

**DOSSIER DE CANDIDATURE
(version simplifiée)**

2022

**Centre National de Référence
*Listeria***

**Années d'exercice
2017-2021**

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent rapport, faite sans l'autorisation écrite du CNR *Listeria* est illicite. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et d'autre part, les analyses et courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées tout en mentionnant clairement les références de ce présent rapport (A. Leclercq, A. Moura, C. Charlier-Woerther and M. Lecuit. 2022. Rapport annuel d'activité du Centre national de Référence *Listeria* – Années 2017-2021. Institut Pasteur, Paris, France) dont elles sont issues.

AVANT-PROPOS

Le Centre National de Référence *Listeria* remercie l'ensemble de ses correspondants pour l'envoi des souches et de leurs informations associées, dans le cadre de la surveillance microbiologique de la listériose en France entre 2017 et 2021, notamment dans le contexte de pandémie de SARS-CoV-2.

Le bilan des données présentées dans ce dossier de candidature couvre les années 2017 à 2021.

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

Abréviation / Acronymes	Dénomination
ADN	Acide désoxyribonucléique
ANSES-LSA	Laboratoire de Santé animale de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence National de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AP-HP	Assistance Publique des Hôpitaux de Paris
ARS	Agence Régionale de Santé
CES	Comité d'experts spécialisés
CCOMS	Centre Collaborateur de l'OMS <i>Listeria</i>
C2RT	Centre de Ressources et Recherches Technologiques
CCR	Coordination des Centres de Référence
CDC	Center for Diseases Control
CFU	Colonie Formant Unité
cgMLST	core genome Multi Locus Sequence Typing
CIBU	Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence
CNBM	Commission Nationale de Biologie Médicale
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CNR	Centre National de Référence
CNRL	Centre National de Référence <i>Listeria</i>
COFRAC	Comité français d'Accréditation
COM	Collectivité d'Outre-Mer
CRBIP	Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur
CNOM	Conseil National de l'Ordre des Médecins
CNOP	Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens
CRF	Case Report Form
DG/DCCRF	Direction Générale / Départementale de la Consommation et de la Répression des Fraudes
DGAI	Direction Générale de l'Alimentation
DGS	Direction Générale de la Santé
DG SANTE	Direction Générale de la Santé et du Consommateur
DMDIV	Dispositifs Médicaux de Diagnostic In Vitro
DO	Déclaration obligatoire
DROM-TOM	Département & Région et Territoire d'Outre-Mer
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Agency
ELITE	Epidemic Intelligence Information System
EMERGEN	Consortium pour la surveillance et la recherche sur les infections à pathogènes EMERgents via la GENomique microbienne
EHPAD	Etablissement d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes
EQA	Essai d'intercomparaison – Essai externe de la qualité
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FWD	Food and Water-borne Diseases
GBEA	Guide de bonne Exécution des Analyses
GBUI	Guide de Bonne Utilisation de l'Informatique
GEA	Gastro-entérite aiguë
GISAID	Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data
GWAS	Genome Wide Association Study
Ila	Sérovars 1/2a et 3a de <i>Lm</i>
Ilb	Sérovars 1/2b, 3b et 7 de <i>Lm</i>
Ilc	Sérovars 1/2c et 3c de <i>Lm</i>
IVb	Sérovars 4b, 4d et 4e de <i>Lm</i>
IFB	Institut Français de Bioinformatique
InVS	Institut de Veille Sanitaire
INSEE	Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques

ISOPOL	International Symposium On Problems Of Listeriosis
L	Sérovars 4a, 4ab et 4c de <i>Lm</i>
LABM	Laboratoire d'analyses de Biologie Médicale
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien ou Liquide Cérébro-Spinal (LCS)
LDAP	Lightweight Directory Access Protocol
<i>Lm</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
LNRI	Laboratoire National de Référence des <i>Listeria monocytogenes</i>
LREMS	Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site
LuLISA	Luciférase-Linked Immunosorbent Assay
MALDI-TOF	Spectromètre de masse à temps de vol (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight)
MLST	Multi-Locus Sequence Typing
MN	Materno-néonatal(e)
MOT	Micro-Organisme et Toxine (hautement pathogène)
MS	Spectrométrie de Masse
MSSanté	Système de messageries électroniques réservé aux professionnels de santé
MTA	Material Transfer Agreement
N	Système nerveux central
NICD	National Institute for Communicable Diseases (South Africa)
NGS	Next-Generation Sequencing
OGM	Organisme génétiquement modifié
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P2M	Plateforme de Microbiologie Mutualisée
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne
PFGE	Electrophorèse en champs pulsé
PSSI	Politique de Sécurité des Systèmes d'Information
RGPD	Règlement Général sur la Protection des Données
RPPS	Répertoire Partagé des Professionnels de Santé
S	Septicémie
SAM	Système d'Astreintes microbiologiques
SIL	Système informatique de Laboratoire
SPF	Santé Publique France
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPR	Service de Prévention des Risques
ST	MLST sequence type (in French)
TESSy	European Surveillance System
UI	Urgent Inquiry (Alerte Européenne ECDC dans EPIS/EPIPULSE)
USDA	United States Department of Agriculture
UTechS	Unités de Technologie et de Service
VIR	Virus des Infections Respiratoires (CNR VIR)

Table des matières

1. NOTE DE PRESENTATION	7
2. DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE.....	9
2.1. Descriptif des thématiques de recherche du laboratoire candidat.....	9
2.2. Proposition d'organisation pour répondre au cahier des charges	9
2.2.1. Organisation des CNR à l'Institut Pasteur	9
2.2.2. Unités et Plateformes partenaires des CNRs	11
2.2.3. Services et Directions en support à l'activité des CNR.....	16
2.3. Capacités techniques du laboratoire candidat	18
2.3.1. Méthodes et marqueurs épidémiologiques disponibles	18
2.3.2. Maintien, détention et diffusion de matériel biologique.....	19
2.3.3. Maintien et détention des bases de données	21
2.3.4. Plan de continuité d'activité et de montée en charge en cas de situation sanitaire exceptionnelle	22
3. BILAN 2023-2027 DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES.....	23
3.1. Les activités scientifiques au titre de l'expertise microbiologique	23
3.1.1. Contributions aux études epidemiologiques	23
3.1.2. Méthodes de diagnostic et caractérisation de souches atypiques	25
3.1.3. Analyses cliniques.....	25
3.1.4. Etude de la virulence	27
3.1.5. Taxonomie.....	28
3.1.6. Développement de nouveaux outils de diagnostic.....	28
3.1.7. Développement de nouveaux outils de typage moléculaire et étude de la diversité des <i>Listeria</i>	29
3.1.8. Participation à la maitrise agroalimentaire.....	30
3.1.9. Etude de la résistance aux antibiotiques et tolérance aux biocides	30
3.2. Les activités techniques au titre de l'expertise microbiologique.....	30
3.2.1. Evolution des techniques 2017-2021	31
3.2.2. Activités d'expertise 2017-2021	32
3.2.3. Caractérisation des souches d'origine non humaine.....	48
3.3. Le conseil aux professionnels ou aux autorités compétentes.....	53
3.3.1. Centre de documentation et publication avec les laboratoires correspondants	54
3.3.2. Site Internet.....	54
3.3.3. Enseignements, Formations, Accueil de stagiaires	54
3.3.4. Participation à la rédaction de communications écrites didactiques	56
3.3.5. Activité de conseil	56
3.3.6. Expertises	56
3.3.7. Retour d'informations	57
3.4. Contribution à l'alerte.....	58
3.4.1. Suspensions d'infections nosocomiales.....	58
3.4.2. Clusters cgMLST	58
3.4.3. Toxi-infections Alimentaires Collectives et Epidémies.....	61
3.4.4. Alertes-produits DGAI et investigations alimentaires	62
3.4.5. Alertes-produits DGCCRF.....	63

3.4.6.	Alerte européenne et internationale.....	63
3.4.7.	Enquête sur les formes neuroméningées	63
3.4.8.	Expertises judiciaires	64
3.5.	Apports de la génomique.....	64
4.	LISTE DES PUBLICATIONS 2011-2021.....	65
4.1.	Publications nationales et internationales.....	65
4.2.	Communications nationales.....	65
4.3.	Communications internationales	67
4.4.	Conférences sur invitations.....	71
4.5.	Chapitres de livres	74
4.6.	Interactions avec la presse.....	75
4.7.	Contributions ou collaborations avec des instances nationales et internationales	76
4.7.1.	Santé Publique France	76
4.7.2.	ANSES et LNR <i>Listeria monocytogenes</i>	76
4.7.3.	ANSM	76
4.7.4.	DGS, DGAI et DGCCRF.....	76
4.7.5.	Laboratoire Communautaire de Référence (EURL) des <i>Listeria monocytogenes</i> et DG SANTE	77
4.7.6.	European Center for Diseases Control: ECDC.....	77
4.7.7.	Autorité Européenne de sécurité des Aliments: EFSA	78
4.7.8.	Center for Disease Control and PulseNet	78
4.7.9.	Organisation Internationale de Normalisation (ISO) et Comité Européen de Normalisation (CEN).....	79
4.7.10.	Office International des Epizooties (OIE)	79
4.7.11.	EC Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF).....	79
4.7.12.	Centre Collaborateur OMS (CC-OMS)	79
6.	REFERENCES.....	81
ANNEXE A	85

1. NOTE DE PRESENTATION

La listériose est une maladie infectieuse humaine d'origine alimentaire et une zoonose, dont l'agent étiologique est *Listeria monocytogenes* (*Lm*), une bactérie ubiquitaire. Les caractéristiques principales de la listériose sont :

- l'existence d'une **population à risque** : personnes âgées (> 65 ans; 20,5% de la population française en constante progression), femmes enceintes et leurs nouveaux-nés (1% de la population), et les sujets dont l'immunité innée et/ou cellulaire est diminuée (immunosuppresseurs, corticothérapie, chimiothérapie, cancer, diabète, alcoolisme, etc.) (1);
- une **présentation clinique sous des formes très variées**: la listériose peut se traduire par une gastro-entérite fébrile (GEA) isolée, une infection invasive, ou très rarement une infection focale. Les GEA résultent principalement de la contamination alimentaire massive de sujets immunocompétents (2-4). Les formes invasives comportent les formes septicémiques (S), les infections du système nerveux central (N) – ces deux formes cliniques surviennent en règle chez des sujets immunodéprimés –, ainsi que les formes materno-néonatales (MN). Ces trois présentations représentent plus de 90% des formes invasives. D'autres manifestations, rares, sont parfois observées, telles que les formes cutanées (5), ostéo-articulaires (6), péritonéales, ganglionnaires (7), biliaires (8) ou vasculaires (9) qui font l'objet d'études par le CNRL;
- une **transmission par voie alimentaire** (>99 % des cas). La femme enceinte peut transmettre l'infection au fœtus *in utero* par voie transplacentaire, ou, beaucoup plus rarement durant l'accouchement. La transmission directe par voie cutanée, exceptionnelle, a été observée après mise bas d'un animal porteur ou lors d'avortements liés à une listériose animale.
 - Parmi les 54% de rappels produits liés à la microbiologie, *Listeria monocytogenes* est la principale cause des rappels produits alimentaires en 2020 (23%) et 2019 (26%) avec les principaux aliments suivants : fromages, charcuteries, saumons (source site web RappelConso, DGCCRF);
- une **morbi-mortalité très élevée** : les formes invasives non-MN sont associées à une mortalité de 20 à 30% et les formes neuroméningées représentent la quatrième cause de méningo-encéphalite en France. Elles justifient une hospitalisation systématique, souvent prolongée et en soins intensifs (10). Les infections MN se compliquent de perte fœtale dans 25% des cas, de prématurité dans 40% des cas, et d'infection néonatale dans 75% des cas (11).
- le **coût de l'infection** par patient est élevé (12) : la listériose est l'infection d'origine alimentaire dont le coût unitaire est le plus élevé (12-15).
- une dimension « **one health** », la listériose étant une zoonose, et la contamination de produits d'origine animale étant un vecteur majeur de l'infection.
- l'**incidence** de la listériose en France est stable depuis 2013 autour d'environ 6 cas/million d'habitants. Cette incidence est du même ordre que celle observée dans les pays bénéficiant d'un système de surveillance de l'infection.
- la listériose humaine se présente essentiellement sous forme de **cas sporadiques**, plus rarement par des cas groupés, voire de véritables **épidémies**. Plus de 110 épidémies ont été rapportées dans la littérature à ce jour dont 41 en France (Tableau 8, chapitre 3.4.2.). Celles-ci ont diminué en magnitude et en fréquence avec la mise en place des différents éléments du système de surveillance en France.
- la **listériose** est rapportée mondialement sauf dans des pays sans système de surveillance, favorisant alors l'émergence de larges épidémies, comme en 2017-2019 en Afrique du Sud (16).

- les **modalités de la surveillance de la listériose en France** sont détaillées en annexe A. Elle repose sur une déclaration des cas à l'Agence régionale de Santé rendue obligatoire depuis 1998, et à l'envoi volontaire des souches au CNRL. L'exhaustivité de ce système de déclaration est élevée, estimée >90% (17), offrant l'opportunité de mener des études scientifiques et médicales sur cette infection modèle.
La surveillance microbiologique clinique et alimentaire des souches permet l'identification et le retrait des aliments ayant causé une infection et/ou dont la contamination dépasse un seuil réglementaire ou critère de sécurité. Ce système de surveillance implique médecins, microbiologistes et épidémiologistes et les services concernés des ministères de la Santé (DGS), de l'Agriculture (DGAI), et des Finances (DGCCRF).
- Le CNRL reçoit dans le cadre de la surveillance des souches cliniques humaines depuis 1992, qu'il caractérise et dont il effectue le typage moléculaire. **Depuis janvier 2017, la méthode de typage développée par le CNRL appelée cgMLST reposant sur le séquençage du génome et l'analyse du core génome bactérien est la méthode officielle utilisée par le CNRL** (18). L'analyse par cgMLST permet également de caractériser les liens phylogénétiques entre les souches et d'analyser la biodiversité et l'évolution de *Lm*. Elle permet aussi la détection et l'analyse de gènes de virulence.
- Le CNRL conduit depuis 2009 une étude prospective nationale avec SPF pour mieux caractériser les formes cliniques de la listériose et identifier des facteurs de risque et pronostiques. Il s'agit de l'étude cas-témoins **MONALISA** (clinical trials NCT01520597 ; plus de 2200 patients cas et témoins inclus à ce jour) (1).

2. DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE

2.1. Descriptif des thématiques de recherche du laboratoire candidat

L'Unité de Biologie des Infections (www.pasteur.fr/research/biu) étudie les mécanismes biologiques des infections invasives, et notamment celles dues à des microorganismes responsables d'infections du système nerveux central et néonatales. Les pathogènes modèles étudiés sont principalement *Listeria monocytogenes*, ainsi que le streptocoque du groupe B, les virus chikungunya, Zika et SARS-CoV2.

Nous utilisons des approches classiques de microbiologie moléculaire et de biologie cellulaire, en combinant des analyses *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo*. Nous utilisons des techniques d'imagerie dynamique et en temps réel pour visualiser et étudier le processus infectieux au niveau tissulaire, *in vitro* et *in vivo*.

En complément de ces approches expérimentales et fondamentales, nous développons une approche génomique, visant à étudier, décrire et comprendre la biodiversité au sein du genre *Listeria*, et particulièrement de l'espèce *monocytogenes*, dans l'objectif d'identifier de la façon la plus exhaustive les facteurs de *Lm* associés à sa virulence. Cette approche a deux objectifs complémentaires : mieux comprendre la physiopathologie de l'infection et identifier des marqueurs moléculaires qui pourraient être associés au pouvoir pathogène des isolats.

Nous développons également des projets de recherche clinique, afin de mieux comprendre les mécanismes de la listériose humaine, d'en préciser les caractéristiques cliniques, radiologiques et biologiques, d'identifier des facteurs pronostiques, et de tenter de développer de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques. Nous avons lancé une vaste étude prospective et multicentrique nationale qui nous permettra également à terme d'identifier d'éventuels nouveaux facteurs de susceptibilité de l'hôte à cette infection, dont la morbi-mortalité reste particulièrement élevée.

2.2. Proposition d'organisation pour répondre au cahier des charges

La Direction Générale de la Santé (DGS) a mis en place en 1982 la surveillance nationale de la listériose et créé le Centre National de Référence *Listeria*, d'abord localisé à la Faculté de Médecine de Nantes, auquel a été adjoint en 1990 le CNR pour la lysotypie et le typage moléculaire situé à l'Institut Pasteur. L'Institut Pasteur héberge depuis 1993 le Centre National de Référence *Listeria* (CNRL) et, depuis 1992, le Centre Collaborateur OMS *Listeria* (CCOMS).

Le Centre National de Référence *Listeria* a respecté pour la période 2017-2021 le cahier des charges (décret n° 2016-806 du 16 juin 2016 relatif aux centres nationaux de référence et arrêté du 16 juin 2016 fixant le cahier des charges des Centres nationaux de référence, et cahier des charges spécifiques du CNRL de Santé Publique France), et s'engage à faire de même pour le mandat à venir (arrêté du 02 mars 2022 fixant le cahier des charges des Centres nationaux de référence et cahier des charges spécifiques du CNRL de Santé Publique France).

Son activité de surveillance se fonde sur un réseau de plus de 500 biologistes français, ainsi que l'ensemble des laboratoires vétérinaires départementaux, la DGCCRF et les laboratoires privés d'hygiène des aliments (environ 220 correspondants) de la France métropole et des DROM-COM-TOM. En contact constant avec ce réseau, il essaie en permanence d'améliorer sa réactivité, ses prestations techniques, sa rétroinformation et la valorisation commune de ces échanges (publications, etc.).

L'Institut Pasteur offre un cadre unique pour accueillir le CNRL. Il possède une structure administrative (décrite ci-dessous) coordonnant l'activité des CNRs placés sous sa responsabilité, et héberge des unités de recherche travaillant sur *Listeria* et d'autres bactéries entéropathogènes, ainsi que des plates-formes technologiques diverses lui permettant un accès privilégié à un très large panel de techniques à haut débit et de grande technicité.

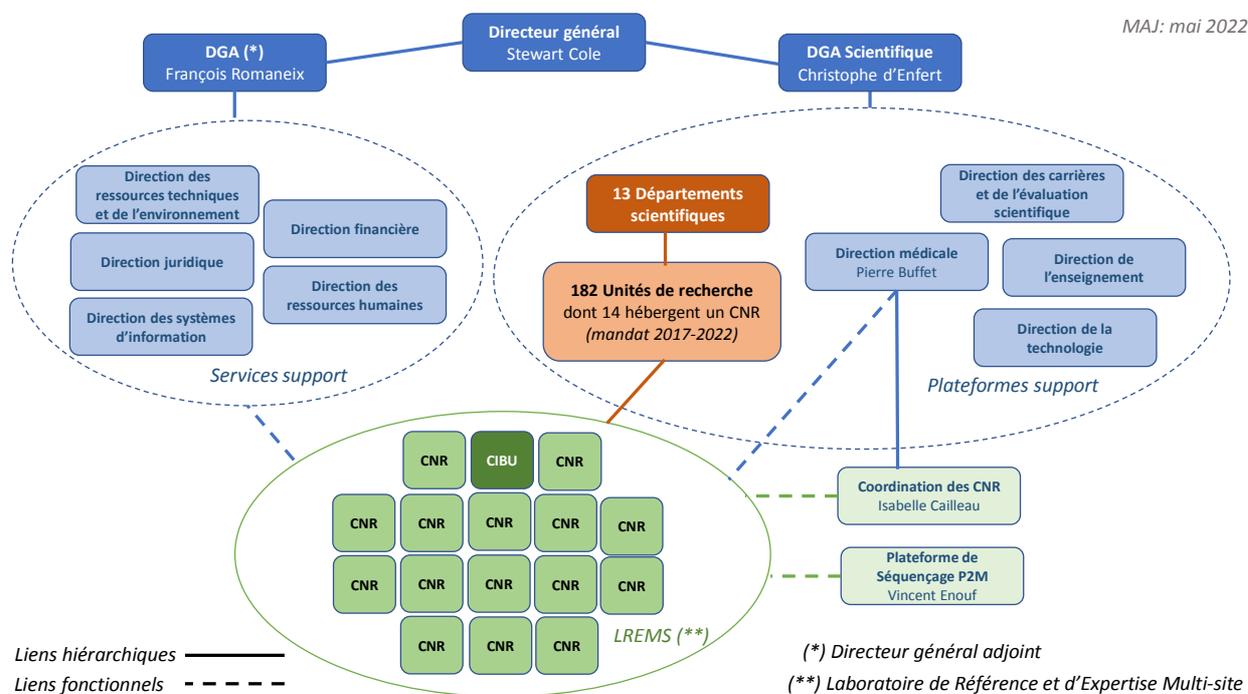
2.2.1. Organisation des CNR à l'Institut Pasteur

L'Institut Pasteur est impliqué depuis près de 50 ans dans l'étude des microorganismes, des maladies infectieuses qu'ils provoquent, et contribue à la surveillance d'agents pathogènes au service de la santé publique, avec ses

premiers laboratoires désignés Centre Nationaux de Référence (CNR) en 1974. A partir de 2010, l'Institut Pasteur a fédéré les 15 CNR et 4 laboratoires associés placés sous sa responsabilité, ainsi que la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) en une structure fonctionnelle dénommée Laboratoire de Référence et d'Expertise MultiSite (LREMS). Cette organisation a permis d'optimiser l'organisation des CNRs dans la perspective de répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15189 (loi 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale).

