 : Détection des norovirus dans les échantillons au cours des deux années de l'étude. Prévalence des norovirus: GI positif ; GII positif ; Concentration moyenne : GI ; GII

Les résultats de l'étude ont été publiés en juillet 2019 (Rapport EFSA « Analysis of the European baseline survey of norovirus in oysters » doi:10.2903/j.efsa.2019.5762).

Tableau 10: % d'échantillons Européens dépassant le seuil.

	Seuil de positivité (copies génome/ g de TD)						
	> 100	> 200	> 300	> 500	> 1000	> 5000	> 10000
Zones de production	66,21	17,15	11,92	8,71	5,5	1,19	0,18
Centre d'expédition	89,29	5,59	1,78	1,17	0,47	0	0

Tableau 11: % d'échantillons Français dépassant le seuil.

	Seuil de positivité (copies génome/ g de TD)						
	> 100	> 200	> 300	> 500	> 1000	> 5000	> 10000
Zones de production	100	9,06	1,76	1,18	0,47	0	0
Centre d'expédition	100	4,74	0,89	0,56	0,17	0	0

4.11 Développement /validation de méthode

4.11.1 Culture cellulaire et infectiosité virale

Le modèle de cellules souches intestinales humaines (entéroides) mis au point par nos collaborateurs de l'équipe de M. Estes (Baylor College, Houston, Texas), a été utilisé pour évaluer la persistance des norovirus GII.4 et GII.3 infectieux, en comparaison avec le virus Tulane, dans l'eau de mer à 12°C. Trois expériences de 35 jours ont été réalisées, une quatrième est en cours. Les deux premières montrent une grande stabilité des deux souches de norovirus, au niveau du génome et également du caractère infectieux qui persiste pendant 24 à 35 jours. Une autre expérience réalisée après la période hivernale a montré des résultats différents qui doivent être

répétés. Sur toutes ces expériences, le virus Tulane infectieux persiste moins longtemps (entre 7 et 21 jours). De plus, un modèle de culture alternatif est testé en collaboration avec N. Sauvonnet (Institut Pasteur, Paris), pour évaluer la capacité d'une lignée cellulaire, les Caco2, cultivées en puce microfluidique, à permettre la réplication du virus.

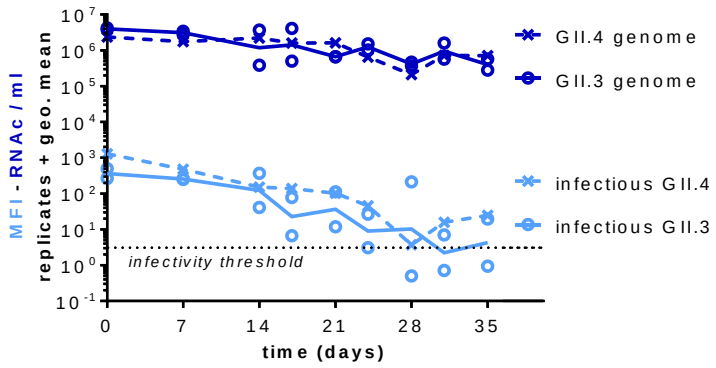

Figure 2 : Suivi de la concentration en génome viral (bleu foncé) et de l'infectiosité (bleu clair) de norovirus GII.4 (1 expérience, croix et ligne pointillée) et GII.3 (chaque point représenté par un cercle, la moyenne géométrique de 2 expériences par une ligne pleine), incubés pendant 35 jours à 12°C en eau de mer.

4.11.2 Développement NGS

L'utilisation conjointe du séquençage en courtes longueurs (Illumina, 2x150 pb) et en grandes longueurs (Oxford Nanopore MinIon, *long reads*) a permis d'obtenir la séquence complète du génome d'une souche de *Campylobacter armoricus* (souche CA 639), espèce nouvellement décrite (Boukerb et al., 2019). Elle comprend un chromosome circulaire de 1 688 169 pb et deux plasmides dénommés pCA639-1 et pCA639-2 de taille respectivement de 51 123 pb et 28 139 pb (Boukerb et al., 2020 ; Fig. 3).

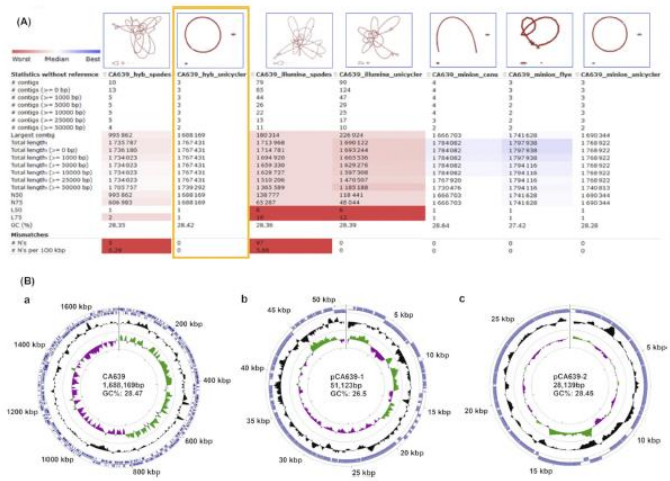

Figure 3 : Visualisation des graphiques d'assemblage et des statistiques pour chaque stratégie utilisée avec respectivement Bandage v.0.8.1 et Quast v.5.0.0. Hyb = assemblage hybride, illumina = assemblage des séquences de courte longueur. MinION = assemblage des séquences de grande longueur (Boukerb et al., 2020).

Le développement des méthodes NGS et en particulier de la métagénomique appliqué aux virus à ARN humains dans des échantillons de l'environnement a été conduit avec succès. Différents protocoles d'extraction ont été mis au point avec des étapes pour permettre l'élution des virus (sonication, pyrophosphate…) leurs concentrations (PEG) et l'élimination des autres microorganismes (Strubbia et al. 2019). Cependant une autre étape a nécessité des mises au point et des études bibliographiques, c'est la réalisation des librairies. En l'absence de zone commune à tous les virus (comme l'ARNm16S chez les bactéries) les librairies doivent être réalisées avec des amorces « random ». Une sélection de ces amorces visant à favoriser l'amplification des ARN d'intérêt au contraire de ceux des bactéries ou des huîtres a été réalisée et a donné des résultats encourageant (Strubbia et al. soumis). L'enrichissement des librairies en séquence virales par la technologie VirCapSeq (Roche) a permis d'obtenir plus de séquences virales et de meilleure qualité, permettant l'obtention de génome complet dans des échantillons naturellement contaminés. Pour finir, la réalisation d'un pipeline pour l'analyse de données issues du séquençage a dû être mis en place (figure 4).

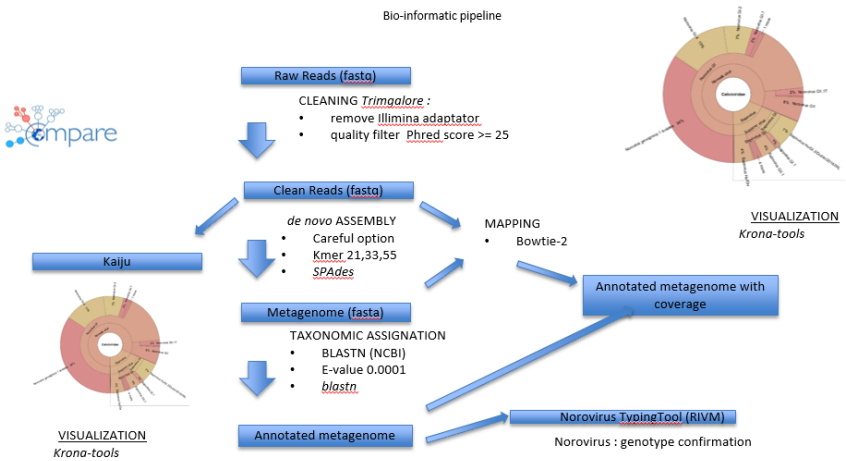

Figure 4 : pipeline bio-informatique pour l'analyse des données de séquençage des librairies de métagénomique a visée virus entériques humain.

Le développement des méthodes NGS au sein du LSEM a donc permis l'obtention du génome complet d'une souche nouvellement découverte, *Campylobacter armoricus* mais également la détection et la caractérisation de souche de virus entériques humain dans différents échantillons issus de l'environnement comme les rejets de station d 'épuration ou les huitres creuse.

5. Actions liées aux Projets de Recherche

5.1 Campyshell – Campylobacter dans les coquillages : sources de contamination et risque pour l'homme.

Dans le cadre de ce projet le séquençage des génomes d'une sélection de 150 souches du groupe *Campylobacter lari* et l'analyse de ces données de séquençage (Illumina) ont été réalisés. Les souches proviennent de fientes d'oiseaux sauvages collectées en bord de mer en Bretagne dans le cadre de ce projet (n= 43), d'eaux de rivières et de mer prélevées en Bretagne et Normandie (n =27) et de lots de coquillages collectés dans des zones conchylicoles en Bretagne et Normandie (n=80).
L'identité nucléotidique moyenne (ANI ; Average Nucleotide Identity) calculée pour ces souches montre qu'elles appartiennent pour quatre d'entre elles à la nouvelle espèce *Campylobacter armoricus* que nous avons récemment identifiée (Boukerb et al., 2019). Les autres souches appartiennent aux sous-espèces *C. lari* subsp. *lari* (37) et *C. lari* subsp. *concheus* (2) et aux *C. lari* UPTC (Urease-Positive Thermophylic Campylobacter ; 37). De plus, 70 souches, dénommées *Campylobacter spp*., ont présentés des ANI inférieures à 96 % avec C. lari UPTC comme bactérie la plus proche et non donc pas été associés à des espèces ou sous-espèces de *Campylobacter*. Des analyses plus approfondies sont actuellement en cours pour mieux décrire ces souches.
La comparaison de ces souches (MLST ; *Multilocus* sequence typing ; recherche de 7 loci de gènes de ménage) montre une grande diversité des souches avec un nombre important de Séquences-Types (ST ; 113 pour 150 souches) différents dont 65 nouveaux (non décrits dans la base PubMLST ; indiqués par une étoile*). Les ST les plus fréquemment retrouvés sont les ST-68 (4 isolats ; origine coquillages et eaux), ST-73 (5 isolats ; origine coquillages et fientes d'oiseaux), ST-77 (4 isolats ; origine coquillages et fientes d'oiseaux), et ST-*168 (5 isolats ; fientes d'oiseaux).
La comparaison par *cgMLST* (core genome MultiLocus Sequence Typing ; 753 gènes considérés) confirme la grande diversité des souches et la proximité de certaines souches (regroupées en clusters qui se différentient par moins de 5 allèles). Un total de 13 clusters a été ainsi identifiés. Les clusters 1 et 11 regroupent respectivement des isolats issus de coquillages et d'eaux de Bretagne et de Normandie, suggérant que des souches isolées de coquillages pourraient provenir des eaux de rivières en amont. Le cluster 8 regroupe des isolats issus de coquillages et d'oiseaux de Bretagne, suggérant une possible implication des fientes d'oiseaux comme sources d'apport de *Campylobacter* aux coquillages.
De plus, une étude d'évaluation de la cinétique de contamination et de décontamination de lots de coquillages en balnéation dans de l'eau de mer naturelle au contact de souches de *Campylobacter* spp. a été conduite au cours de cette année. Trois souches d'espèce de *Campylobacter* différente (*C. lari*, *C. jejuni* et *C. coli*), isolées d'eaux de rivière, ont été sélectionnées et apportées à des huîtres et/ou des moules (environ 40 huîtres/bac et 200 moules/bac contenant 30 l d'eau de mer).
Les concentrations initiales en *Campylobacter* spp. étaient d'environ 10^7 UFC (Unités Formant Colonies) par 100 ml d'eau. Les concentrations dans l'eau de mer restent stables sur les 5 premières heures et chutent rapidement après les changements d'eau de mer (remplacement par de l'eau naturelle dépourvue de *Campylobacter* spp. à T_{5h} et à T_{8h}) avec des concentrations de 1.10^4