Le Pr Stewart Cole, nommé Directeur général en janvier 2018 par le Conseil d'Administration de l'Institut Pasteur, est responsable de la politique générale de l'Institut Pasteur, de son bon fonctionnement et assure la représentation de l'Institut à l'extérieur. Il encadre un comité de Direction composé de 16 membres directeurs/trices, dont deux Directeurs généraux adjoints qui sont François Romaneix, responsable de la Direction administrative et financière, et Christophe d'Enfert, responsable de la Direction scientifique. Outre les Directions qui lui sont rattachées, à l'instar de la Direction médicale, la Direction scientifique encadre et anime 13 départements scientifiques, qui pour chacun d'entre eux héberge entre 6 et 20 unités de recherche (Figure 1A). Tout CNR placé sous la responsabilité de l'Institut Pasteur est rattaché à une unité de recherche dont les travaux, en lien avec le ou les agents infectieux dont la surveillance nationale lui est confiée, lui donne accès à des infrastructures et techniques de pointe, et lui permet d'enrichir constamment son niveau de compétences et d'expertises.

Figure 1A. Schéma simplifié décrivant la place et l'organisation des CNR à l'Institut Pasteur.



La Direction médicale, qui dépend de la Direction scientifique, est responsable de l'ensemble des activités liées à la santé publique et au développement de la recherche clinique à l'Institut Pasteur. Depuis janvier 2022, le Pr Pierre Buffet a été nommé à la tête de la Direction Médicale au sein de laquelle opère le service de Coordination des Centres de Référence (CCR). La CCR, représentée par Isabelle Cailleau, est l'interlocuteur privilégié de Santé publique France pour toutes les démarches administratives et financières. La Coordination des Centres de Référence soutient les CNR dans une dynamique transversale, assurant les missions décrites ci-dessous (Figure 1B):

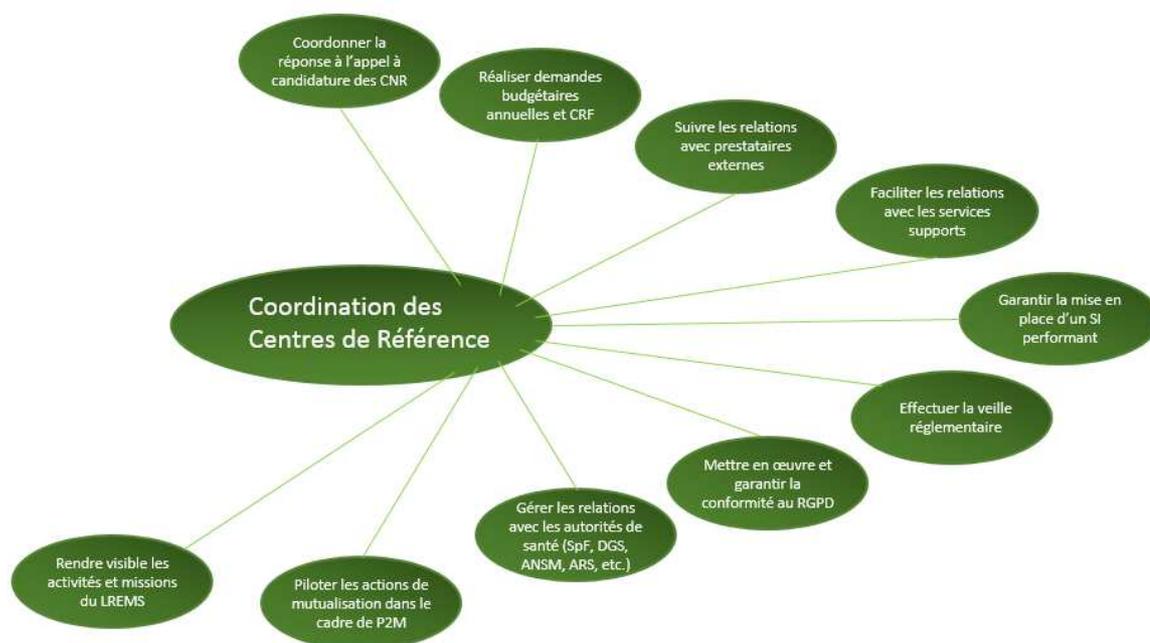
- contribuer à ce que les CNR disposent des ressources (financières, humaines, matérielles, etc.) nécessaires pour répondre à leurs missions, en assurant la coordination avec les Directions, plateformes et services support internes,
- coordonner les actions transversales du LREMS ayant pour objectif d'apporter des améliorations fonctionnelles et organisationnelles ;
- gérer les relations avec les autorités de santé (SpF, DGS, ANSM, ARS, OMS, etc.) et coordonne la réponse à l'appel à candidature quinquennal lancé par Santé publique France (SpF) ;

- construire en lien étroit avec le service de gestion et les responsables de CNR les demandes budgétaires annuelles et exécute les comptes rendus financiers
- assure la veille juridique et la conformité réglementaire.

La réponse de l'Institut Pasteur à l'appel à candidatures pour le mandat 2023-2027 comprend une partie commune à l'ensemble des projets de CNR, décrivant l'organisation générale et les moyens supports mis à disposition des unités hébergeant un CNR, de manière à permettre à chaque CNR de répondre à ses missions dans les meilleures conditions. Ces éléments communs, sont décrits ci-dessous, et répondent aux exigences du dossier de candidature.

L'organisation telle qu'elle est décrite dans ce document détaille l'aide apportée par l'Institut Pasteur aux CNR qu'il héberge. Dans un contexte environnemental, économique et social où le risque d'émergence ou de ré-émergence de pathologies infectieuses est clairement identifié, la Direction de l'Institut Pasteur soutient avec une très forte détermination les CNR, en mobilisant un ensemble de ressources, plateformes et services au bénéfice des missions qui leur sont confiées, et en leur garantissant l'accès à un environnement hautement innovant en matière scientifique et technologique.

Figure 1B. Les missions principales de la Coordination des Centres de Référence.



2.2.2. Unités et Plateformes partenaires des CNRs

En plus du soutien et de l'encadrement par la Direction de l'Institut Pasteur, par les unités de recherche et la CCR (Figure 1), les CNR bénéficient de l'accompagnement, des compétences et de la collaboration d'unités de recherche et plateformes décrites dans ce chapitre.

La Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU)

La CIBU, dirigée par Jean-Claude Manuguerra, a pour mission principale mission la réponse aux « urgences biologiques spécialisées » qui se définissent comme les urgences liées à des épidémies, des accidents ou des attentats utilisant des armes biologiques, pouvant mettre en danger la santé publique et nécessitant des compétences et/ou des moyens spécialisés en virologie et bactériologie.

La CIBU a deux modes d'intervention :

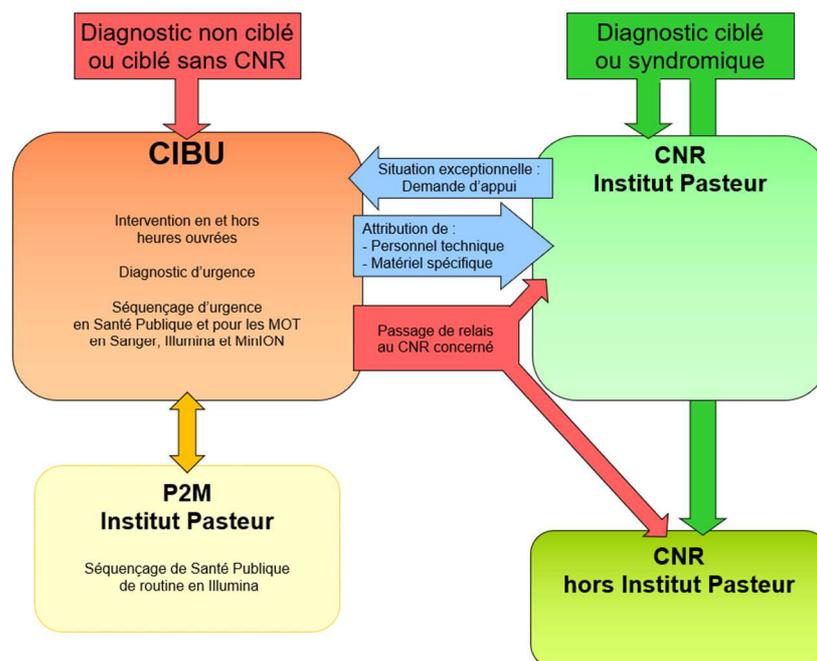
- un mode direct dans lequel elle agit comme un laboratoire autonome et réalise, à l'instar des Centres Nationaux de Référence (CNR) hébergés à l'Institut Pasteur, des examens de biologie médicale pour lesquels elle est accréditée selon la norme NF EN ISO 15189 ;
- un mode indirect dans lequel la CIBU devient une entité d'appui technique et scientifique, permettant à l'ensemble des CNR et des CCOMS, qu'ils soient situés à l'Institut Pasteur ou ailleurs, de répondre efficacement aux « urgences biologiques spécialisées ». Les actions mises en œuvre par la CIBU ont pour objectif la rapidité et l'efficacité des réponses aux situations d'urgences. Elle est incluse dans le Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site (LREMS), et est liée opérationnellement à la plateforme P2M, ce qui permet :
 - l'accès à des technologies complémentaires (comme les séquençages MinION et Sanger, qui peuvent être adaptées pour des demandes en urgence, y compris hors heures ouvrées) ;
 - la prise en charge initiale de pathogènes non identifiés, dès leur réception, avant orientation vers le CNR adapté (s'il existe). cf. schéma d'organisation ci-dessous ;
 - la prise en charge de pathogènes relevant d'une classification « MOT » (micro-organismes et toxines hautement pathogènes). cf. éléments ci-dessous.

La CIBU fonctionne avec un Système d'Astreintes Microbiologiques (SAM) destiné à être opérationnel 7 jours sur 7 et 24 heures sur 24. Le SAM fonctionne en binôme avec un cadre et un technicien, et cette organisation s'appuie sur le personnel de la CIBU, ainsi que certains personnels habilités travaillant dans d'autres entités de l'Institut Pasteur.

Par ailleurs, en cas d'épidémie, la CIBU se déploie pour apporter une aide en ressources matérielles et humaines aux CNR (Figure 2), comme cela a été le cas sur la période 2020-2022 au cours de la crise liée à la pandémie de COVID-19 : mise à disposition de personnel technique compétent auprès du CNR des Virus des Infections Respiratoires (VIR) à Paris ainsi qu'auprès du CNR laboratoire associé VIR à l'Institut Pasteur de la Guyane.

Sa capacité de mobilisation à l'étranger et son savoir-faire (par exemple lors de l'épidémie d'Ebola en Afrique de l'Ouest entre 2014 et 2016) sont des atouts supplémentaires pour avoir accès à des informations précieuses en cas de crises sanitaires susceptibles d'impacter fortement la santé publique sur le territoire national.

Figure 2. Schéma décrivant le fonctionnement de la CIBU.



La Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M), une offre de séquençage à haut débit

Crée en 2015, la Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) est dédiée à l'ensemble des CNR, intra et extra-pasteuriens, ainsi qu'aux laboratoires de référence dans Pasteur Network. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M prend en charge toutes les demandes des CNR et opère en routine du séquençage à haut débit multi-pathogènes (NGS par la technologie Illumina).

De 2015 à 2020, la plateforme P2M s'est adaptée aux demandes croissantes de séquençage des CNR, avec une augmentation annuelle d'environ 3%. En 2021, devenue plateforme nationale de séquençage du dispositif EMERGEN, elle a multiplié par trois sa capacité de séquençage en l'espace de quelques semaines, tout en maintenant son offre de séquençage pour les autres CNR. En 2021, P2M a séquençé 37 503 variants de SARS-CoV-2 pour le CNR Virus des Infections Respiratoires.

Placée sous la responsabilité de Vincent Enouf, P2M est localisée depuis 2018 dans le bâtiment Simone Veil qui héberge le pôle d'expertise *Omic*s qui allie une double compétence : séquençage et bio-informatique. Cette structure rapproche différents domaines d'expertise au service de la santé telle que la biologie, l'informatique, les mathématiques, les statistiques, la physique et les sciences sociales et positionne l'Institut Pasteur comme un acteur de niveau mondial capable de générer des données massives en santé et surtout de les analyser et d'en extraire les connaissances nécessaires à une meilleure compréhension du vivant et à l'amélioration de la santé.

Le regroupement de ces structures a permis de mutualiser les locaux et de favoriser les échanges afin d'optimiser les processus de production de séquences. L'Institut Pasteur fait également appel au savoir-faire de la société IntegraGen dans le domaine de l'organisation du séquençage NGS. Celle-ci apporte une organisation rigoureuse et adaptée qui permet de limiter les coûts, tout en assurant la rapidité et la régularité de production des séquences. Cette méthode, devenue une référence en termes de surveillance épidémiologique a fait la preuve de son efficacité tant au niveau du processus haut débit de séquençage qu'en termes de qualité des séquences produites.

L'équipe, composée de 3 techniciennes supérieures à temps plein, salariées de l'Institut Pasteur, est complétée par du personnel de la société IntegraGen (un chef de production, 3 techniciennes, et si nécessaire, un technicien en cas d'absence ou d'urgence). Des bio-informaticiens missionnés par le Hub Bioinformatique et Biostatistique de l'Institut Pasteur réalisent les tests de qualification en sortie de séquenceur et apportent également leur aide, si besoin, aux laboratoires, pour la mise en place de « pipelines » d'analyse des séquences. Depuis 2021, cinq bio-informaticiens (4,1 Equivalents Temps Plein) apportent leurs compétences aux CNRs.

Le séquençage est réalisé avec la technologie Illumina. Les banques d'ADN sont préparées avec le kit Nextera XT (Illumina) et engagées sur le séquenceur NextSeq 500 (et NextSeq 2000 à venir). Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN avant d'entrer dans le pipeline de production. Le protocole de fabrication de librairies est unique quel que soit le pathogène concerné (bactéries, virus, champignons ou parasites). Ce choix permet d'optimiser les délais et, ainsi, d'intégrer cette technologie dans le panel des outils de surveillance microbiologique. Les librairies sont préparées tout au long de la semaine, et depuis février 2021, deux runs de séquençage sont lancés chaque jour. Les nouveaux séquenceurs apportent plus de flexibilité et diminuent les coûts. Plusieurs équipements sont en « libre-service », par exemple un extracteur automatique d'acides nucléiques (qui permet de réaliser l'extraction de grandes séries d'échantillons dans le cadre d'épidémie par exemple), ou le MALDI-TOF.

Au sein de l'Institut Pasteur, P2M est utilisée par le Centre collaborateur de l'OMS (CCOMS) pour la Recherche sur l'Epidémiologie et la macro-évolution des poliovirus et des entérovirus non-polio et par 12 CNR: Bactéries anaérobies et botulisme, Coqueluche et autres bordetelloses, Corynébactéries du complexe *diphtheriae*, Entérovirus et Vaccins viraux, *Escherichia coli-Shigella-Salmonella*, Hantavirus, Leptospirose, *Listeria*, Méningocoques et *Haemophilus influenzae*, Mycoses invasives et antifongiques, Rage, Peste et autres yersiniose, Vibrions et choléra, et Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe).

La demande externe à l'Institut Pasteur a évolué au cours du mandat 2017-2022, et P2M répond aujourd'hui aux demandes de séquençages de 6 CNRs en France qui sont les CNR :

- Résistance aux antibiotiques (Hôpital Bicêtre, AP-HP)
- Laboratoire associé / Résistance aux antibiotiques (Hôpital de Besançon)
- *Pseudomonas* (Hôpital de Besançon)
- Mycobactéries et de la résistance des Mycobactéries aux antituberculeux (Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP)
- Streptocoques (Hôpital Cochin, AP-HP)

- Echinococcoses (Hôpital de Besançon)

P2M répond également à la demande le séquençage de certains laboratoires de référence des unités de :

- Virologie Immunologie Porcines (ANSES, Ploufragan)
- Viral Diseases (Sciensano, Belgique)
- Human Bacterial Diseases (Sciensano, Belgique)

Le HUB de Bioinformatique et Biostatistique

Le HUB de bioinformatique et biostatistique a pour mission d'apporter un support en biologie computationnelle aux Unités de recherche et plateformes de l'Institut Pasteur. Au même titre que pour les unités de recherche, Le Hub, qui rassemble une cinquantaine d'experts en biostatistique et bioinformatique, met à disposition des CNR son expertise dans les domaines suivants :

- Développement de programmes, visualisation de données, calcul scientifique ;
- Analyse de séquençage d'ADN, détection de variants, GWAS, génomique comparative ;
- Taxonomie, Phylogénétique, Phylogénomique, Génotypage ;
- Epigénomique, Transcriptomique, Régulation, Single-cell Quantitatif ;
- Design experimental, Inférence & modélisation, Intelligence Artificielle ;
- Réseaux biologiques, Analyse de données Multi-omiques, Analyse fonctionnelle de données omiques ;
- Développement Web, UX design, Bases de données, Intégration de pipelines et d'outils ;
- Modélisation mathématique ;
- Métagénomique ;
- Stringologie.

Le Hub Bioinformatique et Biostatistique a fait la preuve de sa mobilisation dans le cadre d'urgences sanitaires, comme ça a été le cas quand s'est déclarée la pandémie de Covid-19. Dès fin mars 2020, il a participé à la curation des données du GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data), à la demande de ce dernier. Concrètement, l'équipe du Hub a traité près d'un tiers des génomes de SARS-CoV-2 soumis au GISAID, entre mars et août 2020 (de quelques dizaines à plusieurs centaines par jour) afin de valider la qualité et la fiabilité des séquences et leurs métadonnées. Il s'agit d'une part d'uniformiser les métadonnées afin de faciliter la recherche dans la base de données, et d'autre part de vérifier la cohérence des assemblages. Ces données sont entre autres utilisées par Nextstrain, un projet open source visant à proposer un instantané de l'évolution de populations de pathogènes via une interface moderne et réactive. Devant le nombre croissant de séquences déposées au GISAID (plus de 10 millions actuellement), le Hub a proposé la mise en place de protocoles de vérification automatique des dépôts et a participé à son déploiement dans les systèmes du GISAID.

Le Hub qui apporte toutes ses compétences en design expérimental, en traitement, analyse et modélisation de données, ou encore en développement de logiciels, pipelines et applications web reste tout particulièrement mobilisé sur les projets de santé publique.

A ce titre, le Hub s'est particulièrement investi sur le traitement des données de séquençage produites par le CNR VIR durant la crise COVID19. Dix ingénieurs du Hub ont été mobilisés pour analyser les données, vérifier la qualité des séquençages, identifier les mutations, isoler les variants d'intérêt, remonter les informations au CNR, et déposer les séquences dans des banques de données publiques. Les ingénieurs du Hub ont apporté toutes leurs expertises afin de mettre en place des procédures automatisées d'identification des nouveaux variants. Le Hub, en tant que plateforme membre de l'Institut Français de Bioinformatique (IFB), a également été invité à participer à la mise en place de la structure nationale de réponse au COVID19, dans le cadre du consortium EMERGEN. Par ce biais, et afin d'assurer un service continue au CNR, le Hub a recruté deux ingénieurs totalement dédiés à l'analyse des données génomiques. Outre les procédures de traitement des données COVID19, ces ingénieurs ont également mis en place de nouveaux protocoles d'analyse des données de grippe et du Virus respiratoire Syncitial. Ils ont bénéficié de l'environnement du Hub et des multiples expertises disponibles pour fournir au CNR un soutien sur l'ensemble des tâches impliquant des données génomiques.

La spectrométrie de masse

Si un gros effort a été fait depuis 2015 autour des technologies de séquençage, les CNRs ont aussi développé leur expertise en spectrométrie de masse, avec pour objectif d'offrir à la communauté scientifique une base de données créée à partir des souches reçues dans les CNRs pour compléter les bases de données commerciales proposées par les fabricants.

La spectrométrie de masse MALDI-TOF est devenue une méthode puissante pour l'identification des pathogènes bactériens ou fongiques, mais reste dépendante des bases de données de spectres de référence utilisés pour l'identification. Les CNR de l'Institut Pasteur ont accès à cette technologie via la Collection de l'Institut Pasteur, un composant du Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP). L'acquisition récente d'un appareil de nouvelle génération (SIRIUS, Bruker, Allemagne) étend le champ des applications possibles (analyses des lipides, comme par exemple pour la résistance à la colistine). Les CNRs contribuent au développement des bases de données, soit en créant des bases de données à façon plus précises que la base commerciale (clients) de Bruker, soit en collaborant via les unités de recherche avec Bruker pour la mise à jour de la base distribuée aux clients. Les CNRs contribuent ainsi à l'amélioration de l'identification des pathogènes, ce qui s'inscrit pleinement dans leur rôle de référence.

La Plateforme d'Innovation et de Développement de Tests Diagnostiques (PFDiag)

La Plateforme d'Innovation et Développement de Tests Diagnostiques (PFDiag), dirigée par Thierry Rose, a été créée en mai 2021, avec pour mission d'accompagner l'innovation et le développement de tests biologiques issus ou demandés par les équipes de l'Institut Pasteur, de son réseau international, ou d'autres institutions et organisations gouvernementales ou non gouvernementales dans le cadre de collaborations ou de services. Cette plateforme est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence du Pasteur Network. La plateforme propose le développement d'immuno-tests antigéniques ou sérologiques sur n'importe quel fluide, frottis ou lysat biologique dans une perspective de diagnostic de santé humaine, animale ou d'analyse environnementale. Deux types de tests sont développés, soit en plaques à puits multiples pour le très haut débit (2300 tests/heure par lecteur, 20 000/jour), soit sur bandelettes ou puces à usage unique au point du soin sur le terrain d'opération.

Cette PFDiag est localisée à proximité des plateformes de production et purification de protéines recombinantes (PFP3R), d'ingénierie d'anticorps (PFIA) et biophysique des interactions moléculaires (PFBMI) avec lesquelles elle travaille en continuité pour la production des protéines cibles (PFP3R), la sélection des anticorps spécifiques utilisés dans les immuno-tests (PFIA) et leurs spécifications et qualités (PFBMI).

La PFDiag a soutenu le CNR des Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) dans le cadre de la surveillance trimestrielle de la séroprévalence contre le SARS-CoV-2 en métropole et les outre-mer à la demande de SpF. Cette surveillance se poursuit en 2022 avec une titration des IgG spécifiques de la Spicule et de la Nucléoprotéine du SARS-CoV-2 par LuLISA (luciférase-linked immunosorbent assay). C'est une méthode de type ELISA utilisant un VHH ou nanobody (fragment variable de la chaîne lourde d'IgG d'alpaga) comme sonde spécifique du domaine Fc des IgG humaines, couplée à une luciférase (enzyme rapporteur bioluminescent). Cent fois plus sensible que l'ELISA, avec une dynamique sur 5 ordres de grandeur au lieu de 2 en absorbance et 4 en fluorescence, les LuLISA permettent des lectures plus rapides, et une production optimisée des réactifs à très bas coût. Cette technique a été utilisée avec succès dans le cadre de l'Etude SeroPrev-Cov-19 conduite à l'initiative de Santé publique France. Ces tests ont été étendus à la détection des IgA, IgM, IgE, IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4 pour la sérologie, spicules et nucléoprotéines des SARS-CoV pour les antigènes. La PFDiag dispose aujourd'hui d'une banque de séquences de 22000 VHH dont 4500 pour des cibles spécifiques, qui pourraient être mises à profit pour le diagnostic ou des études de séroprévalence pour d'autres pathogènes.

Le Centre de Ressources et Recherches Technologiques (C2RT)

Le Centre de Ressources et Recherches Technologiques (C2RT), dirigé par Michael Nilges et Anna Kheres, rassemble les Unités de Technologie et de Service (UTechS) et Plateformes technologiques de l'Institut Pasteur. Il a pour mission d'accompagner les équipes de recherche et les départements scientifiques dans l'atteinte de leurs objectifs.

scientifiques en répondant à leurs besoins technologiques présents et futurs et s'appuie sur 4 unités de technologie et de service et 15 plates-formes couvrant un grand nombre de domaines technologiques.

Les CNRs selon leurs besoins peuvent faire appel aux technologies déployées par les plateformes du C2RT, dont l'offre est détaillée sur le site internet de l'Institut Pasteur, à l'adresse suivante : <https://research.pasteur.fr/fr/center/c2rt/>

L'unité de Modélisation Mathématique des Maladies Infectieuses

L'unité Modélisation mathématique des maladies infectieuses, dirigée par Simon Cauchemez depuis 2013, a pour principal objectif de développer des méthodes statistiques et mathématiques de pointe pour analyser et comprendre la façon dont les agents pathogènes se propagent dans les populations humaines, et évaluer l'impact des actions de santé ou des interventions dans le domaine de la santé publique sur le comportement et la santé des populations. L'approche pluridisciplinaire de cette unité consiste à examiner les maladies infectieuses sous de multiples angles (statistiques, modélisation, épidémiologie, surveillance, santé publique, élaboration de politiques, microbiologie), à de multiples échelles et à de multiples flux de données. Les modèles obtenus à partir de ces analyses permettent des projections sur le niveau de propagation de ces agents pathogènes, et d'émettre des hypothèses sur l'évolution d'une épidémie dans un contexte défini et une population donnée. Ces analyses constituent des outils éclairants pour l'élaboration des politiques et l'optimisation des stratégies de contrôle des épidémies.

2.2.3. Services et Directions en support à l'activité des CNR

Les différentes directions et services impliquées dans le fonctionnement du LREMS sont :

La **Direction Médicales (DM, Pierre BUFFET)**, responsable de l'ensemble des activités liées à la santé publique et au développement de la recherche clinique à l'Institut Pasteur. Le service de Coordination des Centres de Référence, dont il dépend, est l'interlocuteur privilégié de Santé publique France pour toutes les démarches administratives et financières. Ce service est actuellement dirigé par Isabelle CAILLEAU.

La **Direction des Ressources Techniques et de l'Environnement (DRTE)**, certifiée NF EN ISO 9001, met à la disposition du LREMS les ressources de son périmètre dont le service Qualité, Déchets, Stérilisation et Entretien et Développement Durable) pour répondre aux exigences de la NF EN ISO 15189 et pour assurer le bon fonctionnement du LREMS. La DRTE apporte son soutien aux CNRs à travers les différents services qui la compose :

- Le **Service Qualité** a la responsabilité d'organiser et d'accompagner les entités de l'Institut Pasteur dans leur démarche qualité et de coordonner les audits qualité internes. Il participe également à la mise en place d'outils et d'actions d'amélioration et propose des sessions de formation à la qualité. Il gère également la métrologie pour les entités sous démarche qualité de l'Institut Pasteur. Les prestations de la cellule métrologie sont disponibles sur leur page intranet. Le laboratoire de métrologie propose aux entités de l'Institut des prestations internes qui suivent une démarche conforme aux exigences de la norme NF EN ISO 17025.
- Le **Service Déchets Stérilisation Entretien** gère les déchets dangereux (chimiques et infectieux) et valorisables (papier, carton, déchet d'équipement électrique et électronique...), ainsi que les prestations de nettoyage des locaux et de dératisation/désinsectisation.
- Le **Service Prévention des Risques** assure l'évaluation et la prévention des risques du personnel de l'Institut Pasteur et des sociétés extérieures présentes sur le campus. Il organise et/ou réalise les formations réglementaires et celles nécessaires aux processus d'autorisations et d'habilitations. Ce service veille également à l'application de la réglementation (contrôles réglementaires des locaux, des équipements, MOT...). En collaboration avec le Département de Santé au travail, il gère les accidents du travail et autres incidents qui peuvent survenir sur l'ensemble du campus.
- Le **Services Logistique et Sûreté** gère la sûreté, la réception et l'expédition du courrier, des colis (en particulier les réactifs et les produits biologiques) et des équipements du campus et assure les livraisons internes dans les entités en veillant à l'application de la réglementation pour le transport de matières dangereuses.
- Le **Service Immobilier et Technique**, et en particulier le pôle équipement, est chargé de la maintenance des équipements scientifiques et du suivi métrologique de certains d'entre eux (autoclaves, pipettes, sondes

Océasoft, ...). Ce pôle réalise également l'installation, la maintenance et la supervision des alarmes centralisées de matériels.

- Le **Service de Préparation** apporte aux laboratoires un support essentiel à la réussite du travail des équipes scientifiques (stérilisation de la verrerie, fabrication des milieux, tampons, solutions...). En vue d'un travail en cohérence avec les démarches qualité des laboratoires de référence et d'expertise.

La **Direction des Ressources humaines (DRH)** coordonne les fonctions de recrutement et de gestion des carrières, de formation et de développement social, de gestion administrative du personnel, de relations sociales, et de santé au travail. Elle est impliquée à plusieurs niveaux :

- Le **Pôle de recrutement** organise le recrutement et l'intégration du personnel au sein de l'institution. L'intégration au sein des CNRs est sous la responsabilité des responsables de CNR. Chaque CNR s'assure de l'habilitation du personnel, et du maintien des compétences par des pratiques internes.
- Le **Pôle formation** recueille les besoins en formations formulés lors des entretiens annuels d'évaluation par les responsables des CNsR mais également par le personnel, et le met en application.
- Le **Département de Santé et Prévention au Travail** gère le suivi médical de l'ensemble du personnel, en assurant les visites médicales annuelles ainsi qu'une permanence sur le campus de l'Institut Pasteur. Il intervient également dans la prévention du personnel dans la pratique de ses activités (sensibilisation, vaccinations nécessaires, conseils) et assure la gestion des accidents du travail (y compris l'exposition accidentelle aux agents pathogènes), et autres incidents pouvant survenir sur le campus.

La **Direction Financière (DF)** est en charge de la politique financière et sa mise en œuvre, de la préparation du budget et son exécution, de la comptabilité, de la paie, de l'établissement du bilan et des comptes annuels et de la gestion du patrimoine de l'Institut Pasteur. Deux services de la DF sont en interaction avec les CNR :

- Le **Département achat** assure l'interface entre les fournisseurs et l'Institut Pasteur dans la négociation des prix, le choix des produits en collaboration avec les CNR ainsi que le suivi des non-conformités des produits. Il accompagne les CNR dans le processus Achat en pilotant les consultations et les appels d'offres, et en mesurant la performance des fournisseurs et des prestataires. Le cas échéant, il règle également les litiges avec ces derniers.
- Le **Service de gestion** aide à l'établissement et au suivi des budgets des CNR, et donne à leurs responsables la visibilité nécessaire, les données et indicateurs qui les concernent pour les guider dans la gestion des dépenses selon les termes de la convention qui lie l'Institut Pasteur à SpF.

La **Direction Juridique (DJ)** accompagne sur le plan juridique les activités des CNR sur divers volets qui relèvent :

- De la mise en conformité : conseil sur des réglementations existantes ou nouvelles et veille réglementaire. En tant que de besoin, des groupes de travail internes mais également en lien avec Santé publique France sont mis en place (RGPD, DMDIV). Une politique spécifique à la prévention et la gestion des conflits d'intérêts au sein des CNR est en cours d'implémentation ;
- Des nécessités contractuelles : rédaction et négociation des contrats associés aux activités des CNRs ou à la mise à disposition d'échantillons et/ou données recueillis dans le cadre des activités du CNR (accord de consortium, contrat de collaboration, contrat de transfert de matériel, contrat de transfert des données).

La **Direction des Systèmes d'Informations (DSI)** offre aux CNR un support autour de trois axes principaux, étant en charge :

- D'accompagner les CNR dans le choix ou le développement de solutions informatiques adaptées, et d'encadrer la conduite et le pilotage de projets depuis leur lancement jusqu'au passage en exploitation/maintenance, en suivant les standards de la méthodologie la plus adaptée au contexte ;
- De garantir l'application des standards techniques et la mise en œuvre des recommandations juridiques/techniques et de sécurité des systèmes d'information suivant l'état de l'art ;
- De maintenir les systèmes d'informations utilisés par les CNR, de garantir leur sécurité, de gérer les problèmes de réseaux ou de serveurs et d'apporter à ce titre une aide aux utilisateurs lors de problèmes liés aux outils informatiques.

2.3. Capacités techniques du laboratoire candidat

2.3.1. Méthodes et marqueurs épidémiologiques disponibles

Les souches d'origine clinique, alimentaire ou environnementale font systématiquement l'objet des analyses suivantes qui ne sont pas des actes de biologie médicale (le CNRL n'ayant pas pour vocation, sauf circonstances exceptionnelles, à faire des analyses de première intention selon son cahier des charges de l'arrêté du 16/06/2016 et 02/03/2022), mais des analyses pour confirmer aux autorités compétentes (et au laboratoire correspondant) le cas ou l'alerte-produit :

- **Vérification de la pureté** des souches réceptionnées sur gélose nutritive (sous-processus de la méthode de l'étape Identification). Si la souche envoyée est un mélange de souches, elle est isolée sur gélose sélective chromogène ALOA® (AES Laboratoire, France) et sur gélose au sang de cheval (bioMérieux, France).

- **Identification du genre et de l'espèce** par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Allemagne) et recherche du caractère hémolytique, complétés par d'autres tests classiques si nécessaire (19, 20). Les tests biochimiques [galerie API-*Listeria*® (bioMérieux, France)] ne sont utilisés qu'exceptionnellement, en cas de panne du spectromètre de masse ou de résultats ambigus ou de détermination de la sous-espèce, ainsi que pour comparaison avec les résultats de laboratoires correspondants. L'identification des souches atypiques est confirmée par analyse du gène codant pour la sous-unité ribosomale 16S après amplification par PCR pour les souches non *Listeria* sp. ou par séquençage du génome en cas de *Listeria* sp.

- **Détermination du sérotype PCR** (Méthode accréditée ISO 15189 de 2015 jusque fin Octobre 2020) selon la méthode publiée par le CNRL en 2004 (21) et amendée en 2011 (22). Cette PCR multiplexe cible une partie de la séquence du gène *prs* présent dans l'ensemble des espèces décrites de *Listeria* et quatre autres gènes (*lmo1118*, *lmo0737*, *ORF2110*, *ORF2819*) spécifiques de *Lm*, permettant de déterminer le sérotype PCR. Cette PCR multiplexe peut-être effectuée directement sur colonie sur gélose de la souche envoyée par le correspondant. Le sérotype PCR est également identifié *in silico* à partir de la séquence génomique. La comparaison du sérotype PCR déterminé *in silico* avec celui déterminé *in vitro* est utilisée comme contrôle interne pour confirmer la concordance entre la séquence génomique et l'isolat correspondant. Le CNRL possède l'ensemble des sérums antifacteurs O et H commerciaux et de référence OMS pour réaliser sur demande (majoritairement hors France) le sérotypage classique des souches de *Listeria* spp.

- **Antibiogramme** de toutes les souches d'origine humaine en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations de l'EUCAST. Ces antibiogrammes sont effectués sur un panel de 22 antibiotiques dans un but épidémiologique. La lecture de l'antibiogramme est réalisée sur un automate Scan 4000 (InterScience) paramétré pour le référentiel CA-SFM/EUCAST en vigueur. Les éventuelles résistances sont confirmées par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par E-test. Les mécanismes des résistances identifiées sont ensuite étudiés (23, 24).

- **Séquençage du génome**. Les ADNs génomiques sont extraits (méthode DNeasy Blood & Tissue extraction kit (Qiagen, Danemark) et méthode Nucleospin tissue (Macherey Nagel, Allemagne)) et vérifiés en qualité par fluorimétrie. La préparation des bibliothèques est réalisée en utilisant le kit NEXTERA XT DNA Sample (Illumina, Californie, USA) et les séquences génomiques sont déterminées sur la plateforme Illumina NextSeq 500 (Illumina, Californie, USA). L'assemblage est réalisé avec le logiciel SPAdes. Le profil cgMLST est extrait du génome assemblé par l'algorithme BLASTN implémenté sur la plateforme BIGSdb-*Lm* (<http://bigsdbs.pasteur.fr/listeria>) puis transféré dans le logiciel bioNumerics version 7.6 pour réaliser les comparaisons et analyses. Cette méthode cgMLST est utilisée depuis le 1^{er} janvier 2017 en routine pour la surveillance, en remplacement de la PFGE. L'analyse des génomes permet également la caractérisation de gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques et désinfectants/biocides.

D'autre part, en cas de nécessité, les analyses suivantes peuvent être effectuées:

- **Typage MLST par PCR multiplexe.** L'appartenance à un clone MLST peut être déterminée rapidement par une méthode de PCR multiplexe (PCR de clonogrouping) développée et brevetée par le CNRL (25). Cette méthode permet de positionner rapidement les souches par rapport aux clones MLST majeurs et d'ainsi prédire le potentiel infectieux des souches (26).

- **Séquençage de troisième génération** pour obtenir les séquences génomiques en un délai court (Oxford Nanopore Technologies, UK). Cette technologie permet aussi de générer des séquences longues permettant un meilleur assemblage génomique.

- **Caractérisation éventuelle de la virulence de souches de *Lm*** par inoculation par voie orale ou parentérale de gerbilles ou de souris humanisées et/ou par des tests *in vitro*.

Le CNRL ne réalise donc pas d'acte de biologie médicale, et notamment pas :

- de **sérologie**;
- d'**hémoculture ou de culture de tissus ou fluides** (placenta, méconium, etc.) pour la détection de *Lm*;
- de **PCR ou qPCR** sur LCR ou d'autres échantillons cliniques à visée diagnostic, qui sont effectuées au LABM de l'Hôpital Necker-Enfants Malades;
- de **coproculture à *Lm***.

2.3.2. Maintien, détention et diffusion de matériel biologique

2.3.2.1. Les différentes collections de souches bactériennes

Le CNRL assure la gestion des collections en conformité avec l'article L1413-8 du code de la santé publique. Il existe 8 catégories de souches reçues au CNRL :

1. **souches humaines:** souches ayant été à l'origine de cas cliniques.
2. **alerte sanitaire:** souches d'origine alimentaire ou issues de l'environnement de production de ces aliments, isolées dans le cadre d'investigation de cas groupés ou d'épidémies et lors d'enquêtes ponctuelles autour d'un cas, à la demande de l'InVS, de la DGS, de la DGAL ou de la DGCCRF.
3. **alerte-produit:** souches d'origine alimentaire ou issues de l'environnement de production de ces aliments, isolées dans le cadre de contrôles officiels ou autocontrôles faisant l'objet d'une alerte DGAL avec saisie, retrait, ou rappel de produit. Ces « alertes-produits » correspondent soit à des « non-conformités » aux critères réglementaires fixés pour les aliments (présence de *Lm* ou dépassement du seuil de 100 *Lm*/g-ml), soit à des situations considérées par la DGAL comme des menaces pour la santé publique.
4. **plans de surveillance/contrôle et contrôles officiels** placés sous la responsabilité de la DGAL et de la DGCCRF/DGDDI. Pour cette catégorie, dès lors que l'on se trouve en situation d'alerte telle que décrite au point 3 ci-dessus, la souche passe de la catégorie 4 à la catégorie 3.
5. **autocontrôles:** Les souches provenant de « clients » particuliers (industriels dans le cadre d'autocontrôles, laboratoires vétérinaires départementaux (LVD), laboratoires privés d'hygiène et de contrôle, etc).
6. **santé animale:** souches transmises par les LVD dans le cadre de la surveillance de la santé animale.
7. **études et projets de recherche:** souches isolées lors d'enquêtes, d'études sur un type de produit ou une filière particulière, ou dans le cadre de projets de recherches.
8. **environnement:** souches environnementales (eau, aliments pour animaux, sol, boues de station d'épuration, etc.)