à 5.10^4 UFC / 100 ml d'eau à T_{8h} (soit 3h après le premier changement d'eau) puis de 1.10^2 à 1.10^3 par 100 ml à T_{24h} (soit 16 h après le second changement d'eau). Les coquillages se contaminent très vite en *Campylobacter* spp. ; des concentrations de l'ordre d'1.10^7 NPP (Nombre le Plus Probable) / 100 g de CLI (Chaire et Liquide Intervalvaire) sont obtenues à T_{2h} et T_{5h} puis une diminution rapide des concentrations d'un facteur 100 à 1 000 à $T_{8\,h}$ (soit 3h après le premier changement d'eau) puis d'un facteur 10 à 100 supplémentaire à T_{24h} est observée.
Ces expérimentations montrent donc une contamination et une décontamination rapides de coquillages en balnéation par des souches de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* ou *C. lari*.

5.2 Projet COMPARE

Compare (COllaborative Management Platform for detection and Analyses of (Re-) emerging and foodborne outbreaks in Europe) est un projet H2020 financé par l'Union Européenne réunissant un consortium de 23 partenaires. Ce projet a pour ambition d'accélérer la détection et la prise de décision face aux épidémies chez l'homme et l'animal grâce à l'utilisation des nouvelles techniques de séquençage. Après 5 années, le projet H2020 s'achève.
Les objectifs du projet, consistaient à la mise en place d'une plateforme en ligne pour le traitement et l'analyse des données de séquençage haut débit dans l'optique de faciliter la prise de décision face à différent pathogènes (virus, bactéries ou parasites) dans différents domaines (médical, vétérinaire, agroalimentaire ou environnemental).
Pour la partie concernant les virus, la synthèse des protocoles d'extraction et de la démarche d'analyses bio-informatique à fait l'objet d'une soumission pour publication : « Metagenomic to evaluated norovirus diversity in oysters : impact on hexamer selection and targeted capture-base enrichment ». Ce travail confirme que la méthode d'extraction sélective appliquées sur les échantillons d'huître et d'eaux usées permet de décrire la diversité des virus présent dans l'échantillon. La méthode combine une élution au pyrophosphate de sodium (détergent ionique) et une précipitation avec du PEG (Polyéthylène glycol) ainsi qu'une filtration (jusqu'à 0,45µm) et un traitement avec des nucléases (Omnicleave élimine les ADN et ARN libres) pour sélectionner morphologiquement la faction virale avant l'extraction des acides nucléiques. Lors de la construction des librairies deux sous-sélection d'hexamer (In-house designed set et Endho's set) ont été testées pour limiter la synthèse des cDNA correspondant à l'huître. Cette stratégie prometteuse lors de la simulation informatique a confirmé son intérêt car, si les reads correspondant au génome de l'huître était toujours important, ils étaient diminués d'environ 10%. Par contre des contigs plus courts ont été obtenus pour les NoV, sans doute lié aux faibles nombre de séquences de NoV considérées pour la sélection de ces hexamers (cf figure 5). L'utilisation d'un capture-array (VirCap-Seq, Roche) dont l'intérêt a été démontré dans l'article (Strubbia et al. 2019) finalise la construction des librairies. La démarche décrite permet l'analyse d'huîtres bioaccumulées mais plusieurs pistes d'amélioration sont encore à tester comme : l'optimisation du design du capture-array ou encore l'optimisation du pipeline bio-informatique (filtrage des reads avant assemblage (au niveau protéique, couplage de plusieurs assembleur). La suite de ce projet se fera dans le cadre de VEO projet H2020 dont les objectifs rejoignent ceux amorcés dans COMPARE.

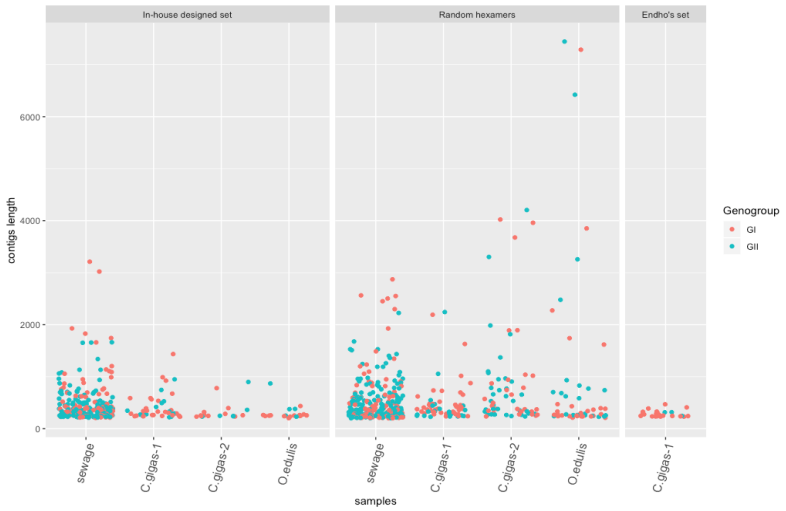

Figure 5 : Scatter plot montrant la longueur des contigs obtenus en utilisant trois designs d'hexamères. Le génogroupe GI et GII sont représentés respectivement en rouge et en bleu pour l'échantillon d'eaux usées et les trois lots d'huîtres bioaccumulées.

Pour la partie concernant les bactéries, les génomes d'une collection de 173 souches du groupe *Campylobacter lari* isolées en France, Allemagne, Danemark et en Australie de 2000 à 2019, ont été séquencés et comparés. Cette collection comprend 82 souches d'origine humaine, 48 souches d'origine animale (oiseaux sauvages, volaille, bovins et chiens), 12 souches d'origine alimentaire (viande de volaille) et 31 souches issues de l'environnement (eaux, coquillages et sédiments). Comme pour le porjet Campyshell la comparaison de ces souches a été faite par MLST et a montré une grande diversité des souches avec un nombre important de Sequences-Types différents (ST ; 97 pour 173 souches) dont 59 nouveaux (non décrits dans la base PubMLST). Les ST les plus fréquemment retrouvés sont les ST-21 (22 isolats ; origine humaine, animale et alimentaire), ST-24 (6 isolats ; origine humaine, animale et alimentaire) et ST-70 (15 isolats ; origine humaine et animale).
L'identité nucléotidique moyenne (ANI ; *Average Nucleotide Identity*) montre que les souches se répartissent principalement en trois sous-espèces : les *Campylobacter* UPTC (Urease-Positive Thermophylic *Campylobacter* ; 15 souches) comprenant principalement les souches de l'environnement, les *C. lari subsp. concheus* (15 souches) comprenant des souches animales, humaines et environnementales et les *C lari subsp lari* (110 souches) comprenant principalement des souches humaines, animales, alimentaires, et dans une moindre mesure, des souches issues de l'environnement (Fig. XX).
La comparaison par *cgMLST* (*core genome MultiLocus Sequence Typing* ; 750 gènes considérés) confirme la grande diversité des souches et la proximité de certaines souches (Figure 6).

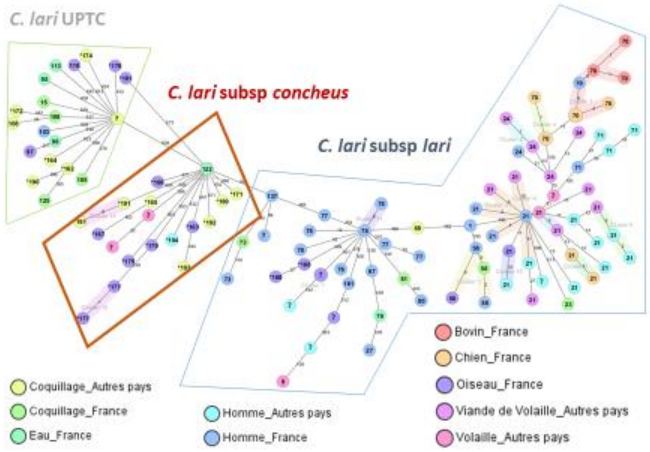

Figure 6: Diversité génétique des 173 souches du groupe *Campylobacter lari*. Minimum-spanning tree of core genome multilocus (cgMLST) généré sous SeqSphere+ basé sur la comparaison de 750 gènes. La distance allélique entre chaque cercle correspondant à une souche est indiquée. Le numéro de ST est noté dans chaque cercle.

5.3 Goyave

Une technique de dissociation des tissu digestifs d'huître *C. gigas* a été développée (stage master et premier mois de thèse Gabriel Euller) pour isoler les cellules tout en conservant leur viabilité. Cette méthode a permis d'identifier l'expression par une partie de ces cellules digestives isolées, de molécules proches des antigènes de groupe sanguin humain (HBGA) de type A qui constituent un des récepteurs d'attachement des norovirus et rotavirus.
Ces travaux seront poursuivis en collaboration avec les équipes de Yann Guérardel (CNRS, Villeuneuve d'Asq) et Jacques Le Pendu (INSERM, Nantes) dans le cadre du projet GOyAVE (Glycans and Oysters Attachment to enteric viruses in the coastal Environment) financé par l'ANR qui a débuté le 1er janvier 2020, et dont l'objectif est de de caractériser les glycanes présents dans l'environnement (huîtres, bactéries) et leur impact sur les norovirus- et rotavirus.

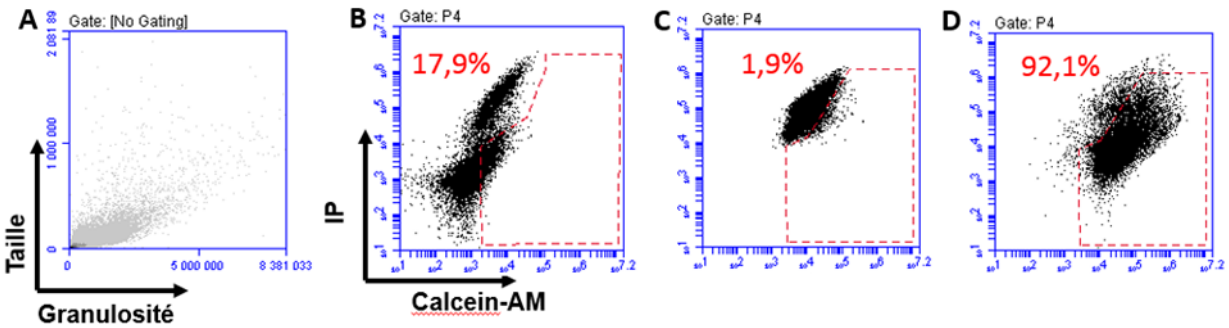

Figure 7: Cellules digestives de C. gigas isolées, observées par cytométrie en flux et marquées par la Calcein-AM et l'iodure de propidium (IP). A. Hétérogénéité de la taille et de la granulosité des cellules isolées. B. Cellules non marquées. C. Cellules isolées thermolysées à 60°C et marquées. D. Cellules isolées vivantes. La valeur en % pour C et D indique le pourcentage de cellules vivantes.

5.4 Projet IQUINOR

Ce projet, mené en collaboration avec l'université de Liège, est essentiellement basé sur l'approche mollusques bivalves, matrice alimentaire régulièrement impliquée dans les toxi-infections alimentaires collectives. Le norovirus murin est utilisé comme modèle avant validation avec les norovirus humains par nos collègues belges. Les travaux sur l'utilisation du PMAxx ont été poursuivi et ont montré en particulier la difficulté de son utilisation. En effet selon le modèle d'inactivation du virus (UV ou chaleur) les résultats sont différents et perdent leur corrélation avec la détection de virus infectieux.

5.5 BACTRAC

Bactéries fécales, traceurs des sources de contamination dans les eaux (2016-2019)
Les expériences menées au laboratoire pour évaluer la persistance des marqueurs qPCR bactériens et d'une sélection de génotypes de *E. coli* (typés par Eric-PCR ; autre approche d'identification des sources de contamination fécale retenue dans ce projet) dans des microcosmes d'eaux de mer (EM) et d'eaux douces (ED) ont été finalisées (acquisition des données de concentrations des marqueurs qPCR bactériens). Les microcosmes concernaient les marqueurs humains (apport d'eaux de station d'épuration), les marqueurs bovins (apport de bouses de vaches), les marqueurs Volaille (apport de fientes de volaille) et l'ensemble des marqueurs (apport à la fois d'effluent de station d'épuration, de bouses de vaches et de fientes de volaille).

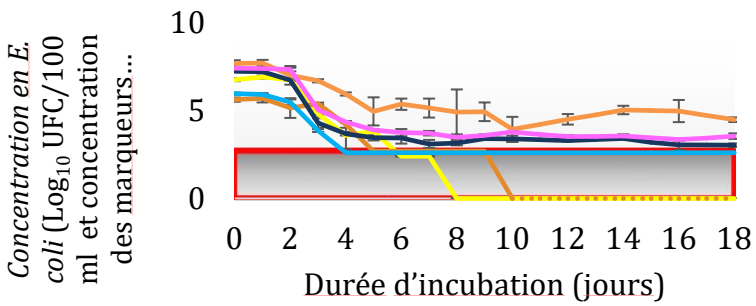

Figure 8 : Persistance de l'indicateur *E. coli* (culture ; en rose) et des marqueurs qPCR bactériens (HF183, marqueur humain, en jaune ; Rum2Bac, marqueur Bovin en noir ; marqueurs Aviaire General AV4143 en vert et GFD en bleu ; marqueur Volaille AV43 en marron) dans les microcosmes d'eau de mer contaminée (contamination mixte ; n=3). La zone grisée correspond aux valeurs < limite de quantification.

L'analyse des résultats acquis pour l'expérience concernant l'ensemble des marqueurs (contamination mixte ; présentation des résultats pour les microcosmes d'eau de mer sur la Figure 8) montre :

- Si on considère le T90 (temps nécessaire pour que 90 % des indicateurs ou des marqueurs ne soient plus dénombrés), des valeurs similaires sont obtenues dans l'eau de mer et des valeurs plus basses en eaux douces.

- Si on considère le Tf (temps final ; temps auquel l'indicateur ou le marqueur n'est plus dénombré), E. *coli* persiste pendant toute la durée de l'expérimentation (18 jours), à la fois dans l'EM et ED. Les marqueurs Aviaire général (AV4143) et Bovin (Rum2Bac) persistent pendant toute la durée de l'expérimentation, à la fois dans l'EM et ED. Les marqueurs Aviaire général (GFD), Volaille (AV43), et Humain (HF183) persistent moins longtemps, à la fois dans l'EM et l'ED (2-3 j pour le marqueur GFD ; 3-4 jours pour AV43 ; 5-6 jours pour HF183). Les marqueurs qPCR Aviaires (AV4143, GFD et AV43) présentent des profils de persistance différents (à la fois dans l'EM et l'ED ; Figure 8). Une possible explication serait les concentrations en marqueur AV4143 généralement plus élevées que celles des marqueurs GFD et AV43 dans les fientes de volaille françaises.

A la fin de ce projet, une boite à outils de 12 marqueurs qPCR bactériens ou ciblant les ADN mitochondriaux de l'Homme ou différentes sources animales dont les marqueurs développés et/ou sélectionnés par Ifremer, présentés ci-dessus, a été appliquée sur cinq sites d'études en Nouvelle Aquitaine (Pays Basque et Bassin d'Arcachon). L'utilisation de cette boite à outils a permis de montrer que les contaminations des eaux étaient souvent multi-sources et que des sources de contamination différentes étaient présentes selon les sites étudiés.
Les résultats acquis au cours de ce projet ont été présentés aux acteurs locaux et financeurs du projet lors de la journée de restitution finale des résultats le 10 décembre à Urrugne (64).

5.6 Projet Vivaldi

Coordonné par l'Ifremer, VIVALDI est un projet européen qui rassemble 21 partenaires publics et privés de 10 pays, représentant la diversité du paysage de la conchyliculture Européenne. Le projet porte sur différentes espèces de mollusques marins exploitées en Europe. Le laboratoire intervient dans le cadre du WP 1 et 5 de ce projet.
Les capteurs passifs, constitués de différents types de membranes, ont pour objectif de faciliter l'échantillonnage de microorganismes pathogènes dans le milieu aquatique. Dans le cadre du WP1 et du WP5 du projet H2020 VIVALDI, l'analyse des échantillons de capteurs passifs issus de la deuxième validation terrain (2017-2018) a été réalisée en 2019. Les résultats montrent l'intérêt de ces échantillonneurs passifs pour détecter par PCR divers microorganismes tels que les virus OsHV-1 et le norovirus (NoV), les bactéries du genre *Vibrio* et le marqueur bactérien de contamination fécale (AllBac, marqueur *Bacteroidales* général) dans l'eau de mer en zone ostréicole. Le type de membrane et la durée d'exposition peuvent influencer la détection de certains agents pathogènes. Une dynamique saisonnière est observée pour NoV (Fig.xx), détecté et quantifié en automne/hiver, et pour le virus OsHV-1, détecté au printemps/été, ce qui correspond respectivement à la période d'excrétion du norovirus en période de gastroentérite dans la population humaine et à la période de mortalité des huîtres. Les bactéries *Vibrio* spp. et le marqueur AllBac de contamination fécale ont été détectés et quantifiés pendant toute l'année.
Les perspectives d'applications sont diverses allant du suivi de la contamination microbiologique à l'analyse de la diversité des microorganismes par métagénomique.

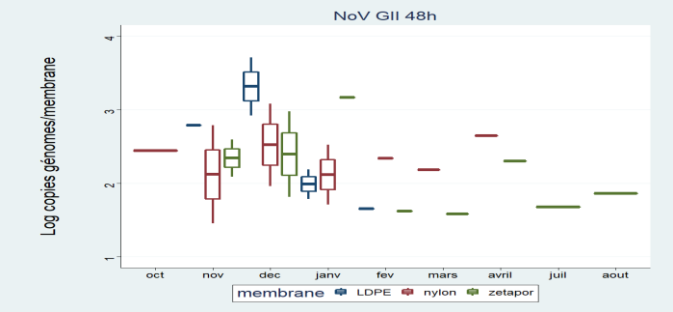

Figure 9 : Concentration de norovirus GII (NoV GII) sur les membranes exposées 48h en milieu marin (octobre 2017 à août 2018)

Huîtres résistantes à OsHV-1: Les huîtres sélectionnées à l'IFREMER dans le cadre du WP3 pour leur résistance au virus OsHV-1 pourraient également avoir une meilleure capacité à éliminer d'autres types de virus. Cette hypothèse a été testée lors d'une première série d'expériences sur des huîtres contaminées pendant 24h par les NoV GI et NoV GII. Les premiers résultats tendent à montrer que les huîtres résistantes à OsHV-1 accumulent des concentrations plus faibles de NoV GI et NoV GII.