Les collections suivantes permettent de disposer d'une large banque de souches, utile dans le cas d'investigations de clones épidémiques pour identifier leur origine géographique, temporelle ou leur source, ou dans le cadre de validation de méthodes:

- La **collection de souches types des espèces de *Listeria*** (29 espèces, 4 sous-espèces) et des 15 souches de **référence pour la lysotypie** (conservation en géloses profondes, pièce à température contrôlée 10±2°C, et à -80°C en tubes de cryo-billes dans un congélateur sous alarme) (27).

- La **collection de *Listeria* de l'Institut Pasteur (CLIP)** comportait 116.616 souches françaises ou internationales caractérisées et leurs métadonnées à la fin de l'année 2020 (conservation en géloses profondes, pièce à température contrôlée 10±2°C, et à -80°C en tubes de cryo-billes dans un congélateur sous alarme pour les souches humaines, et les souches non humaines depuis 2017). Ces souches sont d'origine clinique, alimentaire et environnementale, ainsi que vétérinaire ou de recherche. Une base de données Lagon regroupe l'ensemble des métadonnées sur ces souches (ainsi que des données cliniques minimales pour les isolats humains). Une base de données BioNumerics et BIGSdb-*Listeria* permettent de stocker les données de PFGE et de génomique, respectivement, associées aux souches caractérisées par ces méthodes. Environ 64.781 souches de cette collection proviennent du CNRL et de la collection du CNRL alors hébergé au CHU de Nantes. **Il s'agit d'une collection unique, de par son caractère prospectif et exhaustif**, qui centralise les souches humaines et alimentaires du système de surveillance français.
- La **Special *Listeria* Culture Collection (SLCC)** ou collection de *Listeria* d'H.P.R. Seeliger (Würzburg, Allemagne) de plus de 5.000 souches caractérisées phénotypiquement et isolées entre 1921 et 1985 de diverses origines géographiques, mais majoritairement France et Allemagne (conservation en géloses profondes, pièce à température contrôlée 10±2°C) dont la première souche de *L. monocytogenes* (1921). Une base de données regroupe l'ensemble des données sur ces souches (28, 29).
- La **collection du Technical Committee on Food Microbiology of ILSI North America** de 25 souches représentant la diversité des *Lm* et de 18 souches d'épidémies, mises à disposition du CC-OMS (Conservation à -80°C en tubes de cryo-billes dans un congélateur sous alarme). Elles sont utilisables pour évaluer et valider des méthodes d'analyse ou de typage moléculaire et réaliser des essais de microbiologie prévisionnelle ou de croissance/survie. Elles sont conservées à -80°C en tube de cryobilles dans un congélateur sous alarme.
- La collection du **Centre de Ressource Biologique de l'Institut Pasteur (CRBIP)** comprenant la Collection de l'institut Pasteur où le CNRL a déposé depuis 2004 sous contrat 152 souches qui constituent un échantillon représentatif des souches françaises humaines et non humaines du genre *Listeria* isolées de 1981 à nos jours (souches d'épidémies, de travaux de séquençage, de sérovars rares, de référence, types, etc.) ainsi que les souches de référence de taxonomie et de sérotypie. (Liste disponible à <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/biobanques-collections/centre-ressources-biologiques-institut-pasteur-crbip> et disponibles moyennant une somme couvrant les frais d'envoi et de maintien en collection sous assurance qualité).

2.3.2.2. Les sérums

Le CNRL produisait les 13 sérums dirigés contre les antigènes somatiques de *Listeria*, et si nécessaire les 5 sérums anti-flagellaires, utilisés pour la caractérisation antigénique des souches de *L. monocytogenes* et des autres espèces de *Listeria*. Depuis l'abandon de la sérotypie au profit du groupage par PCR multiplexe (21), la production en routine de ces sérums a été arrêtée, mais un stock minimum est maintenu pour la détermination des sérotypes rares. Le CNRL détient également l'ensemble des sérums Denka Seiken (Japon) commerciaux de sérotypage des principaux sérotypes de *Lm*, qui ne sont plus commercialisés à ce jour en Europe.

2.3.2.3. Les bactériophages

Le CNRL héberge la collection de bactériophages (et des souches *Listeria* de propagation) de lysotypie du Centre International de Lysotypie des *Listeria* (1982-1992; Institut Pasteur, Paris). Cette collection présente un intérêt du fait des nouveaux outils diagnostics fondés sur l'utilisation des phages, leur utilisation potentielle en thérapeutique et en sécurité microbiologique des denrées alimentaires telle que le phage P100 ayant obtenu l'autorisation GRAS (Generally Recognized As Safe) par la FDA aux USA et l'utilisation d'emploi en Europe en 2019.

2.3.2.4. Conditions de mise à disposition des collections

Les souches sont mises en collections selon les procédures adaptées à chaque microorganisme et gérées par le CNR qui en a l'expertise. Les CNR peuvent en outre s'appuyer sur le Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP) pour la conservation et la distribution de souches de référence, ou pour l'obtention de souches d'autres origines à des fins d'études comparatives.

L'accès aux souches, aux prélèvements biologiques et données associées, collectés dans le cadre de l'activité des CNR, est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place *a minima* d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement -MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties.

A l'issue du mandat du CNR, si celui-ci n'est pas renouvelé, l'Institut Pasteur remettra au nouveau CNR identifié, l'intégralité des échantillons collectés au cours du mandat conformément au Décret n°2016-806 du 16 juin 2016 et à l'arrêté du 02 mars 2022.

Les CNR entendent également respecter les dispositions de l'article L.1413-8, 3° du code de la santé publique qui institue une Collection nationale de ressources biologiques d'intérêt pour la santé publique dont les textes d'application sont attendus.

2.3.2.5. Dossiers règlementaires

Le CNRL ne possède pas de collections d'échantillons humains et n'utilise pas d'organismes génétiquement modifiés. Le genre *Listeria* ne contenant pas de MOT listés à l'article L5139-1 du Code de la Santé Publique, le CNRL n'est pas soumis à cette réglementation.

2.3.3. Maintien et détention des bases de données

2.3.3.1. La base de données de séquences

BIGSdb-*Listeria* (<https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/listeria.html>)

Le CNRL, en collaboration avec Sylvain Brisse (Unité de Biodiversité et Épidémiologie des Bactéries Pathogènes, Institut Pasteur), a créé en 2014 la base de données de cgMLST qui héberge aussi la base de données MLST (précédemment PubMLST-*Listeria*, créée en 2012). BIGSdb-*Listeria* est hébergée par l'infrastructure informatique de l'Institut Pasteur et utilise le code source développée par Keith Jolly (Université d'Oxford). Cette base contient l'ensemble des outils informatiques, séquences d'allèles et profils alléliques de MLST, cgMLST, genosero grouping, virulence, résistance, entre autres, ouverte et accessible en ligne à la communauté scientifique. Des projets privés peuvent être établis par des demandeurs. À la fin de l'année 2021, la base contenait plus de 71.500 génomes publics ou privés de *Listeria*. Entre 2017 et 2021, le CNRL (A. Moura) a curé 57.625 génomes de *Listeria* de 82 pays. Ce système partagé favorise les échanges et les collaborations internationales sur l'étude de la structure génétique des populations de *Listeria*. De même, le personnel du CNRL a participé, en tant que curateurs, au cours international '*Bacterial strain nomenclature applied to international epidemiological surveillance: A theoretical and Hands-on Course*' des 29-30 Octobre 2018. Le CNRL, en accord avec les pays dépositaires d'une urgent inquiry (UI) de l'ECDC, dépose la séquence de la souche référente de l'UI dans BIGSdb avec son type et profil cgMLST pour que les utilisateurs de BIGSdb puissent utiliser cette information à des fins de comparaison.

Base de données et outil de comparaison PFGE/cgMST: Logiciel Bionumerics 7.6° (Applied Maths)

Le CNRL possède une base de données des profils de macrorestriction des souches réceptionnées au CNRL depuis 2005 qui comporte outre les 17.718 profils de macrorestriction et 19.950 profils cgMLST.

2.3.3.2. Les conditions de mises à disposition

Une consultation publique ou privée est possible. Le déposant définit le cadre des dépôts et des consultations pour la partie privée. Sauf réquisition écrite auprès du CNRL par les autorités compétentes, la Justice ou avec l'accord écrit du tiers privé ou de l'organisme étranger concerné, les données privées ne sont pas communicables aux autorités.

2.3.4. Plan de continuité d'activité et de montée en charge en cas de situation sanitaire exceptionnelle

En cas de crise sanitaire demandant sa montée en charge, le CNRL est en mesure de réceptionner des souches 24h/24h, 7j/7j, met en place sa procédure qualité de mode dégradé et peut bénéficier d'un renfort en personnel auprès de la cellule d'intervention d'urgence des risques biologiques (CIBU) de l'Institut Pasteur, dont des techniciens sont habilités aux méthodes du CNRL.

Au sein de l'Institut Pasteur, le CNRL fait partie du plan de continuité qui est une organisation minimale du CNRL permettant d'assurer la continuité de ses activités en période de crise sanitaire exceptionnelle ce qui a été activé à la demande de la DGS-CORRUSS durant les confinements et les manques de consommables/réactifs de de mars 2020 à 2021 durant la pandémie SARS-CoV2 et fonctionnel. Elle a permis au CNRL de conserver une autonomie de fonctionnement humain, matériel et de la maintenance de la collection.

3. BILAN 2023-2027 DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

3.1. Les activités scientifiques au titre de l'expertise microbiologique

Le CNRL travaille en lien avec l'Unité de Biologie des Infections qui l'héberge à l'Institut Pasteur. Ceci permet de développer des projets de recherche à l'interface entre les activités de surveillance du CNRL et les activités de recherche fondamentale de l'Unité.

Chaque année, l'Institut Pasteur attribue un budget propre au CNRL et au CC-OMS en complément de celui octroyé par SPF pour le CNRL. Outre son utilisation pour le financement de personnels, d'équipements et de frais de fonctionnement, ce budget permet de développer des projets de recherche qui sont à l'interface entre les activités de surveillance du CNRL et les activités de recherche de l'Unité.

3.1.1. Contributions aux études épidémiologiques

Les paragraphes en anglais correspondent soit aux résumés des publications, soit aux actes de colloques non disponibles sur le web. L'ensemble de ces publications sont disponibles sur l'archive ouverte nationale web HAL pasteur.

Cross-border outbreak of listeriosis caused by cold-smoked salmon, revealed by integrated surveillance and whole genome sequencing (WGS), Denmark and France, 2015 to 2017

En collaboration avec M. Tourdjman et E. Laurent (SPF), M.-P. Donguy (DGAI)

Article publié: Schjorring S, Gillesberg Lassen S, Jensen T, Moura A, Kjeldgaard JS, Muller L, Thielke S, Leclercq A, Maury MM, Tourdjman M, Donguy MP, Lecuit M, Ethelberg S, Nielsen EM. 2017. Cross-border outbreak of listeriosis caused by cold-smoked salmon, revealed by integrated surveillance and whole genome sequencing (WGS), Denmark and France, 2015 to 2017. Euro Surveill 22. (30)

Multi-country outbreak of Listeria monocytogenes sequence type 8 infections linked to consumption of salmon products

Joint ECDC-EFSA rapid Outbreak assessment publié: Eindöder-Moreno M, Kotila S, Niskanen T, Severi E, Takkinen J, Amore G, Guerra B, Liebana EC, Mangoe I, Rizzi V, Felix B, Leblanc JC, Schjorring S, Muller L, Tourdjman M, Leclercq A, Maury M, Lecuit M, Halbedel S, Holzer A. Multi-country outbreak of Listeria monocytogenes sequence type 8 infections linked to consumption of salmon products – 25 October 2018. Stockholm and Parma; ECD/EFSA; 2018. (<https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/Listeria-multi-country-outbreak-october-2018.pdf>)

Multi-country outbreak of Listeria monocytogenes serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables

L'urgent inquiry UI-444, dont la France avait identifié l'origine par un résultat d'autocontrôle en 2017

Joint ECDC-EFSA Rapid Risk assessment publié: RRA, Marc Lecuit, Alexandre Leclercq, Mylène Maury, Alexandra Moura co-auteurs) sur le site de l'ECDC: Multi-country outbreak of Listeria monocytogenes serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448>)

Outbreak of listeriosis in South Africa associated with processed meat

En collaboration avec J. Thomas, NICD, Johannesburg, Afrique du Sud

Article publié: Thomas J, Govender N, McCarthy KM, Erasmus LK, Doyle TJ, Allam M, Ismail A, Ramalwa N, Sekwadi P, Ntshoe G, Shonhiwa A, Essel V, Tau N, Smouse S, Ngomane HM, Disenyeng B, Page NA, Govender NP, Duse AG, Stewart R, Thomas T, Mahoney D, Tourdjman M, Disson O, Thouvenot P, Maury MM, Leclercq A, Lecuit M, Smith AM, Blumberg

LH. Outbreak of Listeriosis in South Africa Associated with Processed Meat. *N Engl J Med.* 2020 Feb 13;382(7):632-643. (16)

Listeria spp. isolated from tonsils of wild deer and boars: genomic characterization

En collaboration avec JJ. QUEREDA (Faculté Vétérinaire, Valence, Espagne)

Article publié: Palacios-Gorba C, Moura A, Leclercq A, Gómez-Martín Á, Gomis J, Jiménez-Trigos E, Mocé ML, Lecuit M, Quereda JJ. *Listeria spp. Isolated from Tonsils of Wild Deer and Boars: Genomic Characterization.* *Appl Environ Microbiol.* 2021 Feb 26;87(6):e02651-20. (31)

Ruminant-associated Listeria monocytogenes isolates belong preferentially to dairy-associated hypervirulent clones: a longitudinal study in 19 farms

En collaboration avec JJ. Quereda (Faculté Vétérinaire, Valence, Espagne)

Article publié: Palacios-Gorba C, Moura A, Gomis J, Leclercq A, Gómez-Martín Á, Bracq-Dieye H, Mocé ML, Tessaud-Rita N, Jiménez-Trigos E, Vales G, García-Muñoz Á, Thouvenot P, García-Roselló E, Lecuit M, Quereda JJ. *Ruminant-associated Listeria monocytogenes isolates belong preferentially to dairy-associated hypervirulent clones: a longitudinal study in 19 farms.* *Environ Microbiol.* 2021 Dec;23(12):7617-7631. (32)

Whole-genome sequencing-based characterization of 100 Listeria monocytogenes isolates collected from food processing environments over a four-year period

En collaboration avec S. Fanning, University College, Dublin, Ireland

Article publié: Hurley D, Luque-Sastre L, Parker CT, Huynh S, Eshwar AK, Nguyen SV, Andrews N, Moura A, Fox EM, Jordan K, Lehner A, Stephan R, Fanning S. *Whole-Genome Sequencing-Based Characterization of 100 Listeria monocytogenes Isolates Collected from Food Processing Environments over a Four-Year Period.* *mSphere.* 2019 Aug 7;4(4). (33).

LiSEQ - whole-genome sequencing of a cross-sectional survey of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods and human clinical cases in Europe

En collaboration avec T.J. Dallman, Public Health England, London, UK

Article publié: Painset A, Björkman JT, Kiil K, Guillier L, Mariet JF, Félix B, Amar C, Rotariu O, Roussel S, Perez-Reche F, Brisse S, Moura A, Lecuit M, Forbes K, Strachan N, Grant K, Møller-Nielsen E, Dallman TJ. *LiSEQ - whole-genome sequencing of a cross-sectional survey of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods and human clinical cases in Europe.* *Microb Genom.* 2019 Feb; 5(2) (34).

Exceptionally large and country-wide outbreak of invasive listeriosis associated with blood sausage consumption, Germany 2018-2019

En collaboration avec S. Halbedel, Robert Koch Institute Wernigerode Branch, Allemagne

Un cas français lors de cette épidémie a permis de participer à l'identification de la source de cette épidémie.

Article publié online dans EID: Halbedel S, Wilking H, Holzer A, Kleta S, Fischer MA, Lüth S, Pietzka A, Huhulescu S, Lachmann R, Krings A, Ruppitsch W, Leclercq A, Kamphausen R, Meincke M, Wagner-Wiening C, Contzen M, Kraemer IB, Al Dahouk S, Allerberger F, Stark K, Fliieger A. 2020. *Large Nationwide Outbreak of Invasive Listeriosis Associated with Blood Sausage, Germany, 2018-2019.* *Emerg Infect Dis.* 2020 Jul;26(7):1456-1464. (35)

Genome typing and epidemiology of human listeriosis in New Zealand, 1999 to 2018

Rivas L, Paine S, Dupont PY, Tiong A, Horn B, Moura A, Gilpin BJ. *Genome typing and epidemiology of human listeriosis in New Zealand, 1999 to 2018.* *J Clin Microbiol.* 2021 Oct 19;59(11):e0084921. (36)

Genomic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat meat and meat processing environments in Poland

En collaboration avec Dr M. Kurpas, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Pologne.

Article publié: Kurpas M, Osek J, Moura A, Leclercq A, Lecuit M, Wieczorek K. Genomic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat meat and meat processing environments in Poland. *Front Microbiol.* 2020 Jun 25;11:1412. (37)

3.1.2. Méthodes de diagnostic et caractérisation de souches atypiques

Spontaneous loss of virulence in natural populations of *Listeria monocytogenes*

Article publié: Maury MM, Chenal-Francisque V, Bracq-Dieye H, Han L, Leclercq A, Vales G, Moura A, Gouin E, Scotti M, Disson O, Vázquez-Boland JA, Lecuit M. Spontaneous loss of Virulence in Natural Populations of *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* 2017 Oct 18;85(11):e00541-17. (38)

Atypical hemolytic *Listeria innocua* are virulent, albeit less than *Listeria monocytogenes*

En collaboration avec Dr R. Stephan, Institute for Food safety and Hygiene, Zurich, Suisse.

Article publié: Moura A, Disson O, Lavina M, Thouvenot P, Huang L, Leclercq A, Fredriksson-Ahomaa M, Eshwar AK, Stephan R, Lecuit M. Atypical hemolytic *Listeria innocua* are virulent, albeit less than *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* 2019 Jan 22. pii: IAI.00758-18 (39).

3.1.3. Analyses cliniques

Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study

Article publié: Charlier C, Perrodeau É, Leclercq A, Cazenave B, Pilmis B, Henry B, Lopes A, Maury MM, Moura A, Goffinet F, Dieye HB, Thouvenot P, Ungeheuer MN, Tourdjman M, Goulet V, de Valk H, Lortholary O, Ravaud P, Lecuit M; MONALISA study group. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2017 May;17(5):510-519. (1)

***Listeria monocytogenes* isolation from urine: a series of 15 cases and review**

Poster: F. Danion, A. Leclercq, M. Maury, M. Lecuit, C. Charlier. 2016. Isolation of *L. monocytogenes* from urine: analysis of 14 cases. ISOPOL, Paris, 2016, Poster 199

Article publié: Danion F, Maury MM, Leclercq A, Moura A, Perronne V, Leotard S, Dary M, Tanguy B, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Lecuit M, Charlier C. 2017. *Listeria monocytogenes* isolation from urine: a series of 15 cases and review. *Clin Microbiol Infect* 23:583-585. (40)

Diagnosis and treatment of *Listeria monocytogenes* endophthalmitis

Etude réalisée avec l'ECDC

Article publié: Chersich MF, Takkinen J, Charlier C, Leclercq A, Adams PE, Godbole G, Altmeyer U, Friesema IH, Labbé Sandelin L, Jenkin L, Fontana L, Aldigeri R, Venter F, Luchters SM, Lecuit M, Cimino L. 2016. Diagnosis and Treatment of *Listeria monocytogenes* Endophthalmitis: A Systematic Review. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017 Feb 1:1-10. (41)

Imaging of human neurolisteriosis: a prospective study of 71 cases

Article publié: Charlier C, Poirée S, Delavaud C, Khoury G, Richaud C, Leclercq A, Hélénon O, Lecuit M; MONALISA Study Group. *Imaging of human neurolisteriosis: a prospective study of 71 cases. Clin Infect Dis.* 2018 Oct 15;67(9):1419-1426 (42).