Dans cette étude, nous voulions déterminer si les huîtres sélectionnées pour leur résistance et/ou leur sensibilité à *V. aestuarianus* et/ou OsHV-1 étaient plus susceptibles à l'accumulation d'un agent pathogène humain (*Vibrio parahaemolyticus*) et en conséquence si elles étaient plus à risque pour la santé humaine que les familles produites à partir d'huîtres sauvages. Les premiers résultats ne montrent aucune différence significative dans l'accumulation d'une souche GFP *V. parahaemolyticus* entre les quatre familles d'huîtres sélectionnées et les familles produites à partir d'huîtres sauvages.

5.7 Projet ROME

Le projet ROME (Réseau d'Observatoires pour la recherche en Microbiologie Environnementale intégrée) a pour objectif de développer une observation intégrée et pluridisciplinaire du milieu marin avec notamment l'application de sciences « -omiques » et l'utilisation de l'ADN environnemental comme nouvelle variable biologique d'analyse. Ces méthodes de séquençage massif des ADN et ARN présent dans des échantillons sélectionnés permettent de détecter et d'identifier les populations de microorganismes naturellement présents dans l'environnement tels que les communautés phytoplanctoniques, ou bien les bactéries marines (*Vibrio* par ex) mais également les microorganismes issus de contaminations humaines (les virus entériques), de contaminations animales ou pathogène pour les coquillages (parasites). Ce nouveau réseau d'observation présente des perspectives innovantes en termes de connaissances scientifiques, mais également en termes d'appui aux politiques publiques. Ce projet transversal à l'Ifremer, le LSEM est fortement impliqué :

- Participation au conseil scientifique, initiateur et pilote du projet
- Comité de coordination
- Sélection des zones et des points d'échantillonnage
- Réception, dissection et extraction des acides nucléiques issus des huîtres creuses
- Extraction des acides nucléiques à partir des filtres
- Réalisations des filtrations spécifiques sur les eaux pour la recherche des virus entériques
- Réalisations des librairies pour l'analyse métagénomique, ciblés sur les virus
- Enregistrement, stockage et conservation des échantillons et extrait

Le projet débute en juin 2020, cependant des phases de mise au point de protocoles et de test ont été réalisées en 2019 et début 2020, avec des prélèvements sur 2 zones impliquées dans ROME

Sites d'échantillonnage du réseau ROME dans sa première phase de son déploiement

5.8 Projet Moonstone

Les objectifs principaux de cette étude, réalisée en collaboration avec Erasmus Medical Center (Rotterdam, Pays-Bas), Cefas (Weymouth, Royaume-Uni) et DTU (Copenhague, Danemark) et financée par EFSA, sont les suivants :

- Optimiser, caractériser et valider trois approches de séquençage: metagénomique (Illumina et MinIon) et en utilisant une puce d'enrichissement lors de la préparation de la librairie (VirCapSeq) afin de déterminer leurs capacités à caractériser la diversité génétique des norovirus dans les huîtres ;

- Appliquer l'approche de métagénomique ciblée (metabarcoding) validée sur une sélection d'échantillons prélevés lors de l'étude européenne sur la prévalence des norovirus afin d'estimer la diversité génétique des norovirus contaminant les huîtres en Europe ;

- Appliquer l'approche metagénomique sur une sélection d'échantillons impliqués dans des épidémies de gastroentérite liées à la consommation de coquillages (analyse des couples huîtres impliquées / selles des malades) afin d'évaluer comment cette approche peut être utilisée en tant qu'outil d'identification des sources et des voies de transmission des norovirus.

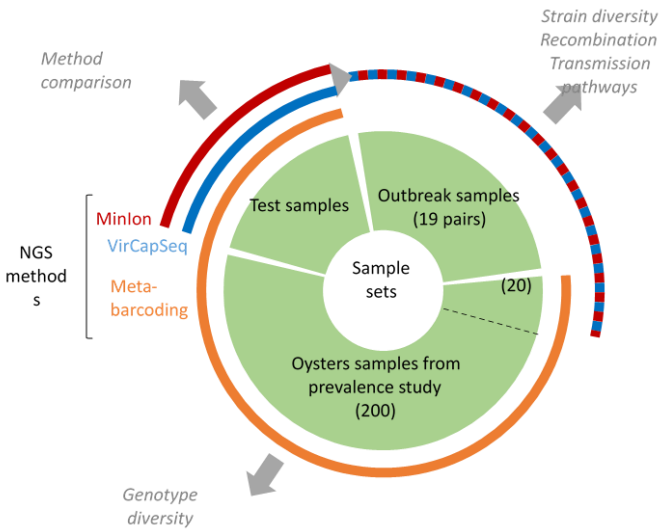

Figure 10 : Application des méthodes NGS (orange – metabarcoding Illumina ; bleu – VirCapSeq, Illumina et orange – metabarcoding MinIon) sur les différents types d'échantillons (sur le fond vert). En gris – résultats attendus

5.9 Projet Phobie

Les principaux objectifs de ce projet sont : 1) de rechercher la présence de bactéries (*E. coli* et *Campylobacter* spp.) et de virus dans les fèces des deux principales espèces de phoques (phoque veau marin ; *Phoca vitulina* et phoque gris : *Halicheorus grypus*), présentes à Saint-Pierre et Miquelon (SPM) qui pourraient avoir un impact sur les activités humaines tels la conchyliculture, la baignade et la pêche récréative, 2) de mieux connaitre les communautés microbiennes présentes dans ces fèces, 3) et si possible de développer un marqueur spécifique des phoques.
La première année a consisté à mettre en place les collaborations pour la collecte de fèces de phoque sur SPM, plus précisément sur les bancs du Grand Barachois : la DTAM (Direction des Territoires, de l'Alimentation et de la Mer), l'Université de la Rochelle, l'OFB (Office National de la Biodiversité) et les actions nécessaires pour la réalisation des analyses bactériologiques à SPM (expédition des consommables et matériels pour les analyses sur SPM et formation des personnes sur place aux protocoles de recherche des bactéries (tout particulièrement les *Campylobacter* spp.).
Les premiers résultats sur les fèces collectés cette année montrent une contamination variable en *E. coli* de 1.10^3 à $2,2\ 10^7$ *E. coli* par gramme de fèces. Il n'a pas été isolé de *Campylobacter* spp. sur ces premiers échantillons. Les analyses sur les communautés microbiennes sont actuellement en cours.

6. Coordination REMI

L'Ifremer apporte un appui scientifique et technique à l'Etat pour la mise en œuvre du REMI (Réseau de surveillance microbiologique des zones de production de coquillages), à travers une mission d'assistance à maîtrise d'ouvrage (AMOA) (depuis 2018). L'appui fourni par l'Ifremer comprend notamment le suivi d'indicateurs (taux de réalisation, respect des délais et de la localisation des points de prélèvement) qui contribuent au bon déroulement des opérations à la fois à l'échelle nationale mais aussi pour chaque département. En 2019, 413 lieux de prélèvement ont été prélevés régulièrement, représentant 4 414 résultats obtenus à la fois dans le cadre d'une surveillance programmée et d'une surveillance évènementielle en cas de risque de contamination ou de contamination avérée. Comparativement à 2018, le nombre de résultats obtenus est en baisse de 4% (principalement liée à une diminution de la surveillance évènementielle). 25 rapports ont permis de mettre à disposition des services de l'Etat les éléments nécessaires à la gestion du risque sanitaire microbiologique des zones de production de coquillages. Le traitement des données à l'échelle nationale indique une bonne qualité microbiologique (A) pour 22% des 324 zones de production pour lesquelles la qualité peut être estimée sur la période 2017 à 2019, 72% sont de qualité moyenne (B), et 6 % sont de mauvaise ou très mauvaise qualité[TMQ] (C ou au-delà).

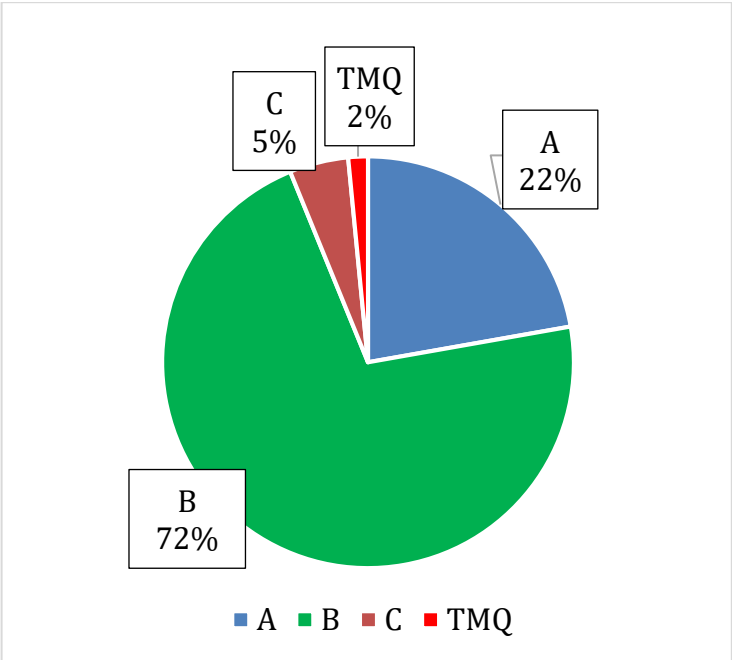

Figure 11 : Qualité microbiologique (A, B, C ou Très mauvaise qualité) des zones de production de coquillages suivies par le REMI, dont la qualité peut être estimée sur la période 2017-2019

L'analyse des tendances sur la période 2010-2019 (10 ans) indique une amélioration de la qualité bactériologique sur 81 lieux de prélèvement, une dégradation sur 12 lieux et l'absence de tendance significative sur les autres lieux.