Listeria monocytogenes-associated respiratory infections: a study of 38 consecutive cases

Poster: Journées Nationales Infectiologies Saint Malo 2017

Article publié: Morgand M, Leclercq A, Maury MM, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Lecuit M, Charlier C. *Clin Microbiol Infect.* 2018 Mar 13. pii: S1198-743X(18)30209-X. (43).

Causes of fever in pregnant women with acute undifferentiated fever: a prospective multicentric study

Article publié: Charlier C, Perrodeau E, Levallois C, Cachina T, Dommergues M, Salomon LJ, Azria E, Goffinet F, Ravaud P, Lecuit M. *Causes of fever in pregnant women with acute undifferentiated fever: a prospective multicentric study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020 Jan 18. (44).

Listeria monocytogenes-associated endovascular infections: a study of 71 consecutive cases

En collaboration avec les biologistes et cliniciens ayant gérés les cas décrits et rapportés au CNRL.

Article publié: Shoai-Tehrani M, Pilmis B, Maury MM, Robineau O, Disson O, Jouvion G, Coulpier G, Thouvenot P, Bracq-Dieye H, Valès G, Leclercq A, Lecuit M, Charlier C; *Listeria endovascular infections study group. Listeria monocytogenes-associated endovascular infections: A study of 71 consecutive cases. J Infect.* 2019 Oct;79(4):322-331. (9).

Cutaneous listeriosis, a case series of 16 consecutive patients over 25 years

En collaboration avec les biologistes et cliniciens ayant gérés les cas décrits et rapportés au CNRL.

Cette étude permettra son référencement dans les fiches ANSES et DGAI sur la listériose et les risques professionnels puisqu'aucune étude sur cette forme n'avait été réalisée à ce jour en France.

Article publié: Pilmis B, Leclercq A, Maury MM, Moura A, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Valès G, Lecuit M, Charlier C; *cutaneous listeriosis study group. Cutaneous listeriosis, a case series of 16 consecutive patients over 25 years. J Infect.* 2020 Feb;80(2):232-254. (45)

Maternal-fetal infections: Why do they matter?

Editorial publié: Charlier C, Lecuit M. *Maternal-fetal infections: Why do they matter? Virulence.* 2020 Dec;11(1):398-399.(46)

Maternal-neonatal listeriosis

Article publié: Charlier C, Disson O, Lecuit M. *Maternal-neonatal listeriosis. Virulence.* 2020 Dec;11(1):391-397. (47)

Neonatal listeriosis presentation and outcome: a prospective study of 189 cases

En collaboration avec les biologistes et cliniciens ayant gérés les cas décrits et rapportés au CNRL.

Article publié: Charlier C, Kermorvant-Duchemin E, Perrodeau E, Moura A, Maury MM, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Valès G, Leclercq A, Ravaud P, Lecuit M; *neonatal MONALISA study group. Neonatal listeriosis presentation and outcome: a prospective study of 189 cases. Clin Infect Dis.* 2021 Apr 20:ciab337. (48)

Infective lymphadenopathies related to Lm

En collaboration avec les biologistes et cliniciens ayant gérés les cas décrits et rapportés au CNRL.

Article publié : Blot M, Disson O, Leclercq A, Moura A, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Valès G, Burroni B, Lupo A, Lecuit M, Charlier C. *Open Forum Infect Dis.* 2022 Jan 10;9(1):ofab598. doi: 10.1093/ofid/ofab598. eCollection. (7)

Peritoneal infections related to Lm

Travail en cours

Etude rétrospective nationale étudiant d'un point de vue clinique et génotypique 200 infections péritonéales à *L. monocytogenes*.

3.1.4. Etude de la virulence

Hypervirulent Listeria monocytogenes clones' adaptation to the mammalian gut accounts for their association with dairy products

En collaboration avec S. Brisse (Unité Biodiversité et Epidémiologie des bactéries pathogènes)

Article publié: Maury MM, Bracq-Dieye H, Huang L, Vales G, Lavina M, Thouvenot P, Disson O, Leclercq A, Brisse S, Lecuit M. Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaptation to mammalian gut accounts for their association with dairy products. *Nat Commun.* 2019 Jun 6;10(1):2488. (49).

A Listeria monocytogenes bacteriocin can target the commensal Prevotella copri and modulate intestinal infection

Article publié: Rolhion N, Chassaing B, Nahori MA, de Bodt J, Moura A, Lecuit M, Dussurget O, Bérard M, Marzorati M, Fehlner-Peach H, Littman DR, Gewirtz AT, Van de Wiele T, Cossart P. *Cell Host Microbe.* 2019 Nov 13;26(5):691-701.e5. (50)

Etude comparative de la neurolistériose humaine et du ruminant (Sinergia, Swiss National Science Foundation)

En collaboration avec J. Frey et A. Oeverman (Institute of veterinary Bacteriology, University of Bern, Switzerland) et S. Brisse (Unité Biodiversité et Epidémiologie des bactéries pathogènes)

Residual variation intolerance score detects loci under selection in neuroinvasive Listeria monocytogenes

En collaboration avec le Dr D. van de Beek (Department of Neurology, Amsterdam Neuroscience, Amsterdam UMC, University of Amsterdam, Amsterdam, Hollande)

Article publié: Ferwerda B, Maury MM, Brouwer MC, Hafner L, van der Ende A, Bentley S, Lecuit M, van de Beek D. Residual Variation Intolerance Score Detects Loci Under Selection in Neuroinvasive *Listeria monocytogenes*. *Front Microbiol.* 2019 Nov 26; 10:2702. (51).

Listeria monocytogenes, a model in infection biology

Article publié: Lecuit M. *Listeria monocytogenes, a model in infection biology.* *Cell Microbiol.* 2020 Apr;22(4):e13186. (52)

Listeriolysin S: A bacteriocin from Listeria monocytogenes that induces membrane permeabilization in a contact-dependent manner

Article publié: Meza-Torres J, Lelek M, Quereda JJ, Sachse M, Manina G, Ershov D, Tinevez JY, Radoshevich L, Maudet C, Chaze T, Giai Gianetto Q, Matondo M, Lecuit M, Martin-Verstraete I, Zimmer C, Bierne H, Dussurget O, Cossart P, Pizarro-Cerdá J. *Listeriolysin S: A bacteriocin from Listeria monocytogenes that induces membrane permeabilization in a contact-dependent manner. Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 Oct 5;118(40):e2108155118. (53)

3.1.5. Taxonomie

Le CNRL participe à la révision du genre *Listeria* et à l'inclusion de nouvelles espèces en relation avec les données récentes issues d'approches de génomique.

Listeria costaricensis sp. nov.

Article publié: Nunez-Montero K, Leclercq A, Moura A, Vales G, Peraza J, Pizarro-Cerda J, Lecuit M. 2018. *Listeria costaricensis sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol* 68:844-850. (54)

Listeria thailandensis sp. nov.

En collaboration avec C. Aguilhon, Recherche et Développement, bioMérieux, Marcy l'Etoile

Poster: A. Leclercq, A. Moura, N. Tessaud-Rita, H. Bracq-Dieye, P. Thouvenot, G. Vales, M. Maury, G. Aguilhon, M. Lecuit. 2016. *Listeria thailandensis sp. nov. Isolated from food in Thailand. ISOPOL, Paris, 2016, Poster 63*

Article publié: Leclercq A, Moura A, Vales G, Tessaud-Rita N, Aguilhon C, Lecuit M. *Listeria thailandensis sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol.* 2019 Jan;69(1):74-81 (55).

Listeria valentina sp. nov.

En collaboration avec le Dr. Juan J. Quereda, Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Valencia, Spain

Article publié: Quereda JJ, Leclercq A, Moura A, Vales G, Gómez-Martín Á, García-Muñoz Á, Thouvenot P, Tessaud-Rita N, Bracq-Dieye H, Lecuit M. *Listeria valentina sp. nov., isolated from a water trough and the faeces of healthy sheep. Int J Syst Evol Microbiol.* 2020 Nov;70(11):5868-5879. (56)

Listeria ilorinensis sp. nov.

En collaboration avec Dr Ibrahim Adisa Raufu, Université d'Ilorin, Ilorin, Nigeria

Article soumis: Raufu IA, Moura A, Vales G, Ahmed OA, Aremu A, Thouvenot P, Tessaud-Rita N, Bracq-Dieye H, Krishnamurthy R, Leclercq A, Lecuit M. *Listeria ilorinensis sp. nov. isolated from cow milk cheese in Nigeria.*

3.1.6. Développement de nouveaux outils de diagnostic

MALDI-TOF mass spectrometry-based identification of Listeria species in surveillance: A prospective study.

Article publié: Thouvenot P, Vales G, Bracq-Dieye H, Tessaud-Rita N, Maury MM, Moura A, Lecuit M, Leclercq A. *MALDI-TOF mass spectrometry-based identification of Listeria species in surveillance: A prospective study. J Microbiol Methods.* 2018 Jan;144:29-32. (20)

3.1.7. Développement de nouveaux outils de typage moléculaire et étude de la diversité des *Listeria*

[Real-time whole-genome sequencing for surveillance of *Listeria monocytogenes*, France](#)

Article publié: [Moura A](#), [Tourdjman M](#), [Leclercq A](#), [Hamelin E](#), [Laurent E](#), [Fredriksen N](#), [Van Cauteren D](#), [Bracq-Dieye H](#), [Thouvenot P](#), [Vales G](#), [Tessaud-Rita N](#), [Maury MM](#), [Alexandru A](#), [Criscuolo A](#), [Quevillon E](#), [Donguy MP](#), [Enouf V](#), [de Valk H](#), [Brisse S](#), [Lecuit M](#). Real-time whole-genome sequencing for surveillance of *Listeria monocytogenes*, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2017 Sep;23(9):1462-1470. (57)

[Draft genome sequences of *Listeria monocytogenes*, isolated from fresh leaf vegetables in Owerri City, Nigeria](#)

Article publié: [Ogueri N](#), [Moura A](#), [Thouvenot P](#), [Rees C](#), [Leclercq A](#), [Lecuit M](#). Draft genome sequences of *Listeria monocytogenes*, isolated from fresh leaf vegetables in Owerri City, Nigeria. *Genome Announc.* 2017 Jun 1;5(22):e00354-17. (58)

[Genome sequence of *Listeria innocua* strain MEZLIS26, isolated from a goat in South Africa](#)

[El Zowalaty ME](#), [Hickman RA](#), [Moura A](#), [Lecuit M](#), [Zishiri OT](#), [Noyes N](#), [Järhult JD](#). Genome sequence of *listeria innocua* strain mezlis26, isolated from a goat in South Africa. *Microbiol Resour Announc.* 2019 Oct 31;8(44):e00991-19. (59)

[Whole-genome sequencing reveals *Listeria monocytogenes* diversity and allows identification of long-term persistent strains in Brazil](#)

[Camargo AC](#), [Moura A](#), [Avillan J](#), [Herman N](#), [McFarland AP](#), [Sreevatsan S](#), [Call DR](#), [Woodward JJ](#), [Lecuit M](#), [Nero LA](#). Whole-genome sequencing reveals *Listeria monocytogenes* diversity and allows identification of long-term persistent strains in Brazil. *Environ Microbiol.* 2019 Dec;21(12):4478-4487. (60)

[Making sense of the biodiversity and virulence of *Listeria monocytogenes*](#)

Article publié: [Disson O](#), [Moura A](#), [Lecuit M](#). Making Sense of the Biodiversity and Virulence of *Listeria monocytogenes*. *Trends Microbiol.* 2021 Sep;29(9):811-822.

[Listeria monocytogenes faecal carriage is common and depends on the gut microbiota](#)

En collaboration avec la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Poitiers, Dr Pichon et Dr Burucoa, et l'Université de Lausanne, Dr Garcia-Garcera.

Article publié: [Hafner L](#), [Pichon M](#), [Burucoa C](#), [Nusser SHA](#), [Moura A](#), [Garcia-Garcera M](#), [Lecuit M](#). *Listeria monocytogenes* faecal carriage is common and depends on the gut microbiota. *Nat Commun.* 2021 Nov 24;12(1):6826. (61)

[Emergence and global spread of *Listeria monocytogenes* main clinical clonal complex.](#)

En collaboration avec les différents organismes de santé publique: Angleterre (PHLS), New Zealand, Hollande (RIVM); Danemark (SSI), South Africa (NICD), Australie, USA (FDA, CDC)

Article: [Moura A](#), [Lefrançois N](#), [Wirth T](#), [Leclercq A](#), [Borges V](#), [Gilpin B](#), [Dallman TJ](#), [Frey J](#), [Franz E](#), [Nielsen EM](#), [Thomas J](#), [Pightling A](#), [Howden BP](#), [Tarr CL](#), [Gerner-Smidt P](#), [Cauchemez S](#), [Salje H](#), [Brisse S](#), [Lecuit M](#) and the *Listeria* CC1 Study Group. Emergence and global spread of *Listeria monocytogenes* main clinical clonal complex. *Sci Adv.* 2021 Dec 3;7(49):eabj9805. (62)

3.1.8. Participation à la maîtrise agroalimentaire

Critical orientation in the jungle of currently available methods and types of data for source attribution of foodborne diseases

Articles publiés:

Mughini-Gras L, Kooh P, Fravallo P, Augustin JC, Guillier L, David J, Thébault A, Carlin F, Leclercq A, Jourdan-Da-Silva N, Pavio N, Villena I, Sanaa M, Watier L. *Critical Orientation in the Jungle of Currently Available Methods and Types of Data for Source Attribution of Foodborne Diseases*. *Front Microbiol*. 2019 Nov 12; 10:2578. (63).

Mughini-Gras L, Kooh P, Augustin JC, David J, Fravallo P, Guillier L, Jourdan-Da-Silva N, Thébault A, Sanaa M, Watier L., Anses Working Group on Source Attribution of Foodborne Diseases. *Source Attribution of Foodborne Diseases: Potentialities, Hurdles, and Future Expectations*. *Front Microbiol*. 2018 Sep 3;9:1983. (64)

Risk factors for sporadic listeriosis: A systematic review and meta-analysis

Article publié: Leclercq A, Kooh P, Augustin JC, Guillier L, Thébault A, Cadavez V, Gonzales-Barron U, Sanaa M, *Risk factors for sporadic listeriosis: A systematic review and meta-analysis*, *Microbial Risk Analysis*, 2021, 17:100128. (65)

Contamination by Salmonella spp., Campylobacter spp. and Listeria spp. of most popular chicken- and pork-sausages sold in Reunion Island

En collaboration avec E. Cardinale (CIRAD)

Article publié: Trimoulinard A, Beral M, Henry I, Atiana L, Porphyre V, Tessier C, Leclercq A, Cardinale E. 2017. *Contamination by Salmonella spp., Campylobacter spp. and Listeria spp. of most popular chicken- and pork-sausages sold in Reunion Island*. *Int J Food Microbiol* 250:68-74. (66)

3.1.9. Etude de la résistance aux antibiotiques et tolérance aux biocides

Dans le cadre de la surveillance épidémiologique de la résistance aux antibiotiques, le CNRL étudie l'apport de la génomique en complément de l'analyse de l'antibiogramme. Sur 22 antibiotiques investigués et selon les données d'antibiogrammes, seulement 3 peuvent être estimés en termes de résistance avec une approche de génomique.

Le CNRL valide dans les outils de sa plateforme BIGSdb-*Listeria* une recherche des gènes responsables du mécanisme de tolérance de *L. monocytogenes* au chlorure de benzalkonium.

Le CNRL effectue actuellement une étude rétrospective de l'antibiorésistance des *Listeria monocytogenes* en France depuis 2011. En cas de mise en évidence de nouvelle(s) résistance(s), le CNRL contacterait le CNR résistance aux antibiotiques.

Epistatic control of intrinsic resistance by virulence genes in Listeria

En collaboration avec M. Scortti et J.A. Vazquez-Boland, University of Edinburgh, Ashworth Laboratories, Edinburgh, Royaume-Uni.

Article publié: Scortti M, Han L, Alvarez S, Leclercq A, Moura A, Lecuit M, Vazquez-Boland J. *Epistatic control of intrinsic resistance by virulence genes in Listeria*. *PLoS Genet*. 2018 Sep 4;14(9):e1007525 (67).

3.2. Les activités techniques au titre de l'expertise microbiologique

Afin de faciliter la lecture de ce rapport, la description du système de surveillance français des *Listeria* et de la listériose ainsi que la définition des termes employés sont décrites en Annexe A [à la fin de ce dossier].

3.2.1. Evolution des techniques 2017-2021

3.2.1.1. Validation de nouveaux outils de diagnostic

Le CNRL participe au développement et à la validation des outils de diagnostics en respect de la réglementation en vigueur (dont règlement européen 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux) et de l'absence de conflits d'intérêts. Le CNRL a validé la méthode par spectrométrie de masse de types MALDI-TOF pour l'identification des espèces du genre *Listeria* (20). En 2017, Le CNRL a participé à l'essai interlaboratoire international organisé par l'ADRIA QUIMPER pour la validation de la méthode MALDI-TOF MS Bruker Daltonics pour l'identification des *Listeria* avec le MALDI-BIOTYPER (MICROVAL, <https://microval.org/en/issued-certificates/>) et pour un nouveau module de sous-typage des *Listeria* « subtyping module » afin d'en améliorer leur identification à l'espèce.

Article: Bastin B, Bird P, Crowley E, Benzinger MJ, Agin J, Goins D, Sohler D, Timke M, Awad M, Kostrzewa M. Confirmation and Identification of *Listeria monocytogenes*, *Listeria* spp. and Other Gram-Positive Organisms by the Bruker MALDI Biotyper Method: Collaborative Study, First Action 2017.10. J AOAC Int. 2018 Sep 1; 101(5):1610-1622. (68)

Pour le typage moléculaire, la méthode de cgMLST développée au CNRL en 2014 est la méthode de typage de référence des *L. monocytogenes*, permettent à ce jour de différencier les souches en plus de 32.000 profils et 11.500 cgMLST types ((18); <http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria>).

3.2.1.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015

Article publié: Van Walle I, Björkman JT, Cormican M, Dallman T, Mossong J, Moura A, Pietzka A, Ruppitsch W, Takkinen J; European Listeria Wqs Typing Group. Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. Euro Surveill. 2018 Aug;23(33) (69).

Caractérisation des Listeria par spectroscopie infrarouge (IR Biotyper, Bruker)

En complément à la spectrométrie Maldi-Tof MS, la spectroscopie infrarouge peut aider à l'identification rapide de bactéries en caractérisant leurs profils glucidiques. Cette méthode a été étudiée en 2019 sur le genre *Listeria* pour évaluer ses performances, mais non investiguée suite à des problèmes signalés de reproductibilité et de constitution des banques de données de référence.

3.2.1.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Le CNRL utilise la méthode de typage cgMLST et la transfère aux laboratoires demandeurs. Il a ainsi formé des biologistes du Réseau des Instituts Pasteur pour l'analyse cgMLST de génomes de *Lm*.

En 2020, le CNRL a transféré au d'autres laboratoires une méthode de coproculture à *Listeria monocytogenes*: le laboratoire Cerballiance dans le cadre d'une toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), à l'AP-HP dans le cadre du PHRC FECES et au CH de Poitiers.

Le CNRL effectue également la gestion et curation de la base de données internationale des génomes BIGSdb-*Listeria* (A. Moura), et assiste biologistes médicaux et chercheurs dans l'analyse de leurs données.

3.2.2. Activités d'expertise 2017-2021

De la réception des souches au rendu de l'expertise microbiologique

Les souches réceptionnées et les analyses effectuées sont listées dans le Tableau 2. Le CNRL reçoit des souches d'origine environnementale et/ou alimentaire adressées par des laboratoires d'hygiène et de contrôle des aliments pour identification et caractérisation (autocontrôles, prestations payantes). Ces isolats sont aussi intégrés à la surveillance nationale, en respectant la confidentialité des données, qui peuvent être mises à la disposition des autorités qui en feraient la demande au CNRL.

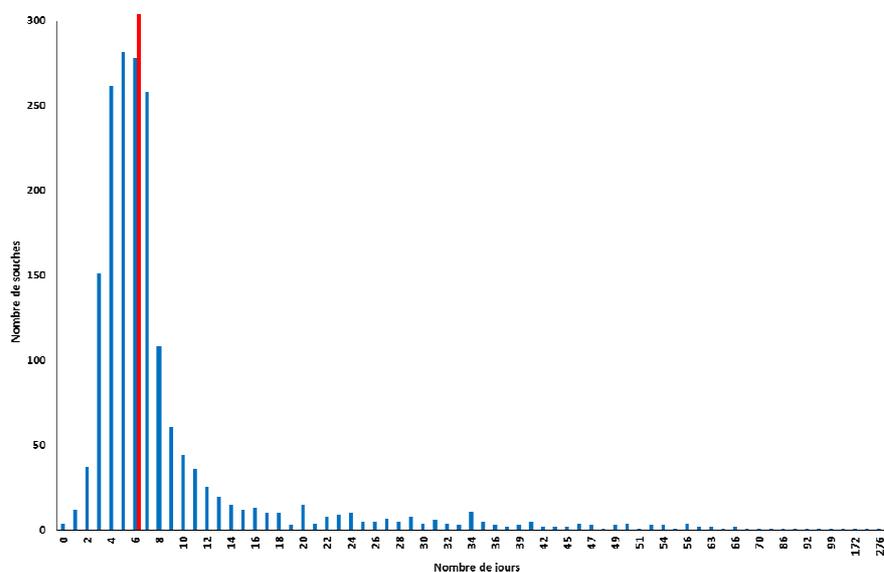
Tableau 2. Souches réceptionnées au CNRL en 2017-2021 et analyses effectuées.

Nombre de souches					Origine	Pourcentage de fiches de données réceptionnées	Provenance	Identification	PCR séro-groupe	Antibiogramme	Séquençage et cgMLST
2021	2020	2019	2018	2017							
401	301	335	311	343	Humaines	100%	Centres Hospitaliers	100%	100%	100%	100%
63	45	66	82	49	Humaines	100%	Laboratoires Privés	100%	100%	100%	100%
1020	847	1712	1183	1112	Alimentaires et environnementales (Alertes, Enquête autour cas humain)	100%	Laboratoires de Microbiologie alimentaire	100%	100%	0%	100%
252	251	518	366	261	Alimentaires et Environnementales (Autocontrôles, intégrés à la surveillance nationale)	100%	Laboratoires de Microbiologie alimentaire	100%	100%	0%	100%
474	595	618	208	385	Humaines, Alimentaires et Environnementales (Investigation historique de clusters)	100%	CNRL, Laboratoires étrangers	100%	100%	10%	100%
TOTAL: 2210	2039	3249	2150	2150	-	100%	-	100%	100%	100% des souches humaines	100%

Délai identification / réception

Entre 2017 et 2021, le **délai médian entre le prélèvement et la réception** des souches au CNRL est de 6 jours (2021: 6 jours) (Figure 5). Les délais extrêmes s'expliquent par le temps écoulé entre déclaration obligatoire et réception de la souche au CNRL, malgré les relances effectuées par SPF. En 2020-2021, dans le contexte de la pandémie SARS-CoV2, la récupération des souches humaines a été plus difficile que les autres années malgré le caractère obligatoire de la déclaration des cas.

Figure 5. Distribution des délais entre le prélèvement et la réception au CNRL pour les souches d'origine humaine réceptionnées en 2017-2021 et en 2021 (médiane en rouge).



Non-conformité de souches

La détermination de l'espèce *L. monocytogenes* par les laboratoires d'analyse médicale (LABM) repose de façon croissante sur la méthode de spectrométrie de masse (MS) MALDI-TOF. Les biologistes rapportent toutes ambiguïtés d'identification au CNRL et envoient les souches pour confirmation. En 2017-2018, le CNRL a publié ou a participé à la publication d'évaluations de l'identification de l'espèce et du genre *Listeria* par MALDI-TOF (20, 68). Celle-ci est excellente à l'exception de certaines espèces de *Listeria* décrites depuis 2009, mais jamais isolées en clinique à ce jour (20). La spectrométrie de masse remplace depuis août 2016 la méthode API-*Listeria* (bioMérieux) comme méthode de détermination du genre et de l'espèce au CNRL. Le CNRL utilise une extraction totale des protéines pour la préparation de son dépôt alors que les Biologistes utilisent un dépôt direct, plus rapide et moins onéreux, mais pouvant aboutir à quelques résultats douteux.

Parmi les souches qui nous ont été adressées entre 2017 et 2021, **la détermination de l'espèce, quelle que soit leur origine était correcte dans 99,8% des cas** (vérifiée par séquençage; 100% en 2021). 99,9% des souches humaines furent bien identifiées comme *L. monocytogenes*.

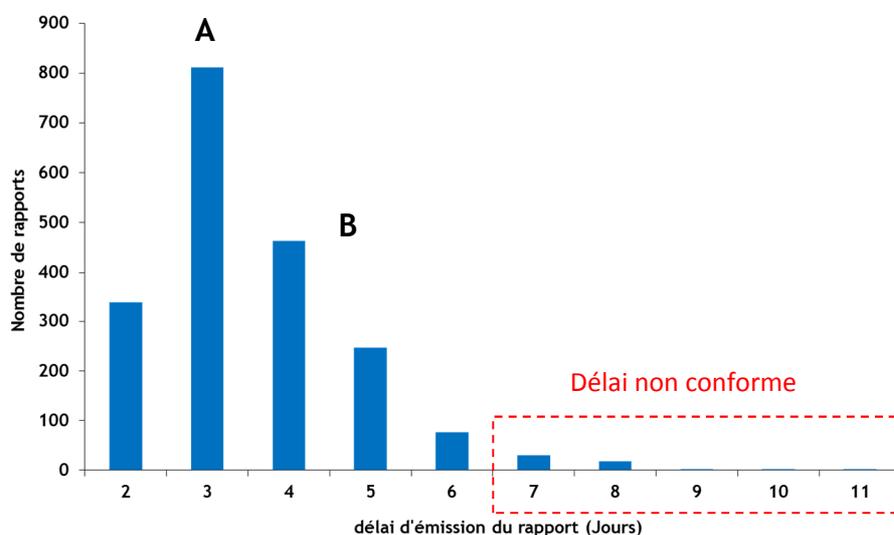
Envoi du rapport d'essai

Le **délai médian entre réception de la souche au CNRL et l'envoi du rapport d'essai** (incluant l'identification de l'espèce et le groupage PCR) a été de 3 jours en 2017-2021 (3 jours en 2021) (Figure 6), ce qui correspond au délai cible de 4 jours du système qualité du CNRL.

Le CNRL en 2020 a mis en place durant le confinement pour l'ensemble des envois de ses comptes rendus une version dématérialisée par messagerie sécurisée mybluefiles (<https://mybluefiles.com/fr/>).

Le délai peut s'allonger si (i) les souches sont adressées après le mercredi ou lorsque des jours fériés décalent la date d'obtention des résultats à la semaine suivante (+3 jours) et (ii) en cas de nécessité de purification de la souche, de tests phénotypiques complémentaires ou de souches nécessitant plusieurs essais de mises en culture. Les délais non conformes (2,7% des souches humaines 2017-2021) étaient tous liés à des difficultés techniques, des jours non ouvrés ou à l'identification de bactéries non-*Listeria*.

Figure 6. Distribution des délais entre la réception de la souche au CNRL et l’envoi du rapport d’essai pour les souches d’origine humaine réceptionnées entre 2017 et 2021 (A, rapports d’analyses sans weekend; B, rapports d’analyses avec week-end et jours fériés).



L’ensemble de ces résultats illustre la qualité du réseau de microbiologistes en lien avec le CNRL et la contribution essentielle des microbiologistes médicaux à la surveillance microbiologique de la listériose, qui soulignent cependant le problème du coût de l’envoi des souches au CNRL.

Activité de séquençage

Entre 2017-2021, le CNRL a séquençé 11.680 souches de *Listeria* (2021: 2238) dans le cadre de son activité continue de surveillance (n=9942 entre 2017-2021 et n=1755 en 2021) et d’études des investigations, clusters et épidémies (n=1738 entre 2017-2021 et n=483 en 2021) au niveau national, européen et international. La différence avec le nombre de souches réceptionnées au CNRL vient des abandons d’analyses lors d’alertes produits ou de souches non-*Listeria* ou des souches de l’année antérieure restant à séquençer.

Le CNRL réalise l’extraction d’ADN génomique et le séquençage est effectué selon la technologie Illumina par la plateforme de microbiologie mutualisée (P2M) de l’Institut Pasteur (57), deux à trois fois par semaine. Les banques sont préparées avec le kit Nextera XT et séquençées par un équipement NextSeq 500 (Illumina). Les données sorties du séquenceur (reads) sont traitées et assemblées automatiquement en utilisant le logiciel SPAdes (<http://cab.spbu.ru/software/spades/>), sous la supervision du bioinformaticien de la plateforme P2M (Alexis Criscuolo). Le CNRL effectue du contrôle qualité de ces assemblages et les dépose dans son projet privé de la base BIGSdb-*Listeria* (<https://bigsdb.pasteur.fr/listeria/listeria.html>) pour déterminer le génotype, le type MLST, le type cgMLST, le virulome et resistome de ces souches (18). Ces données privées peuvent devenir publiques avec l’accord de leurs propriétaires. Elles sont ensuite colligées dans la base nationale de surveillance Française dans bioNumerics version 7.6 afin d’abonder les clusters connus et en détecter de nouveaux. Les analyses de cgMLST peuvent être complétées par des analyses wgSNPs (analyse de la totalité du génome), si nécessaires.

Cette méthode de typage a été développée pour *L. monocytogenes* par le CNRL en 2014 (18), validée pour la surveillance en France en collaboration avec SPF pendant 2015-2016 et remplace la méthode de PFGE pour le typage des *L. monocytogenes* depuis de 2017 (57).

3.2.2.1. Description du réseau de partenaires LABM

De 2017 à 2021, les laboratoires expéditeurs sont répartis à 85% hospitaliers (85% en 2015), reflétant la sévérité habituelle de l’infection et en laboratoires privés (15% de 2017 à 2021; 15% en 2021) ce qui est stable en répartition depuis 2011.

3.2.2.2. Cas de listériose en France métropolitaine

Entre 2017-2021, le CNRL a reçu 2127 souches humaines (dont 461 en 2021) rattachées à 1969 suspicions d'infections humaines déclarées (dont 435 en 2015), dont 1 cas à *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* en 2017 (non pris en compte dans la suite de cette analyse), en accord entre SPF et l'ARS concernée, même si la DO *Listeria* correspond *stricto sensu* à un isolement de *Lm* à partir d'un site normalement stérile. La différence observée entre nombres de souches et de cas est liée à l'existence de doublons, voire de triplicats de souches (n = 176, dont 35 en 2021) par patient, exclus de l'analyse finale.

En 2017, un cas a eu un second épisode de listériose à *L. monocytogenes*, après un premier épisode en 2016. Ces deux épisodes étaient causés par des souches différentes (Groupe PCR IIb; cgMLST Type en 2016: L1-SL392-ST392-CT1715, en 2017:L1-SL773-ST773-CT1295). Un autre cas a eu un second épisode de listériose avec un isolement de *Lm* d'un écoulement du genou en 2018, après un premier épisode d'infection sur sa prothèse du genou en 2017 avec des souches de même caractéristique microbiologique (Groupe PCR IIa; cgMLST Type en 2017: L2-SL399-ST399-CT2678, en 2018: L2-SL399-ST399-CT4994).

De 2017 à 2021, 20 selles ont été expertisées (selles d'un patient ayant consommé un produit contaminé par *Lm*; investigation d'une infection familiale et nosocomiale, et recherche de *Lm* dans le cadre des recommandations de transplantation de microbiote fécal ou du programme R-GNOSIS).

De 2017 à 2021, le CNRL retient donc 1817 cas après recoupement avec les données de SPF, 1769 cas de listériose à *Lm* avec souches isolées, dont un cas de listériose à *L. ivanovii* subsp. *ivanovii*. 54 autres cas ont été identifiés sans que la souche associée ait été conservée par le laboratoire correspondant et n'ait pu être adressée au CNRL. Parmi ces 1817 cas, 1769 ont eu lieu en France métropolitaine et 47 dans les COM-DROM-TOM.

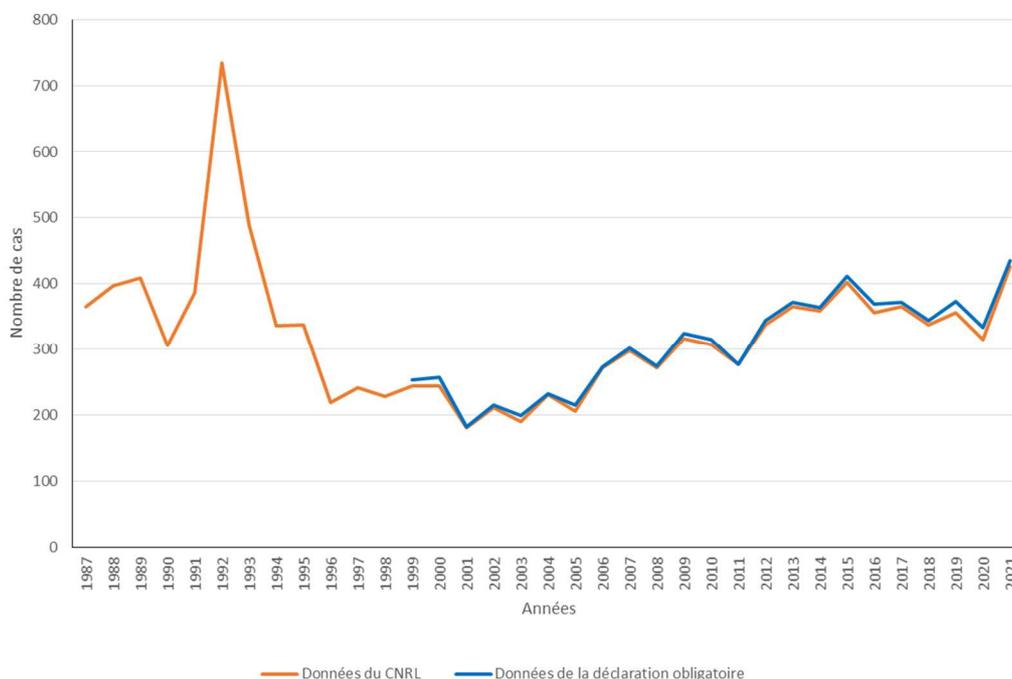
Pour l'année 2021, le CNRL retient 426 cas de listériose à *Lm* (+19% par rapport à 2020) au jour du traitement statistique de ce dossier de candidature (SPF retient 9 cas supplémentaires en 2021 diagnostiqués par PCR ou sans souche associée à la DO): 415 en France métropolitaine et 11 dans les COM-DROM-TOM.

L'incidence de la listériose depuis 1992 en France a suivi l'évolution suivante:

- Diminution importante dans les années 1990 de 700 à environ 200 cas par an.
- Augmentation modérée depuis 2006 de 300 à 400 cas / an (Figure 7) (10).

L'incidence de la listériose humaine est de 6,3 cas par million d'habitants en 2021 (la valeur précédente la plus élevée observée était de 6,2 en 2015; 2020: 4,6 cas par million d'habitants).

Figure 7. Nombre de cas recensés en France métropolitaine par le CNRL et par la Déclaration obligatoire (Source: SPF) entre 1987 et 2021.



Taux d'exhaustivité

La surveillance de la listériose en France se fonde sur le recoupement quotidien de 2 sources complémentaires recensant les cas : la notification aux ARS (Déclaration obligatoire) et l'envoi volontaire des souches par les microbiologistes au CNRL.

Le taux d'exhaustivité de réception des souches par rapport à l'ensemble des cas recensés est de 97,1% de 2017 à 2021 (2017: 98,4%; 2018: 97,6%; 2019: 96,5%; 2020: 94,6%; 2021: 98%) résultant de LABM focalisés sur la pandémie SARS-Cov2 et le développement des PCR syndromiques sans isolement de souches (Figure 5). Parmi les systèmes de surveillance européens de la listériose, la France présente l'un des taux d'exhaustivité les plus élevés, rendant possible des analyses épidémiologiques et microbiologiques de qualité, grâce à la participation active des biologistes du territoire national.

NB. Les données de Santé Publique France obtenues par technique de capture/recapture sur les systèmes de surveillance de la listériose et Epibac (surveillance des infections invasives) de 2008 à 2013 a permis d'évaluer l'exhaustivité de la déclaration obligatoire de la listériose en France entre 85 et 87% (70).

Cas de listériose dans les DROM-TOM-COM

Entre 2017 et 2021, 39 cas sporadiques de listériose (2021: 11 cas) ont été identifiés dans les DROM-TOM-COM:

- 20 (2021:6) dans l'île de la Réunion, DROM le plus peuplé,
- 2 (2021: 2, Tahiti) cas en Polynésie française - Tahiti (non comptabilisés par SPF),
- 2 cas (2021: 0) en Nouvelle-Calédonie (non comptabilisé par SPF dans le nombre de cas français),
- 8 cas (2021: 0) en Guadeloupe,
- 7 cas (2021: 1) en Martinique,
- 1 cas (2021: 4) en Guyane française.

En 2019, 3 alertes produits à la Réunion ont permis d'identifier l'origine des clusters 277 et 175 de cas humains. Par contre les 2 alertes en Guyane n'ont pas permis d'identifier de cas liés.

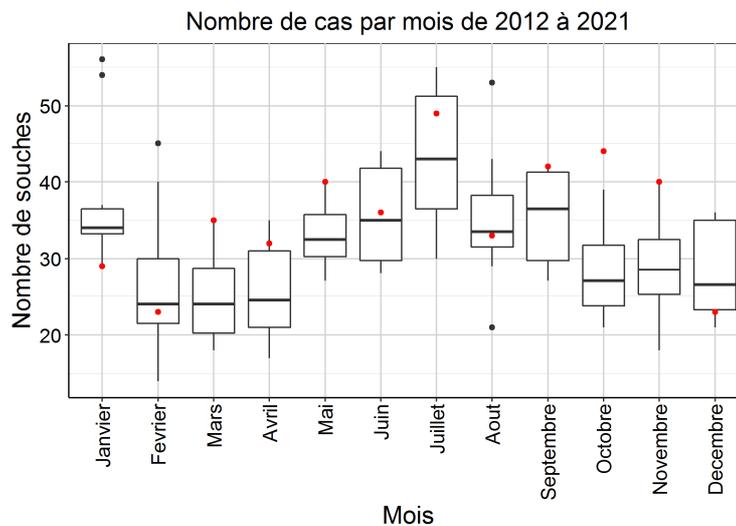
Le CNRL contribue à une étude avec le Dr COLOT du CH de Nouméa (Nouvelle-Calédonie) sur 20 cas de listérioses en 2018. Parmi ces souches, 7 nouveaux cgMLST types ont été mis en évidence, y compris 2 clusters locaux [6 cas de cgMLST type L1-SL3-ST3-CT4781 et 2 cas cgMLST type L2-SL204-ST204-CT4783).

Distribution temporelle des cas métropolitains

Le nombre mensuel de cas sporadiques observés de 2012 à 2021 est présenté dans la Figure 8.

Entre 2017 et 2021, les mois où le plus grand nombre des cas ont été notifiés sont juin, juillet, septembre et janvier (Figure 8), reflétant la saisonnalité marquée des cas en France (pics en juillet et janvier). Les raisons de cette saisonnalité ne sont pas connues, mais une prévalence plus élevée de *Listeria* en hiver et au printemps a également été notée dans les élevages (32).

Figure 8. Distribution mensuelle des cas sporadiques de listériose en France métropolitaine entre 2012 et 2021 (Le point rouge indique le nombre de cas pour 2021).