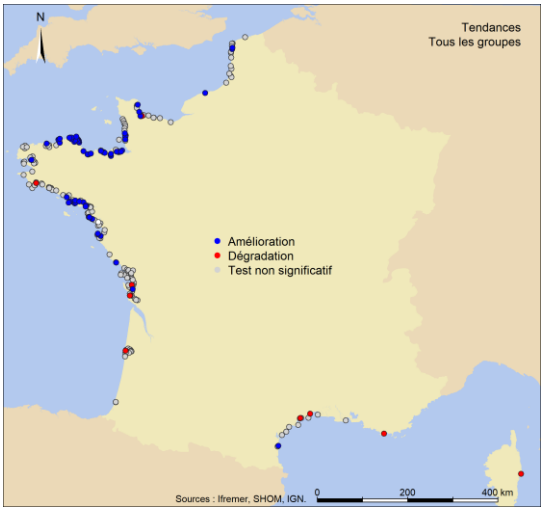

Figure 22 : tendances des niveaux de contamination sur les lieux REMI, période 2010-2019

Contribuant à l'optimisation de la stratégie d'échantillonnage pour évaluer la contamination des zones littorales, le LSEM a coordonné 5 études sanitaires qui ont été finalisées en 2019 : deux en Ille et Vilaine (secteur de la Rance) et trois dans les Côtes d'Armor (secteur de la baie de Paimpol). Seize autres études sont en cours et aboutiront en 2020 : une dans le Pas-de-Calais (baie de Wissant), une en Vendée (les Sableaux), trois dans le Calvados (Cabourg, pointe du Siège et secteur d'Auberville-Villers sur Mer), une en Loire-Atlantique (estuaire de la Loire), deux dans le Morbihan (zone du large), deux dans le Finistère (rivière de la Laïta), une en Seine-Maritime (entre Quiberville et Saint Aubin sur Mer) et cinq dans la Manche (secteur de Gouville-Blainville, Utah-Beach et baie du Mont Saint Michel).
L'année 2019 a également été marquée par la réalisation de l'étude "Développement d'un outil statistique d'aide à la définition de seuils d'alerte pluviométrique dans le cadre du REMI". Dans une perspective d'optimisation du dispositif REMI, cette étude avait pour objectif de développer un outil statistique, basé sur une approche bayésienne, permettant de déterminer : (i) quels sont les lieux de surveillance REMI pour lesquels la contamination est sensible à la pluviométrie ; (ii) sur ces lieux sensibles, quelles seraient les probabilités d'une contamination supérieure aux seuils microbiologiques en fonction du seuil de pluviométrie choisi pour le lieu ; (iii) l'impact sur l'effort de surveillance en fonction du seuil de pluviométrie. Sur les 397 lieux REMI étudiés, 256 ont des niveaux de contamination qui augmentent avec la pluviométrie.

Le réseau REMI a par ailleurs été évalué au cours de l'année 2019 par l'ANSES en utilisant la méthode OASIS. Cette évaluation doit permettre d'évaluer l'efficacité du dispositif et de recommander des évolutions. Les résultats de l'évaluation sont attendus en 2020.

7. Conclusion et perspectives 2020

Comme montré dans ce rapport, l'activité de notre équipe a été intense et fructueuse au cours de l'année 2019. Les projets de recherche ont permis le développement de méthodes innovantes et nos résultats ont été valorisés par des publications. L'année 2019 a été une année particulièrement riche par divers aspects comme la finalisation de l'étude EFSA qui a nécessité une forte implication de l'équipe, la soutenance d'une thèse au mois de décembre, le bon déroulement de l'AMOA pour l'activité de surveillance et événement important à souligner la caractérisation d'une nouvelle souche de *Campylobacter*. Cette diversité d'action montre le dynamisme de l'équipe.

L'année 2019 a été également fructueuse par la construction du projet ROME, projet de l'institut dans lequel l'équipe s'est pleinement investie, la mise en place du projet Moonstone, l'obtention du projet ANR GOyAVE et projet européen VEO (Versatile Emerging infectious disease Observatory) basé sur les résultats du projet H2020 COMPARE.

L'année 2019 s'achève également sur une perspective de ré-organisation du laboratoire à la demande de la Direction Générale de l'Ifremer qui ne souhaite plus d'équipe bi-localisée. Cette ré-organisation, qui a un impact majoritairement sur l'activité scientifique de nos collègues Brestoises est en construction et se fera de façon progressive.

ANNEXES

Production scientifique et technique

Articles (7)

Boukerb Amine M., Penny Christian, Serghine Joelle, Walczak Cécile, Cauchie Henry-Michel, Miller William G., Losch Serge, Ragimbeau Catherine, Mossong Joël, Mégraud Francis, Lehours Philippe, Bénéjat Lucie, Gourmelon Michele (2019). ***Campylobacter armoricus* sp. nov., a novel member of the *Campylobacter lari* group isolated from surface water and stools from humans with enteric infection**. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 69(12), 3969-3979. Publisher's official version : https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003836 , Open Access version : https://archimer.ifremer.fr/doc/00591/70346/

Hartnell R. E., Stockley L., Keay W., Rosec J. -P., Hervio-Heath D., Van Den Berg H., Leoni F., Ottaviani D., Henigman U., Denayer S., Serbruyns B., Georgsson F., Krumova-Valcheva G., Gyurova E., Blanco C., Copin S., Strauch E., Wieczorek K., Lopatek M., Britova A., Hardouin G., Lombard B., Veld P. In'T, Leclercq A., Baker-Austin C. (2019). **A pan-European ring trial to validate an International Standard for detection of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in seafoods** . International Journal Of Food Microbiology, 288, 58-65 . Publisher's official version : https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.008 , Open Access version : https://archimer.ifremer.fr/doc/00425/53680/

Le Guyader Soizick, Garry Pascal, Ollivier Joanna, Piquet Jean-Come (2019). **Microbiologie et coquillages : des enjeux et des développements futurs / Microbiology and shellfish : issues and future developments**. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de france*, (172), 6pp.Publisher's official version : https://doi.org/10.4267/2042/70602 , Open Access version : https://archimer.ifremer.fr/doc/00599/71141/

Le Guyader F.S., Garry P., Piquet J-C. Enjeux sanitaires **: l'exemple de la conchyliculture.** *Etudes Marines : Nourrir*, 2019, N°15- Janvier.

Lowther J. A., Bosch A., Butot S., Ollivier Joanna, Maede D., Rutjes S. A., Hardouin G., Lombard B., In'T Veld P., Leclercq A. (2019). **Validation of EN ISO method 15216-Part 1-Quantification of hepatitis A virus and norovirus in food matrices**. *International Journal Of Food Microbiology*, 288, 82-90. Publisher's official version : https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.014 , Open Access version : https://archimer.ifremer.fr/doc/00476/58776/

Passerini Delphine, Fecamp Florian, Marchand Laetitia, Kolypczuk Laetitia, Bonnetot Sandrine, Sinquin Corinne, Verrez-Bagnis Veronique, Hervio Heath Dominique, Colliec Jouault Sylvia, Delbarre Ladrat Christine (2019). **Characterization of biofilm extracts from two marine bacteria**. *Applied Sciences-basel*, 9(22), 4971 (20p.). Publisher's official version : https://doi.org/10.3390/app9224971 , Open Access version :

https://archimer.ifremer.fr/doc/00592/70381/

Strubbia Sofia, Phan My V. T., Schaeffer Julien, Koopmans Marion, Cotten Matthew, Le Guyader Soizick (2019). **Characterization of Norovirus and Other Human Enteric Viruses in Sewage and Stool Samples Through Next-Generation Sequencing**. *Food And Environmental Virology*, 11(4), 400-409. Publisher's official version : https://doi.org/10.1007/s12560-019-09402-3 , Open Access version : https://archimer.ifremer.fr/doc/00512/62332/

Strubbia Sofia, Schaeffer Julien, Oude Munnink Bas B., Besnard Alban, Phan My V. T., Nieuwenhuijse David F., De Graaf Miranda, Schapendonk Claudia M. E., Wacrenier Candice, Cotten Matthew, Koopmans Marion P. G., Le Guyader Soizick (2019). **Metavirome Sequencing to Evaluate Norovirus Diversity in Sewage and Related Bioaccumulated Oysters**. *Frontiers In Microbiology*, 10(2394), 13p.Publisher's official version : https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02394 , Open Access version : https://archimer.ifremer.fr/doc/00586/69765/

Rapports (13)

Garcia Celine, Canier Lydie, Arzul Isabelle, Hubert Francoise, Travers Marie-Agnes, Moussa Pouly Mirna, Chollet Bruno, Serpin Delphine, Noyer Mathilde, Lupo Coralie (2019). **Synthèse de la journée des laboratoire agréés et reconnus**.

Hervio Heath Dominique, Lozach Solen, Garry Pascal, Valla Claire, Veron Antoine, Copin Stéphanie, Revoux Nina, Fenart Evelyne (2019). **Développement et standardisation d'une méthode miniaturisée pour le dénombrement de *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes pour l'homme dans les produits de la mer. 2016 – 2018**. Rapport final projet France Agrimer DEVIB.

Kaelin Gaelle, Kergaravat Cedric, Garry Pascal (2019). **Essai inter-laboratoires Coquillages vivants. Essai du 02 avril 2019 : dénombrement des *Escherichia coli* dans les coquillages vivants**. Rapport définitif n° 19/01 Ec-Hu.

Kaelin Gaelle, Kergaravat Cedric, Garry Pascal (2019). **Essai inter-laboratoires Coquillages vivants. Essai du 02 avril 2019 : recherche des *Salmonella* spp. dans les coquillages vivants**. Rapport définitif n° 19/01 Sa-Hu.

Ollivier Joanna, Garry Pascal, Le Guyader Soizick (2019). **Essai inter-laboratoires. Essai du 1 avril 2019 : Recherche des norovirus dans les coquillages**. Rapport définitif n° 19/01 NoV.

Piquet Jean-Come, Kaelin Gaelle (2019). **Plan d'échantillonnage national du réseau de surveillance microbiologique des zones de production de coquillages (REMI) mars 2019**. Prescriptions du réseau de contrôle officiel microbiologique des coquillages dans les zones de productions classées. https://archimer.ifremer.fr/doc/00486/59725/

Piquet Jean-Come, Kaelin Gaelle, Rocq Sophie (2019). **Rapport sur le suivi des opérateurs de prélèvements et d'analyses du REMI. 3ème trimestre 2019**.

Piquet Jean-Come, Kaelin Gaelle, Rocq Sophie (2019). **Rapport sur le suivi des opérateurs de prélèvements et d'analyses du REMI. 1er trimestre 2019**.

Piquet Jean-Come, Kaelin Gaelle, Rocq Sophie (2019). **Rapport sur le suivi des opérateurs de prélèvements et d'analyses du REMI**. 2ième trimestre 2019.

Piquet Jean-Come, Schmitt Anne, Rocq Sophie, Cochennec-Laureau Nathalie (2019). **Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole. Département de Loire-Atlantique. Edition 2019**. RST/LER/MPL/19.07. https://archimer.ifremer.fr/doc/00495/60625/

Rocq Sophie, Gabellec Raoul (2019). **Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole. Département du Morbihan. Edition 2019**. RBE/SGMM/LSEM 019-02. https://archimer.ifremer.fr/doc/00492/60355/

Rumebe Myriam, Auby Isabelle, Blanchet Hugues, Fouet Marie, Gouriou Laure, Hervio Heath Dominique, Sautour Benoit, Savoye Nicolas, Sottolichio Aldo (2019). **Surveillance écologique du centre nucléaire de production d'électricité du Blayais. Année 2018**. R.ODE/LITTORAL/LERAR/19.001. https://archimer.ifremer.fr/doc/00505/61660/

Serais Ophelie, Cimiterra Nicolas, Fiandrino Annie, Crottier Anais, Grouhel-Pellouin Anne, Piquet Jean-Come (2019). **Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole. Région Occitanie. Edition 2019**. ODE/UL/LER/LR/19.011. https://doi.org/10.13155/61320

Rapports d'activité (1)

Desdouits Marion, Garry Pascal, Gourmelon Michele, Hervio Heath Dominique, Hubert Francoise, Kaelin Gaelle, Kergaravat Cedric, Le Mennec Cecile, Le Guyader Soizick, Loiseau Veronique, Lozach Solen, Maillot Jessica, Ollivier Joanna, Parnaudeau Sylvain, Piquet Jean-Come, Quenot Emmanuelle, Rocq Sophie, Schaeffer Julien, Serghine Joelle, Vallade Emilie, Veron Antoine, Wacrenier Candice (2019). **Rapport d'activités 2018 – Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie.**RBE/SG2M/LSEM 18-1. https://archimer.ifremer.fr/doc/00491/60218/

Expertises / Avis (10)

Expertise (2)

Morin Dimitri, Piquet Jean-Come, Geairon Philippe, Gervais Hugo, Bruneau Audrey (2019). **Réponse partielle à une demande d'expertise auprès de la coordination REMI sur différentes zones en Baie de Bourgneuf (Vendée)**. DDTM 85 - DIrection Départementale des

Territoires et de la Mer de Vendée, Unité Cultures Marine et Service Sécurité Sanitaire des Aliments, Ref. LERPC/AB/19-6332 - Expertise Ifremer n° 19-002, 3p.

Serais Ophelie, Piquet Jean-Come (2019). **Expertise d'un protocole expérimental d'évaluation de l'efficacité de la Colonne airlift à dépression COLDEP sur la purification en Escherichia coli et en Norovirus des coquillages marins vivants.**Coldep Developement, Palavas les Flots, Ref. Ifremer/ODE/UL/LER/LR/19.015, 6p.

Avis (2)

Cochennec-Laureau Nathalie, Piquet Jean-Come, Rocq Sophie (2019). **Avis sur l'opportunité d'un classement alternatif des zones n° 56.17.4 pour le groupe 3 (estuaire de la Vilaine - baie de la Vilaine) et n° 56.18.1 pour le groupe 3 (baie de Mont Mahé).** DDTM 56 - Direction Départementale des Territoires et de la Mer du Morbihan, Délégation à la Mer et au Littoral, Vannes, Ref. ODE/UL/LER/MPL/19.42 - 199/2019 – CM VA, 5p.

Lemoine Maud, Neaud-Masson Nadine, Piquet Jean-Come, Gabellec Raoul, Cochennec-Laureau Nathalie (2019). **Demande de déplacement du point REMI « Kerivor »**. DDTM 56 - Direction Départementale des Territoires et de la Mer du Morbihan, SAMEL – DML, Vannes, Ref. LER/MPL n° 19.26/Lo - Courrier du 9 avril 2019, 5p.

Compte rendu d'analyse (6)

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2019). **Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages - Rapport d'essai RE/19-010**. MAAF, Direction Générale de l'Alimentation, Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, Paris, Ref. TIAC 19-042-27, saisine du 26/12/2019, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2019). **Recherche des norovius (NoV) dans les coquillages - Rapport d'essai RE/19-009**. MAAF, Direction Générale de l'Alimentation, Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, Paris, Ref. TIAC 19-089-007, saisine du 26/12/2019, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2019). **Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages - Rapport d'essai RE/001**. MAAF, Direction Générale de l'Alimentation, Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, Paris, Ref. TIAC 19-044-001, saisine du 07/02/2019, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2019). **Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages - Rapport d'essai RE/19-009**. MAAF, Direction Générale de l'Alimentation, Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, Paris, Ref. TIAC 19-089-007, saisine du 26/12/ 2019, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2019). **Recherche de norovirus (NoV) dans les coquillages - Rapport d'essai RE/19-008**. MAAF, Direction

Générale de l'Alimentation, Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, Paris, Ref. TIAC 19-044-044, saisine du 27/12/2019, 1p.

Parnaudeau Sylvain, Garry Pascal, Le Guyader Soizick, Ollivier Joanna (2019). **Recherche des norovirus (NoV) dans les coquillages - Rapport d'essai RE/19-007**. MAAF, Direction Générale de l'Alimentation, Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce, Paris, Ref. TIAC 19-044-043, saisine du 27/12/ 2019, 1p.

Posters (26)

Desdouits Marion, Ollivier Joanna, Schaeffer Julien, Le Guyader Soizick (2019). **A metabarcoding approach to study norovirus diversity in contaminated shellfish**. 2019 IAFP's European Symposium on Food Safety (International Association for Food Protection). 24-26 April 2019, Nantes.

Desdouits Marion, Ollivier Joanna, Strubbia Sofia, Schaeffer Julien, Le Guyader Soizick (2019). **A metabarcoding approach to study norovirus diversity in contaminated shellfish**. Calcivirus 2019 -7th International Calicivirus Conference,13–17 October 2019, Sydney.

Delbarre Ladrat Christine, Passerini Delphine, Fecamp Florian, Marchand Laetitia, Kolypczuk Laetitia, Bonnetot Sandrine, Sinquin Corinne, Verrez-Bagnis Veronique, Hervio Heath Dominique, Colliec Jouault Sylvia (2019). **Characterization of biofilm extracts from two marine bacteria**. EPNOE 2019 - 6th EPNOE International Polysaccharides Conference. 21-25 Oct 2019 Aveiro, Portugal.

Dumont Emile, Malo Florent, Rovillon Georges-Augustin, Chomerat Nicolas, Hervio Heath Dominique, Gourmelon Michele, Durand Patrick, Quintric Laure, Siano Raffaele, Briand Enora (2019). **Bacterial communities associated with Alexandrium strains: study of their structure and composition by a 16S metabarcoding approach**. Mycotoxins and Phycotoxins "Risk and Regulation in a Multi-Toxin Exposure World" - Gordon Research Conference. 16-21 juin 2019, Easton, MA, USA.

Garry Pascal, Ollivier Joanna, Le Mennec Cecile, Le Guyader Soizick (2019). **Norovirus and *E. coli* contamination on French marketed oysters**. 2019 IAFP's European Symposium on Food Safety (International Association for Food Protection). 24-26 April 2019, Nantes.

Gourmelon Michele, Boukerb Mohamed, Serghine Joelle, Nabi Nesrine, Cheve Julien, Penny Christian, Cauvin Elodie, Rince Alain, Denis Martine (2019). **Shorebirds, a possible source of *Campylobacter* spp. in shellfish?** IWA HRWM 2019 - 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology. 15-20 September 2019, Vienna, Austria.

Gourmelon Michele, Boukerb Mohamed, Serghine Joelle, Walczak Cécile, Cauchie Henry-Michel, Miller William G., Losch Serge, Ragimbeau Catherine, Mossong Joël, Megraud Francis,

Lehours Philippe, Benejat Lucie, Penny Christian (2019). ***Campylobacter armoricus* sp. nov., a novel pathogenic member of the *Campylobacter lari* group isolated from water**. CHRO 2019 - 20th *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Microorganisms conference. 8-11 septembre, Belfast, Irlande.

Gourmelon Michele, Quenot Emmanuelle, Charrier Amélie, Lesne Mélanie, Jouanillou Adeline, Boukerb Mohamed, Lachkar Leïla, Dantan Luc, Weidhaas Jennifer, Vitte Isabelle (2019). **Validation of an avian MST toolbox to identify bird fecal pollution in environmental waters in France**. IWA HRWM 2019 - 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology. 15-20 September 2019, Vienna, Austria.

Hervio Heath Dominique, Copin Stéphanie, Fenart Evelyne, Garry Pascal, Lozach Solen, Revoux Nina, Valla Claire, Veron Antoine (2019). **Développement et standardisation d'une méthode miniaturisée pour le dénombrement de *Vibrio* spp. potentiellement entéropathogènes pour l'homme dans les produits de la mer**. MICROBES - 15e congrès national de la SFM (Société Française de Microbiologie). 30 Sept.-2 Oct. 2019, Paris.

Hubert Francoise, Wacrenier Candice, Morga Benjamin, Lecadet Cyrielle, Lozach Solen, Quenot Emmanuelle, Hervio Heath Dominique, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick (2019). **Sensibilité des capteurs passifs pour la détection de virus entériques humains, bactéries pathogènes et bactéries indicatrices de contamination fécale en milieu estuarien**. MICROBES - 15e congrès national de la SFM (Société Française de Microbiologie). 30 Sept.-2 Oct. 2019, Paris.

Hubert Francoise, Wacrenier Candice, Morga Benjamin, Lecadet Cyrielle, Mege Mickael, Lozach Solen, Quenot Emmanuelle, Hervio Heath Dominique, Le Guyader Soizick (2019). **Passive samplers to capture viruses and bacteria in the marine environment**. Conférence finale du projet VIVALDI "Comment gérer les maladies des coquillages d'aujourd'hui et de demain ?". 26-28 Novembre 2019, Brest.

Le Guyader Soizick, Desdouits Marion, Strubbia Sofia, Le Mennec Cecile, Polo Montero David, Zeng Xi-Lei, Ettayebi Khalil, Estes Mary K (2019). **Using enteroids to follow infectious human norovirus in seawater**. Calcivirus 2019 -7th International Calicivirus Conference,13–17 October 2019, Sydney.

Nabi Nesrine, Gourmelon Michele, Serghine Joelle, Boukerb Mohamed, Cheve Julien, Penny Christian, Walczak Cécile, Cauvin Elodie, Denis Martine (2019). **Prevalence of *Campylobacter* spp. in wild bird droppings at coastal areas in Brittany, France**. CHRO 2019 - 20th *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Microorganisms conference. 8-11 septembre, Belfast, Irlande.