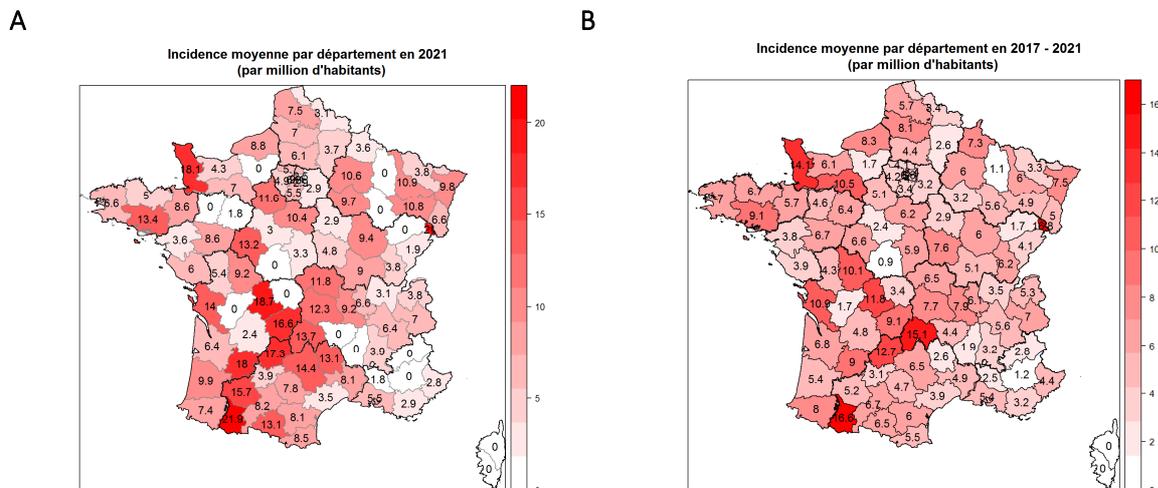
Distribution géographique

La distribution géographique des cas par département est présentée dans la Figure 9.

Les chiffres d'incidence sont exprimés en nombre de cas par million d'habitants par département et ont été calculés à partir des données démographiques établies par l'INSEE.

En 2021, l'incidence de la listériose était la plus élevée dans les départements des Hautes-Pyrénées, de la Manche, du Territoire de Belfort et de la Haute-Vienne, comme entre 2017 et 2021 (Figure 9A). On note entre 2017-2021 une incidence de listériose légèrement plus élevée dans la moitié ouest de la France (Figure 9B).

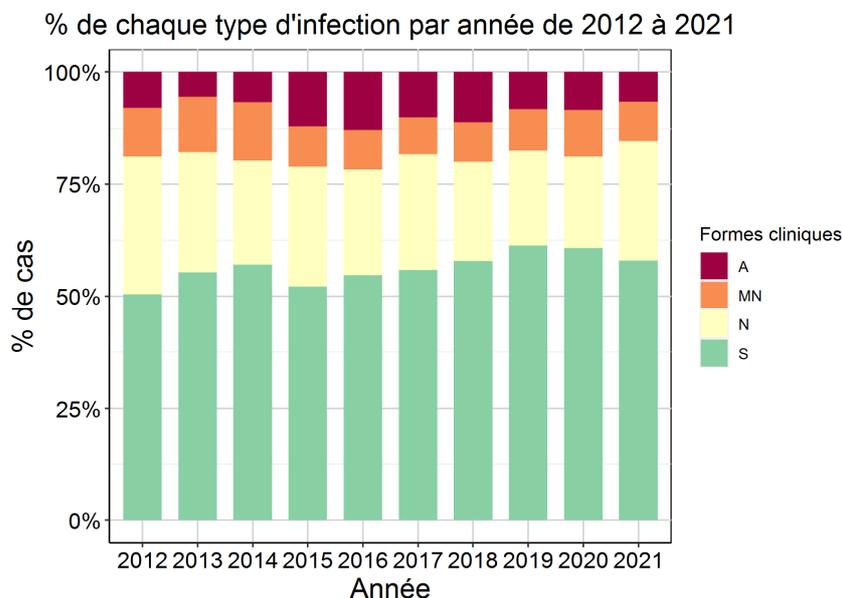
Figure 9. Incidences départementales des cas de listériose en 2021 (A) et de 2017 à 2021 (B) (Incidence par 10⁶ d'habitants par département). En surligné noir, le découpage des nouvelles régions françaises.



3.2.2.2.1. Distribution des cas selon la forme clinique

La distribution des types d'infection est stable depuis 2012, avec une prédominance des formes septicémiques (59% en 2017 et 2021, 58% en 2021), puis neurologiques, et enfin des formes materno-néonatales et des autres formes invasives (Figure 10).

Figure 10. Distribution des cas sporadiques de listériose survenus en France métropolitaine depuis 2012 par forme clinique et par année.



Formes materno-néonatales

Entre 2017 et 2021, 149 formes MN ont été enregistrées (2021 : 33), représentant 8,5 % du nombre total de cas (2021: 8%). Depuis 2016, la proportion de formes MN semble se stabiliser. En 2021, l'incidence des formes MN était de 4,5 cas pour 100.000 naissances vivantes (2020 : 3,85). Le nombre de cas MN a diminué de 51% entre 1999 et 2008, puis s'est stabilisé depuis autour de 30 à 40 cas par an (représentant 8 à 15% du total des cas ; Figure 10). Cette

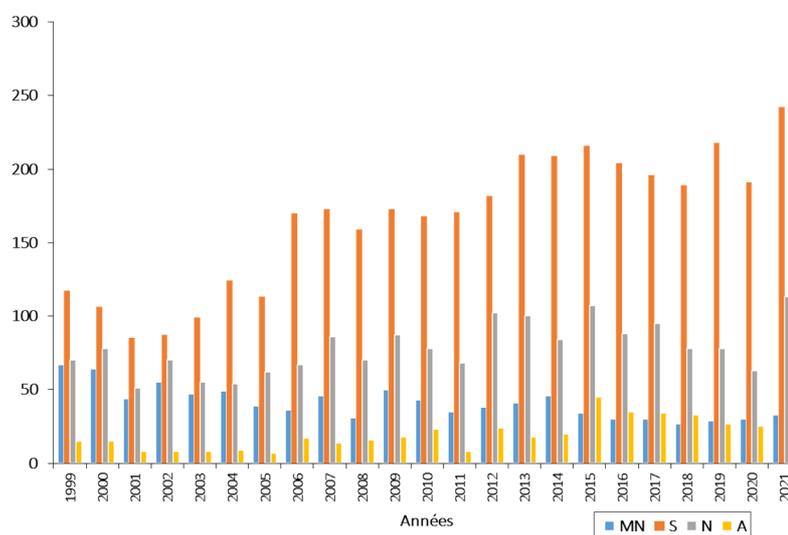
diminution est consécutive et donc possiblement la conséquence des campagnes de recommandations alimentaires destinées aux femmes enceintes.

L'étude prospective MONALISA a mis en évidence une incidence plus élevée de listériose MN au sein des populations originaires d'Afrique subsaharienne et du Maghreb (33% des patientes versus 11% des femmes enceintes en France, selon les données INSEE de la même période) (1). Les raisons n'en sont pas connues [Situation socio-économique défavorisée, comme en Grande-Bretagne (71) ? et/ou consommation accrue d'aliments à risque, comme chez les femmes enceintes d'origine mexicaine aux USA (15) ?].

Formes non materno-néonatales

Entre 2017 et 2021, 1607 formes non materno-néonatales ont été enregistrées (2021 : 382), soit 91,5% (2021 : 92%) du total des cas sporadiques comme depuis 2016. Elles se répartissent en 1034 (2021 : 242) formes septicémiques, 428 (2021 : 113 formes) neurologiques et 145 (2021 : 27) autres formes. La Figure 11 indique leur répartition.

Figure 11. Évolution de la répartition des formes cliniques par année, depuis 1999.



Le Tableau 3 décrit la répartition des infections invasives classées comme « autres formes » de 2012 à 2021.

Les infections ostéo-articulaires, biliaires, urinaires, oculaires, pleuro-pulmonaires, endovasculaires et cutanées ont fait l'objet d'analyses spécifiques dont les résultats ont été publiés (6, 8, 9, 40-43, 45). Des travaux sont en cours concernant les infections ganglionnaires et les infections de liquides d'ascite.

Terrain des formes non materno-néonatales. Des renseignements cliniques transmis par le biologiste accompagnent chaque souche à leur réception au CNRL. Ces données étaient renseignées dans 91,5% des cas entre 2017 et 2021 (2021 : 92%), un chiffre stable depuis 2015. Dans 52% des cas renseignés entre 2017 et 2021 (2021 : 55%), une ou plusieurs pathologies sous-jacentes étaient rapportées: cancer, cirrhose, éthylisme, diabète, dialyse, infection par le VIH, transplantation d'organe ou traitement immunosuppresseur (72) (50-56% de 2011 à 2021). Les comorbidités des patients avec listériose ont été analysées en détail dans le cadre de l'étude MONALISA (1).

Tableau 3. Répartition des autres formes de listériose de 2012 à 2021

Autres formes	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	Total
Vasculaire	1	1	1	2	3	4	1	4	1	0	18
Adénopathie	1	1	1	0	0	0	0	0	0	2	5
Endocardite	0	1	2	2	3	0	3	0	0	0	11
Os/articulaire	5	6	8	18	12	4	9	7	6	6	81
Digestive	3	1	1	3	1	0	4	0	2	2	17
Foie	0	0	0	2	1	1	1	1	1	1	8
Cœdème	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Érysipèle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Infection d'ascite	12	7	4	9	8	15	6	7	10	6	84
Infection urinaire	2	0	0	0	1	0	1	0	2	5	11
Pneumopathie	3	1	3	3	3	2	2	1	1	1	20
Prostatite	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Infection oculaire	0	0	0	3	0	1	1	1	2	0	8
Infection cutanée	0	0	0	3	2	2	2	0	0	0	9
Abcès	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	3
Fièvre/Céphalées	0	0	0	0	1	1	1	4	0	0	7
Lymphome	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
Sans information	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Total	27	18	20	45	36	32	32	26	25	27	288

Âge et répartition par sexe des patients avec listériose non materno-néonatale :

L'âge moyen des patients avec forme non-MN est de 69,8 ans entre 2017 et 2021 (2021: 69,6 ans), avec une médiane de 76 ans (0 à 93 ans; 74 ans en 2021 et 62 ans en 1999). Cette tendance pourrait refléter l'allongement de la durée de vie observée dans la population française (<https://www.insee.fr/fr/statistiques/2381472>), mais aussi l'administration de traitements immunosuppresseurs à des patients de plus en plus âgés (Figure 12).

La distribution par classe d'âge des cas non materno-néonataux illustre la rareté de ces cas dans la classe d'âge 1-44 ans (Figure 13).

En 2017 et 2019, parmi les sujets de plus de 60 ans, on notait également une répartition bimodale des cas : patients âgés d'environ 65 ans et d'environ 75 ans, qui n'a pas été observée en 2021. Les données de l'étude observationnelle MONALISA permettent de suggérer que ces patients présentent des caractéristiques différentes : patients âgés avec comorbidités liées à l'âge, et patients moins âgés, mais porteurs de comorbidités immunosuppresseuses (2).

Figure 12. Données cliniques associées aux souches réceptionnées de 2012 à 2021 (formes cliniques et l'âge du patient). En rouge, les cas de 2021.

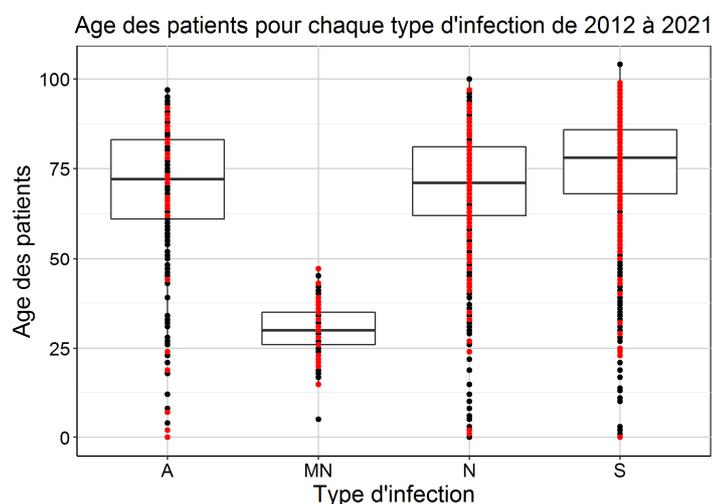
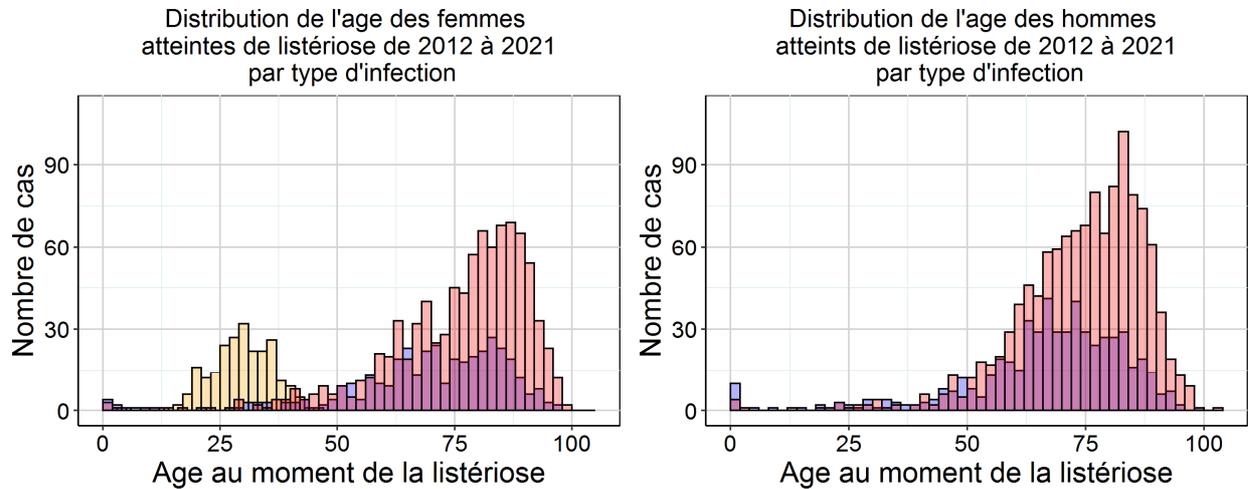
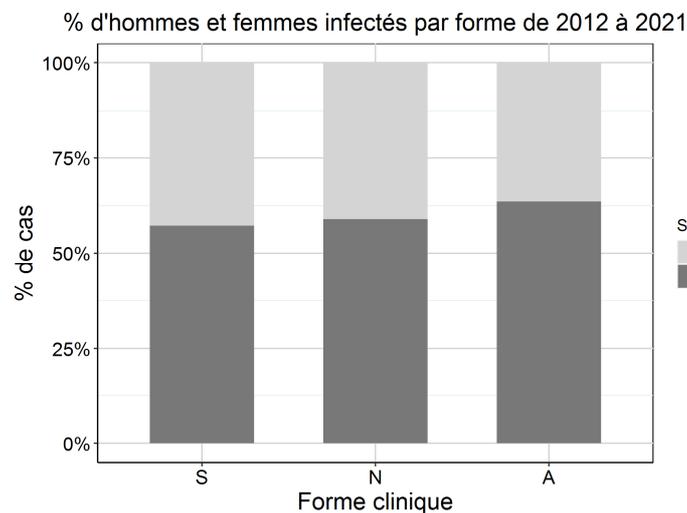


Figure 13. Distribution de l'âge des patients atteints de listériose entre 2012 et 2021 selon le sexe et le type d'infection. En jaune, les formes materno-néonatales. En rouge, les septicémies. En bleu, les formes neuroméningées. En violet, la superposition entre les formes septicémiques et des formes neuroméningées.



La distribution par sexe montre un excès significatif d'hommes par rapport au sex-ratio attendu dans cette classe d'âge (Figure 14). Le sex-ratio M/F était ainsi de 1,4 entre 2017 et 2021 (2021 : 1,6) comme depuis 2016 (avec 59 % d'hommes (2011-2020 : 59%)). Cette prédominance masculine des formes non-MN est constatée dans d'autres pays occidentaux (15, 73), et reste inexpliquée (différences d'exposition alimentaire ? prédisposition génétique liée au sexe ? différences de réponses immunitaires liées sexe ? nombre de comorbidités immunosuppressives ?).

Figure 14. Répartition du sexe selon les formes cliniques S, N et A de 2012 à 2021.



3.2.2.2.2. Analyse microbiologique

Analyse par groupe PCR

Analyse générale

Les distributions par groupe PCR et par année des souches d'origine humaine isolées de 2012 à 2021 en France métropolitaine sont présentées dans le Tableau 4 et Figure 15.

Le groupe PCR majoritaire des souches humaines isolées était le groupe PCR IVb comme depuis 2017. Entre 2017 et 2021, il représente 54% des souches, suivi du groupe PCR IIa (35%), IIb (9%), IIc (2%) et L (<1%). Depuis 2006, cette distribution est stable, et diffère de celle observée pour les souches alimentaires, pour lesquelles le groupe PCR IIa est majoritaire (59% entre 2017-2021 contre 2021 : 60%) (Figure 15).

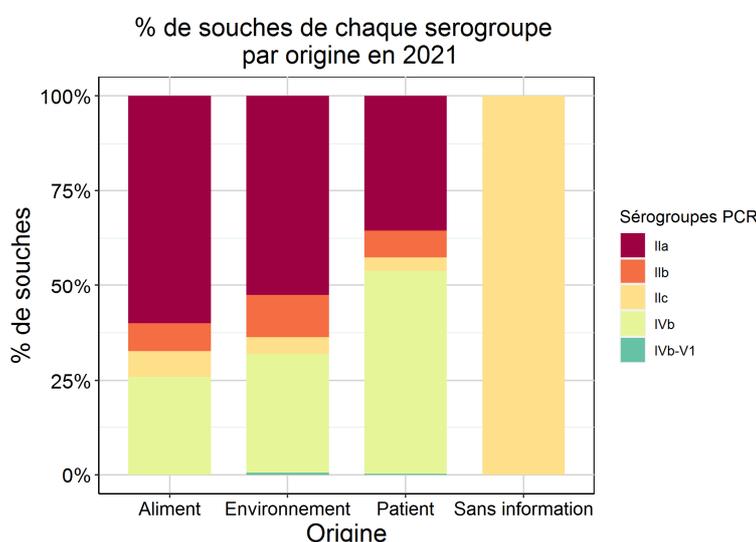
Trois souches d'origine humaine de bactériémies appartenant au variant v1 du groupe PCR IVb ont été identifiées en France entre 2017 et 2021. Une souche de ce variant IVb-v1 (22) a été identifiée dans des aliments en 2021 (18, 57).

La distribution mensuelle et par provenance des principaux groupes PCR ne met pas en évidence de saisonnalité ou de disparité géographique.

Tableau 4. Répartition des groupes PCR par année des souches d'origine humaine depuis 2012.

Groupe PCR	Souches du sérovar	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
IIa	1/2a ou 3a	98 (29%)	135 (37%)	137 (38%)	129 (32%)	126 (35%)	138 (39%)	104 (32%)	119 (34%)	96 (31%)	148 (36%)
IIb	1/2b, 3b ou 7	43 (13%)	32 (9%)	39 (11%)	65 (16%)	45 (13%)	42 (12%)	32 (10%)	28 (8%)	21 (7%)	29 (7%)
IIc	1/2c ou 3c	12 (3%)	12 (3%)	9 (3%)	10 (3%)	9 (3%)	6 (2%)	12 (4%)	9 (3%)	7 (2%)	14 (3%)
IVb (+IVb-v1)	4b, 4d ou 4e	185 (55%)	182+2 (51%)	172+2 (48%)	198 (49%)	176+1 (49%)	166+1 (47%)	177 (54%)	195+1 (56%)	185 (60%)	223+1 (54%)
L	4ab ou 4c ou 4a	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (<1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Total		338	363	359	402	357	353	326	352	309	415

Figure 15. Répartition des sérogroupes PCR par origine.



Distribution des groupes PCR selon la forme clinique

Les souches des groupes PCR IVb et IIa sont les plus fréquentes parmi les isolats cliniques, quel que soit le type d'infection (Tableau 5 et Figure 15). Entre 2017 et 2021, le géno-séro-groupe IVb est impliqué dans 53% des listérioses (2021: 53%), et dans 66% (2021: 64%) des formes MN et 62% (2021: 63%) des formes N (Tableau 5). Le groupe PCR IIc n'est que très rarement responsable de listérioses humaines, en particulier pour les formes materno-néonatales (2 cas entre 2017 et 2021) et neurologiques. La grande majorité des souches IIc expriment une internaline (InIA) tronquée (26, 74, 75). Il n'y a pas de corrélation entre l'âge du patient et le groupe PCR.

Tableau 5. Répartition des groupes PCR des souches selon les formes cliniques en 2017-2021.

	Materno-néonatale		Septicémie		Infections du système nerveux central		Autres formes		Total	
	2017-2021	2021	2017-2021	2021	2017-2021	2021	2017-2021	2021	2017-2021	2021
Ila	30	7	397	100	122	32	58	9	577 (36%)	148 (36%)
Iib	19	3	93	16	31	8	9	2	133 (8%)	29 (7%)
Iic	2	2	31	9	9	2	5	1	45 (3%)	14 (3%)
IVb + IVb _{v1}	298	21	510+2	117	265+1	70+1	73	15	848+3 (53%)	223+1 (54%)
L	0	0	1	0	0	0	0	0	1 (<1%)	0 (0%)
Total	149	33	218	242	428	113	145	27	1607	415

Analyse MLST

Depuis 2015, le CNRL détermine le CT (cgMLST) et CC (MLST) de ces souches par une extraction *in silico* de profils alléliques de la séquence génomique. Ceci permet d'étudier la prévalence et la distribution des CC dans les échantillons cliniques et alimentaires, en complément des données de MLST des souches typées depuis 2005 et avant l'ère du séquençage systématique (26).

Aspect général

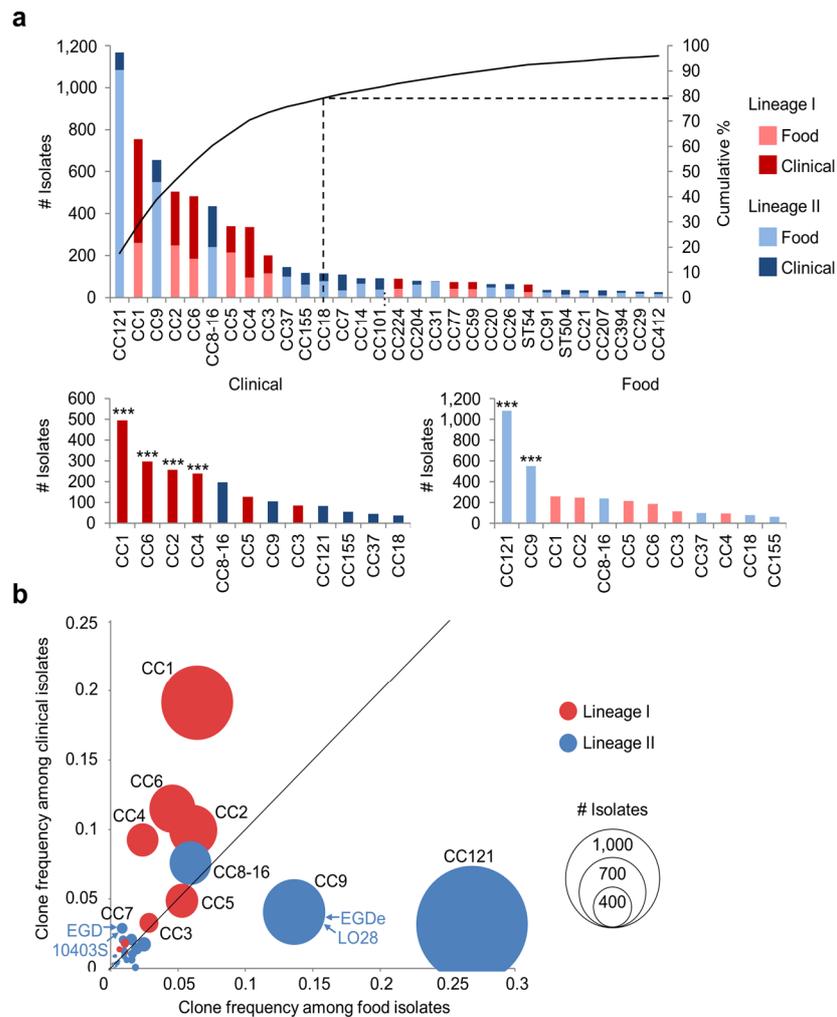
La prévalence et la distribution des clones MLST dans les échantillons cliniques et alimentaires ont été étudiées sur 6633 isolats collectés de manière exhaustive par le CNRL entre 2005 et 2013 (26).

Cette étude a démontré l'existence de 12 clones MLST majeurs chez *Lm*, qui représentent près de 80% des souches cliniques et alimentaires (Figure 16). En France, les clones CC1, CC2, CC4 et CC6 sont significativement plus fréquemment identifiés dans des échantillons cliniques que dans des échantillons alimentaires, alors que les clones CC9 et CC121 sont significativement associés à une origine alimentaire. Le complexe clonal CC1 est essentiellement associé aux formes neurologiques, les clones CC1, CC2 et CC4 aux formes materno-néonatales et les clones CC8+CC16, CC9 ainsi que CC121 aux formes septicémiques. Cette étude, en utilisant certaines données de l'étude MONALISA, a également montré que les clones CC1, CC2, CC4 et CC6 infectent des individus faiblement ou non immunodéprimés plus facilement que les autres clones, alors que les clones CC9 et CC121 sont plus souvent isolés de patients très immunodéprimés. L'ensemble de ces résultats, combinés à des tests de virulence *in vivo*, a permis de montrer que les clones CC1, CC2, CC4 et CC6 sont hypervirulents, alors que les clones CC9 et CC121 sont hypovirulents (26).

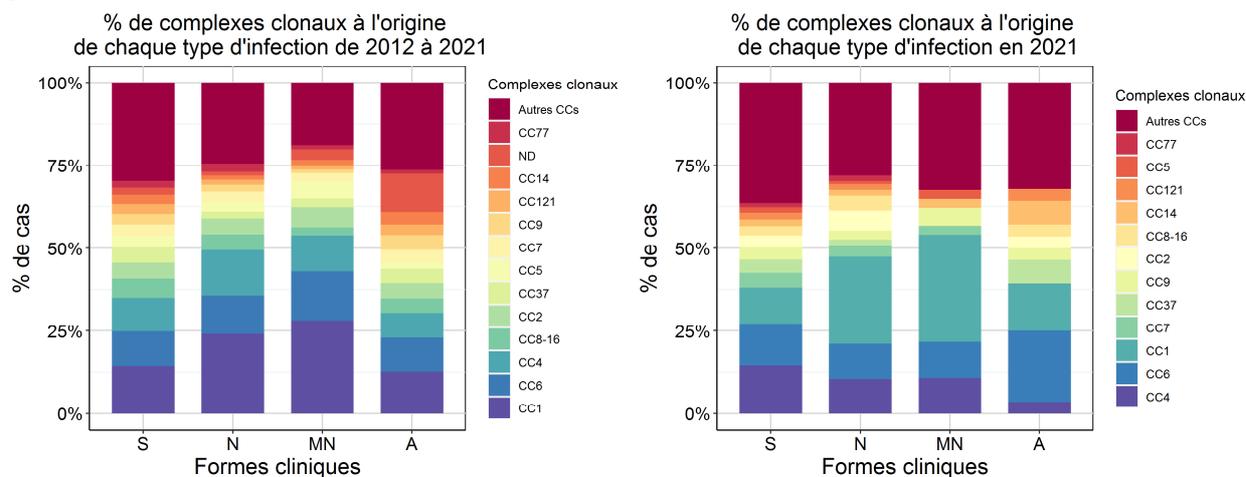
Cette étude a été complétée en 2019 par une étude de la prévalence et la distribution des CC dans les différentes catégories d'aliments (Figure 17), avec l'étude de 3333 isolats alimentaires réceptionnés au CNRL de 2005 à 2016 (49) en comparaison de 3308 isolats d'origine humaine pour la même période d'étude.

Elle a montré que les clones hypervirulents de *Lm* (CC1, CC4 et CC6), particulièrement CC1, étaient fortement associés aux produits laitiers alors que les clones hypovirulents CC9 et CC121 étaient associés aux produits carnés. L'adaptation à des niches écologiques distinctes et/ou à différentes voies de contamination des produits alimentaires peut expliquer cette répartition inégale. En effet, les clones hypervirulents colonisent expérimentalement mieux la lumière intestinale et envahissent plus le tissu intestinal que les hypovirulents, ce qui suggère une meilleure adaptation à l'hôte, dont les bovins, ovins et caprins à l'origine des produits laitiers. À l'inverse, les clones hypovirulents sont adaptés aux environnements de transformation des aliments, avec une prévalence plus élevée de gènes de résistance au stress et de tolérance au chlorure de benzalkonium et une capacité de survie et de formation de biofilm plus élevée en présence de concentrations sublétales de chlorure de benzalkonium dans lequel il évolue.

Figure 16. Prévalence et distribution des clones MLST de *Lm* dans les sources cliniques et alimentaires d'isolement (Maury, Tsai *et al.*, Nature Genetics 2016). Seuls les clones avec plus de 10 isolats sont représentés. (a) Prévalence des clones MLST de *Lm*. La courbe représente le pourcentage cumulatif d'isolats des différents clones, les clones étant ordonnés par nombre d'isolats et (b) Fréquence des clones au sein des isolats alimentaires (axe des X) et les isolats cliniques (axe des Y). La taille des cercles est proportionnelle au nombre d'isolats. Les positions des souches de référence sont indiquées.



B



Analyse génomique par cgMLST

Entre 2017 et 2021, les 2127 souches humaines appartiennent à 773 cgMLST types (2021 : 344). 541 cgMLST types étaient sporadiques (1 isolat/cgMLST type) et 232 faisaient partie de clusters des cas.

L'analyse des clusters de cas réalisée par le CNRL et SPF se trouve au point 3.4.2. de ce rapport.

3.2.2.3. Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

Lm présente une résistance naturelle *in vitro* aux céphalosporines de 3^e génération, à la clindamycine, à la fosfomycine, aux sulfonamides et à l'acide nalidixique.

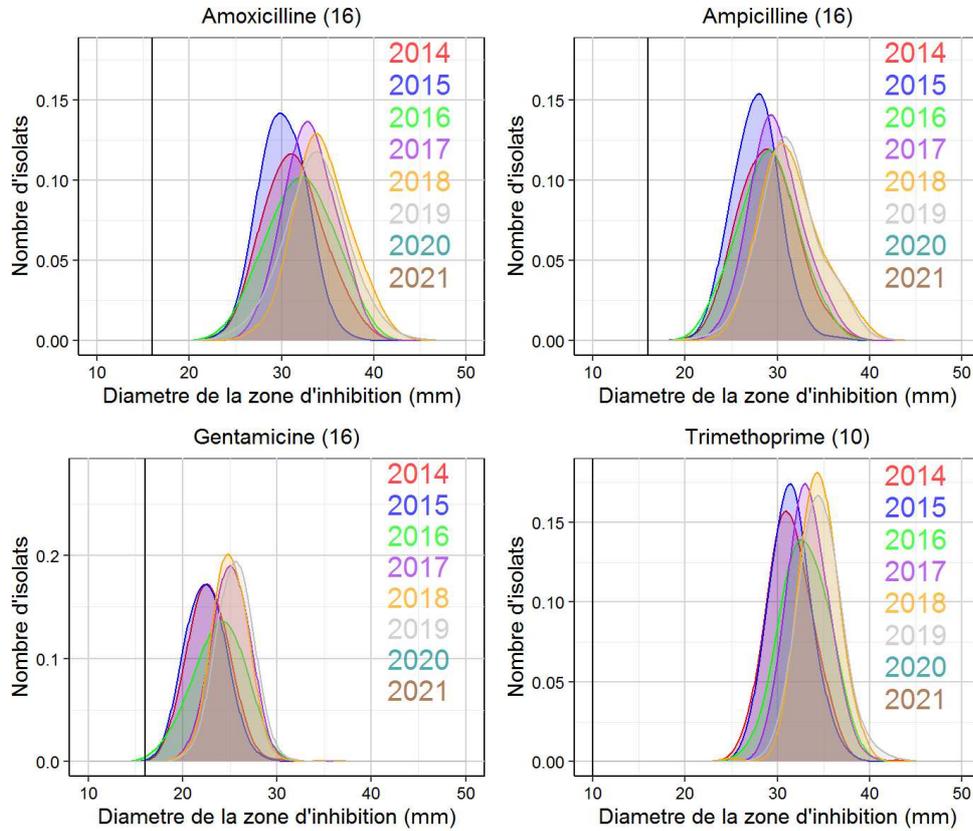
Depuis 2001, toutes les souches cliniques reçues au CNRL étaient sensibles à l'ampicilline, à l'amoxicilline, à la gentamicine (Figure 19), à l'imipénème, à l'acide fusidique, à la pénicilline et au chloramphénicol (24).

Entre 2017 et 2021, aucune résistance à l'érythromycine, à la moxifloxacine, à la lévofloxacine, à la vancomycine, à la ciprofloxacine, à la rifampicine, au triméthoprime, à la kanamycine et la streptomycine n'a été observée sur les souches cliniques. Une résistance contact à la tétracycline a été identifiée chez quelques souches humaines (1 en 2017; 1 en 2019; 2 en 2020 et 3 en 2021), associée à la présence du gène de résistance *tetM*. Aucune association entre les complexes clonaux MLST et les résistances n'a été observée.

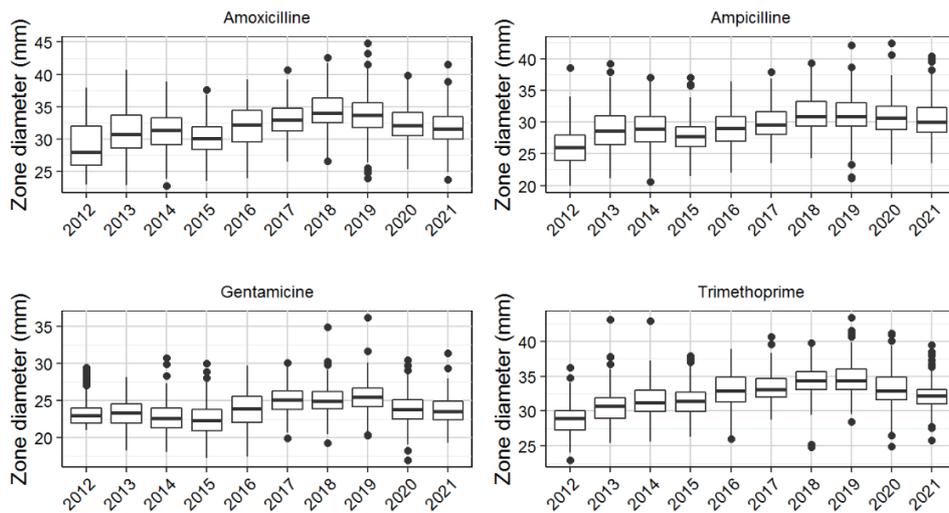
L'analyse des génomes des souches alimentaires et environnementales a permis de détecter la présence des gènes suivants: *aacA4*, impliqué dans résistance à l'amikacine et tobramycine (2017-2021: 76 souches, 2021: 9 souches); *aadC*, impliqué dans la résistance à la streptomycine (2021: 1); *aphA*, impliqué dans la résistance à gentamicine, kanamycine et néomycine (2017-2021: 26; 2021: 11); *ermB*, impliqué dans la résistance à l'érythromycine (2017-2021: 4, 2021: 0); *tetM*, impliqué dans la résistance à la tétracycline (2017-2021, 73; 2021: 4) et *drfD*, impliqué dans la résistance au triméthoprime (2017-2021: 1; 2021: 0).

Figure 19. Distribution des diamètres des zones d'inhibition pour l'ampicilline, l'amoxicilline, la gentamicine et le triméthoprime des souches reçues entre 2014 et 2021. Le trait noir indique la valeur de référence EUCAST définissant la résistance. A : Histogrammes entre 2014 et 2021; B : Boîtes à moustaches entre 2014 et 2021.

A



B



3.2.3. Caractérisation des souches d'origine non humaine

Les souches isolées lors de contrôles sanitaires officiels ou d'autocontrôles (dépassements du critère microbiologique de sécurité déclenchant une alerte produit auprès de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) en fonction du type d'aliment concerné, et d'investigations autour de cas humain) sont systématiquement adressées au CNRL. Chaque professionnel de l'industrie agroalimentaire (laboratoires privés ou publics) peut également, dans le cadre d'autocontrôles, envoyer ses souches pour caractérisation au CNRL. Le LNRI reçoit également les souches des plans annuels de surveillance et de contrôle de *Lm* conduits par la DGAL, afin d'estimer le niveau de contamination d'aliments de différentes filières. Le CNRL reçoit enfin des souches alimentaires dans le cadre de contre-expertises diligentées par les assureurs pour confirmation de résultats de caractérisation.

En 2019, la loi États généraux de l'Alimentation (EGALIM) par son article 50 a renforcé la déclaration des alertes-produits (résultats d'autocontrôles défavorables) et les sanctions encourues par les exploitants du secteur agroalimentaire. Cet article 50 couvre tous les produits (sous la responsabilité de l'exploitant du secteur alimentaire ou sur le marché), mais ne modifie pas la procédure de gestion des alertes des produits mis sur le marché et ne prévoit pas de nouvelle disposition sur la gestion de la maîtrise des risques sanitaires par l'exploitant. Dans ce cadre, l'instruction-technique DGAL/SDSSA/2019-555 parue le 30 Juillet 2019 introduit une nouveauté avec le signalement en cas d'analyses défavorables sur les produits sous la responsabilité de l'exploitant uniquement (avant mise sur le marché) ou sur l'environnement de production selon les cas.

La DGAL a rappelé en 2020, par un document établi avec le CNRL adressées aux DDPP le cheminement des souches dans le cadre des investigations et des alertes-produits. Les souches d'autocontrôles défavorables devraient avoir une nomenclature spécifique et une demande d'analyses en cgMLST plus qu'en génosérogroupe comme le demande fréquemment l'opérateur agroalimentaire, ce qui ne lui permet pas de détecter la persistance éventuelle d'une souche d'atelier.

Une souche d'origine animale (vétérinaire) a été transmise au CNRL en 2019 dans le contexte d'une otite de chien avec une *L. monocytogenes* CC9. Plus généralement, l'étude des souches vétérinaires serait intéressante, afin de mieux comprendre les chaînes de transmission de cette bactérie de l'animal à l'homme.

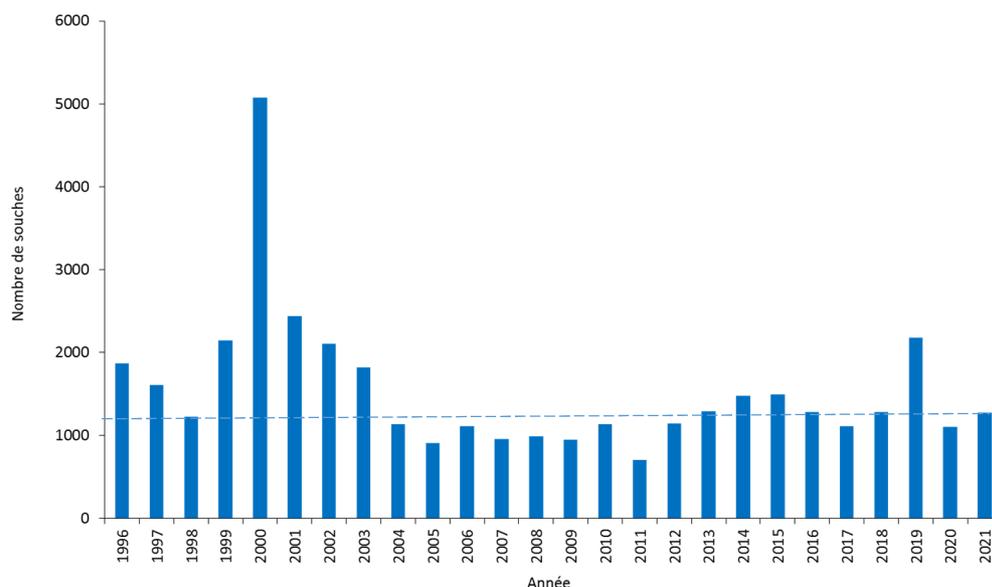
3.2.3.1. Analyse générale

Cette activité consiste à caractériser les souches isolées d'aliments ou de l'