Ollivier Joanna, Lamort Laure, Garry Pascal, Le Guyader Soizick (2019). **Evaluation of seasonal variation of enteric viruses and protozoa contamination in shellfish samples**. 2019 IAFP's European Symposium on Food Safety (International Association for Food Protection). 24-26 April 2019, Nantes.

Ollivier Joanna, Schaeffer Julien, Le Mennec Cecile, Wacrenier Candice, Garry Pascal, Le Guyader Soizick (2019). **Validation of real-time RT-PCR method for detection and quantification of norovirus in shellfish**. 2019 IAFP's European Symposium on Food Safety (International Association for Food Protection). 24-26 April 2019, Nantes.

Passerini Delphine, Aujoulat Fabien, Kolypczuk Laetitia, Ivaniuk Flora, Fecamp Florian, Lozach Solen, Hadjiev Emilie, Soree Marion, Verrez-Bagnis Veronique, Jumas-Bilak Estelle, Hervio Heath Dominique (2019). **Inhibition de vibrions pathogènes humains par des bactéries lactiques et compréhension des mécanismes impliqués**. CBL2019, 22ème Colloque du Club des Bactéries Lactiques. 12-14 juin 2019, Caen, France.

Piquet Jean-Come, Rocq Sophie, Kaelin Gaelle, Parnaudeau Sylvain, Le Guyader Soizick (2019). **1989-2019 : REMI, 30 years of microbiological monitoring for shellfish producing areas in France.**ICMSS 2019 - 12th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. September 9-13, 2019, Baja California, Mexico.

Schaefer Estelle, Reveillon Damien, Robert Elise, Cheve Julien, Rollet Claire, Mary Charlotte, Halm-Lemeille Marie-Pierre, Travers Marie-Agnes, Rolland Jean-Luc, Hervio Heath Dominique, Hess Philipp (2019). **Looking for tetrodotoxins in France: analytical development and screening of mollusks (oysters and clams) and marine bacteria within the ALERTOX-Net project.** Phycotox 2019 - Conférence nationale sur les algues toxiques GdR PHYCOTOX, 14–17 mai 2019, Plouzané.

Schaeffer Julien, Desdouits Marion, Besnard Alban, Strubbia Sofia, Le Guyader Soizick (2019). **Diversité des virus entériques dans des eaux usées collectées durant la dernière décennie**. MICROBES - 15e congrès national de la SFM (Société Française de Microbiologie). 30 Sept.-2 Oct. 2019, Paris.

Serghine Joelle, Nabi Nesrine, Boukerb Mohamed, Cheve Julien, Penny Christian, Walczak Cécile, Cauvin Elodie, Benoit Fabienne, Denis Martine, Rose Valérie, Gourmelon Michele (2019). **Les oiseaux de bord de mer: une potentielle source d'apport de *Campylobacter* spp. au littoral?** MICROBES - 15e congrès national de la SFM (Société Française de Microbiologie). 30 Sept.-2 Oct. 2019, Paris.

Soree Marion, Lozach Solen, Aujoulat Fabien, Kolypczuk Laetitia, Verrez-Bagnis Veronique, Hadjiev Emilie, Jumas-Bilak Estelle, Delbarre Ladrat Christine, Passerini Delphine, Hervio Heath Dominique (2019). ***Vibrio parahaemolyticus* : caractérisation de la virulence, inhibition de la croissance et atténuation de la virulence par des bactéries lactiques**. MICROBES - 15e congrès national de la SFM (Société Française de Microbiologie). 30 Sept.-2 Oct. 2019, Paris.

Strubbia Sofia, Schaeffer Julien, Besnard Alban, Le Guyader Soizick (2019). **Etude de la diversité des norovirus dans les eaux usées par la métagénomique**. XXIe Journées Francophones de Virologie. 28 au 29 mars 2019 à l'ENS de Lyon.

Strubbia Sofia, Schaeffer Julien, Besnard Alban, Desdouits Marion, Le Guyader Soizick (2019). **Capture-based deep sequencing in sewage and in three oyster types using In-house designed hexamer set**. Calcivirus 2019 -7th International Calicivirus Conference,13-17 October 2019, Sydney

Strubbia Sofia, Schaeffer Julien, Phan My Vt, Cotten Matthew, Oude Munnik Bas B., Nieuwenhuijse David F., Koopmans Marion, Le Guyader Soizick (2019). **Metagenomic approach to study norovirus diversity in sewage and oyster samples**. 7th Meeting of The European Society for Virology (ESV). 28 April - 1 May 2019 in Rotterdam, the Netherlands.

Toubiana Mylène, Hervio-Heath Dominique, Rey-Valette Hélène, Montfort Patrick. **Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters before and after depuration**. 8th biennial International Conference on the Biology of Vibrios "The Biology of Vibrio: Genomes to Biology". 18-20 novembre 2019, Montréal QC, Canada.

Verrez-Bagnis Veronique, Soree Marion, Passerini Delphine, Kolypczuk Laetitia, Marchand Laetitia, Bonnetot Sandrine, Fecamp Florian, Lozach Solen, Hervio Heath Dominique, Delbarre Ladrat Christine (2019). **Mining of the biosynthetic mechanisms of *Vibrio* spp. polysaccharides and potential role in biofilm formation**. CBM 13 - 13th Carbohydrate Bioengineering Meeting. 19-22 mai 2019, Toulouse. https://archimer.ifremer.fr/doc/00514/62605/

Communications sans actes (2)

Desdouits Marion (2019). **Infectiosité des Norovirus et culture cellulaire. Le modèle Entéroïdes**. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2019, Nantes.

Garry Pascal (2019). **Bilan des activités du Laboratoire National de Référence Microbiologie des Coquillages**. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2019, Nantes.

Garry Pascal, Le Guyader Soizick (2019). **Actualités en surveillance - LNR Microbiologie des Coquillages**. Comité de pilotage Surveillance des Coquillages. 14 mars 2019, , Direction Générale de l'Alimentation, Paris.

Gourmelon Michele (2019). **Les Campylobacters et l'environnement : des bassins versants au littoral**. MICROBES - 15e congrès national de la SFM (Société Française de Microbiologie). 30 Sept.-2 Oct. 2019, Paris.

Gourmelon Michele, Joensen Katrine, Banerji Sangeeta, Boukerb Mohamed, Serghine Joelle, Nabi Nesrine, Megraud Francis, Lehours Philippe, Penny Christian, Stingl Kerstin, Alter Thomas, Nielsen Eva Moller (2019). **Diversity of *Campylobacter* lari in a One-Health context: Focus on strains from France, Germany and Denmark**. CHRO 2019 - 20th Campylobacter, Helicobacter and Related Microorganisms conference. 8-11 septembre, Belfast, Irlande.

Gourmelon Michele, Moussard Hélène, Quenot Emmanuelle, Boukerb Mohamed, Lesne Mélanie, Loiseau Veronique, Bourasseau Line, Vitte Isabelle, Garabetian Frédéric (2019). **Persistence of Microbial Source Tracking markers, *E. coli* genotypes and fecal indicator bacteria in seawater and freshwater microcosms**. IWA HRWM 2019 - 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology. 15-20 September 2019, Vienna, Austria.

Kaelin Gaelle (2019). **Essais inter-laboratoires. Résultats 2019**. Journée Santé, Environnement et Microbiologie 2019. 07 novembre 2019, Nantes.

Hervio Heath Dominique, Aujoulat Fabien, Kolypczuk Laetitia, Ivaniuk Flora, Lozach Solen, Hadjiev Emilie, Soree Marion, Verrez-Bagnis Veronique, Jumas-Bilak Estelle, Delbarre Ladrat Christine, Passerini Delphine (2019). **Lactic acid bacteria and *Vibrio parahaemolyticus*: growth inhibition and virulence attenuation - Application to shellfish products.** 8th biennial International Conference on the Biology of Vibrios "The Biology of Vibrios: Genomes to Biology" . 18-20 novembre 2019, Montréal QC, Canada.

Hubert Francoise, Morga Benjamin, Lozach Solen, Quenot Emmanuelle, Wacrenier Candice, Hervio Heath Dominique, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick (2019). **Passive sensors applied to virus and bacteria detection**. EAFP2019 - 19th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish. 9th-12th September 2019, Porto, Portugal.

Hubert Francoise, Morga Benjamin, Lozach Solen, Veron Antoine, Hervio Heath Dominique, Gourmelon Michele, Le Guyader Soizick (2019). **Détection de virus et bactéries en milieu marin à l'aide de capteurs passifs**. Séminaire de pathologie des mollusques. 14 Mars 2019, Nantes.

Le Guyader Soizick,(2019) **Salubrité des coquillages : enjeu des contaminations par les virus et les bactéries.** Séance de l'Académie des Sciences Vétérinaires, 7 février. Communication sur invitation

Le Guyader Soizick,(2019) **Norovirus et huître : le jeu des ligands**. Congrès international de la Société Tunisienne de Microbiologie, 9 mars. Communication sur invitation

Le Guyader Soizick,(2019) **Oysters and norovirus: how new technologies will help to improve safety ?** IAFP European Symposium, Nantes 24-26 avril 2019

Le Guyader Soizick,(2019) **Terre-mer, un continuum de tous les dangers: les contaminations biologiques des océans,** La mer XXL, Nantes 29 juin au 10 juillet 2019

Le Guyader Soizick,(2019) **Norovirus: from Human to sewage and… back to Human**. 7th International Calicivirus Conference, 13-17 octobre 2019, Sydney, State of the art lecture.

Le Guyader Soizick,(2019) **Risque sanitaire lié à la consommation des coquillages**, Safe Water Summit, Toulouse 18 novembre 2019, communication sur invitation.

Ollivier Joanna (2019). **Etude EFSA. Prévalences des Norovirus dans les huîtres en Europe**. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2019, Nantes.

Parnaudeau Sylvain, Ollivier Joanna, Wacrenier Candice, Le Guyader Soizick (2019). **Prevalence of norovirus in french oysters**. ICMSS 2019 - 12th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. September 9-13, 2019, Baja California, Mexico.

Piquet Jean-Come (2019). **Bilan REMI 2018 et perspectives 2019**. Comité de pilotage Surveillance des coquillages. 14 mars 2019, Direction Générale de l'Alimentation, Paris.

Piquet Jean-Come (2019). **REMI. Bilan & indicateurs de mise en oeuvre 2018-2019**. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2019, Nantes.

Piquet Jean-Come (2019). **Définition des seuils d'alerte pluviométrique REMI**. Comité de pilotage Surveillance des coquillages. 14 mars 2019, Direction Générale de l'Alimentation, Paris.

Piquet Jean-Come (2019). **La surveillance des eaux conchylicoles**. 47ème Le Salon de la Conchyliculture, des cultures marines & des activités de mer . 11-13 Avril 2019, La Tremblade.

Piquet Jean-Come (2019). **Bilan du suivi des indicateurs REMI. Année 1**. Retour d'experience sur la Mise en oeuvre du dispositif de surveillance des zones de production. 31 janvier 2019, Ministère de l'agriculture, Paris.

Piquet Jean-Come (2019). **The microbiological quality monitoring of French shellfish waters**. Visite de M. Jorge Mario MAFUCA, National Director, National Institute of Fisheries Research, Mozambique. 11 décembre 2019, Nantes.

Rocq Sophie (2019). **Etudes Sanitaires**. Journée pour la Santé, l'Environnement et la Microbiologie 2019, Nantes.

Schaeffer Julien, Besnard Alban, Strubbia Sofia, Le Guyader Soizick (2019). **Enteric virus diversity in sewages collected during last decade**. 7th Meeting of The European Society for Virology (ESV). 28 April - 1 May 2019 in Rotterdam, the Netherlands.

Serais Ophelie, Cimiterra Nicolas, Crottier Anais, Piquet Jean-Come, Rocq Sophie, Fiandrino Annie, Munaron Dominique (2019). **Restitution des évaluations de la qualité des zones de production conchylicole de l'Hérault et du Gard**. Commission de classement sanitaire des zones de production de l'Hérault et du Gard. 11/07/2019, Sète.

Strubbia Sofia (2019). **Metagenomic approach to study human norovirus diversity in sewage and oyster samples**. Calcivirus 2019 -7th International Calicivirus Conference,13–17 October 2019, Sydney.

Participation à la formation

Participation à un jury de thèse ou HDR

Dominique Hervio-Heath, Rapporteur HDR de Patricia Licznar-Fajardo, "Antibiorésistance environnementale : approche territoriale et enjeux en santé publique", Université de Montpellier, Montpellier le 13/02/2019.

Dominique Hervio-Heath, Examinateur Thèse de Doctorat de Clarisse Lemonnier, "Effet des changements environnementaux sur la dynamique des communautés microbiennes : évolution et adaptation des bactéries dans le cadre du développement de l'Observatoire Microbien en rade de Brest et Mer d'Iroise", Université de Bretagne Occidentale, Plouzané le 26 avril 2019.

Soizick Le Guyader, Rapporteur de Thèse de Doctorat de Huynen Pascale, Le norovirus humain: contribution à la détection, à la caractérisation et l'épidémiologie clinique et moléculaire. Université de Liège, Doctorat en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques Janvier 2019.

Soizick Le Guyader, Rapporteur de Thèse de Doctorat de Rasestya Triwibowo, Risk assessment of norovirus on shellfish from Indonesian markets, Thèse de l'Université de Tasmanie, Australie, mars 2019

Soizick Le Guyader, Rapporteur Thèse de Doctorat de Elodie Geba, la dreissène comme outil épurateur des protozoaires en effluent de STEP. Thèse de l'Université de Reims Champagne - Ardenne, 28 novembre 2019

Soizick Le Guyader, Directrice de la thèse de Sofia Strubbia, Norovirus et huître: infectiosité et approche génomique. Thèse de l'Université de Nantes, COMUE Université Bretagne- Loire, 4 décembre 2019, membre du jury, directrice de la thèse.

Participation à un comité de thèse

Michèle Gourmelon, Lorine Derongs, Irstea, Rennes, 10 mai 2019. Impact des paramètres majeurs de la méthanisation à la ferme sur le devenir des *C. perfringens* et les gènes de résistance aux antibiotiques : conséquences sur la dissémination des spores et de l'antibiorésistance.

Michèle Gourmelon, Méry Ndione, Université de La Rochelle, 22 octobre 2019. Identification des sources de contamination fécale dans un espace littoral connaissant des pratiques de tourisme et de loisir ; Utilisation combinée de marqueurs biologiques, chimiques : l'exemple de la baie d'Aytré.

Dominique Hervio-Heath, 2de année de thèse de Julia Mougin, "Approches microbiologiques et moléculaires pour lutter contre la vibriose du bar (Dicentrarchus labrax), Université Lille Nord de France (Unité d'acceuil : Institut Charles Violette, Boulogne sur Mer), Boulogne sur Mer, 18 décembre 2019

Pascal Garry, 2de année de thèse de Antoine Culot, « Développement d'une solution de bacteriophages spécifiques de bactéries pathogènes rencontrées en aquaculture », AgroCampusOuest, Rennes, 4 juin 2019.

Formation donnée

Nom de l'agent	Organisme	Niveau	Sujet	Durée (en h.)
Joelle COZIEN-SERGHINE	UBO	Master I Ecologie microbienne en milieu marin	TP/TD Isolement et Identification de *Campylobacter* et *Vibrio* à partir d'eaux douce/de mer	12h
Gourmelon Michèle	UBO	Master I Microbiologie Parcours Microbiologie Fondamentale et Appliquée (MFA-UBO)	La qualité microbienne des eaux. Aspects réglementaires.	2h00
Emmanuelle Quenot	UBO	Master I Microbiologie Parcours Microbiologie Fondamentale et Appliquée (MFA-UBO)	Gestion du risque microbiologique	2
Soizick Le Guyader	Université François Rabelais, Tours	Master 2 ICMVAT et IDOH conjoints	Viral contamination of the environment	2
	Université Pierre et Marie Curie, Paris VI	Master 2 MAPES-QUESS, Composantes hygiéniques de la qualité, maîtrise des risques	Virus entériques humains et environnement	2
	Université de Nantes	Master 2, Science de l'Aliment	Les virus dans les produits de la mer : épidémiologie et techniques de détection,	2
	Institut Pasteur, Paris	Master 2 Virologie Fondamentale,	Calicivirus : épidemiologie et rôle de l'environnement	2
	Oniris, Nantes	Master 2 MAN-IMAL	Shellfish and human enteric viruses	2
	Brest, faculté de Médecine	Master 2 MFA Virologie	Virus entériques et environnement.	3
Marion Desdouits	Oniris Nantes	Ingenieur 3eme année	Contamination des aliments par les virus humains	2
Marion Desdouits	Universite de Reims, Champagne Ardennes	master 1, Riusque et Environnement	Transmission environnementale des virus entériques	2

Nom de l'agent	Organisme	Niveau	Sujet	Durée (en h.)
Marion Desdouits	UPMC, Museum d'Histoire naturelle	M2, Microbiologie Envionnement, Santé	Les virus infectant l'Homme dans les milieux aquatiques	2
Sylvain Parnaudeau	Nantes	ONIRIS Ingénieur 3ème année	Virus dans les aliments	2

Expertise

Pascal Garry :

- Commission AFNOR V08B - Microbiologie des aliments
- Communauté Européenne, Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages
- Membre du comité scientifique des Editions Lavoisier Tec & Doc Sciences et Techniques Agro-alimentaires

Michèle Gourmelon

- Conseil Scientifique du Parc National du Morbihan, 22 novembre 2019,
- Conseil scientifique du projet MEDISA, MEthodologie de Dimensionnement des Systèmes d'Assainissement, porté par l'Eau du Ponant, Brest. Copil n° 3, 11 avril 2019.

Dominique Hervio-Heath :

- CEN/TC 275– food analysis, WG 6 – Microbial contamination TAG 15, Vibrio.
- Communauté Européenne, Laboratoire National de Référence pour la microbiologie des Coquillages (Vibrio)
- Projet IGA (EDF/Ifremer) – Référente/experte Vibrio
- Dominique Hervio-Heath, Joint FAO/WHO Expert meeting of Microbial Risk Assessment on Vibrio parahaemolyticus and Vibrio vulnificus, CEFAS-Weymouth, UK, 13-15/05/2019.-

Jean-Côme Piquet:

- EU working group on the Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas"

Soizick Le Guyader:

- Communauté Européenne, Laboratoire National de Référence pour la Microbiologie des Coquillages (depuis 2002)
- EFSA, groupe de travail 'Scientific and technical assistance on the baseline survey of norovirus in oysters'

Sophie Rocq :

- Comité de pilotage "Surveillance sanitaire des zones de production de coquillages" - Paris (DGAL) - 14/03/2019
- Commission départementale de suivi de la salubrité des zones de production de coquillages du littoral de la Loire-Atlantique - Saint Nazaire (DDTM) - 20/06/2019

- Commission départementale de suivi des zones de production de coquillages vivants du Morbihan - Vannes (DDTM) - 28/06/2019
- Réunion sur le classement sanitaire de la zone de Groix - Lorient (sous-Préfecture) 22/08/2019

Sigles / abréviations

AELB : Agence de l'Eau Loire Bretagne

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARS : Agence Régionale de Santé

CEFAS : Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science.

CEN : Comité Européen de Normalisation

CIRE : Cellule Inter-Régionale d'Epidémiologie

CLI : Chair et Liquide Intervalvaire

CNC : Comité National de la Conchyliculture

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CRC : Comité Régional de la Conchyliculture

DDPP : Direction Départementale de la Protection des Populations

DDTM : Direction Départementale des Territoires et de la Mer

DGAl : Direction Générale de l'Alimentation

EFSA : European Food Safety Autority

EIL : Essai Inter-Laboratoire

EILA : Essai Inter-Laboratoire d'Aptitude

FAO : Food and Agriculture Organisation

GEA : Gastro-Enterite Aigüe

LNR : Laboratoire National de Référence

LRUE : Laboratoire de Référence de l'Union Européenne

LSEM : Laboratoire Santé Environnement et Microbiologie

NGS : Next-Generation Sequencing

NPP : Nombre le Plus Probable

OMS : Organisation Mondiale de la santé

PSPC : Plan de Surveillance Plan de Contrôle

RASFF: Rapid Alert System for Food and Feed

REMI : Réseau de contrôle Microbiologique des zones de production conchylicole

REPHY : Réseau d'Observation et de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines

SPF : Santé Publique France

TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective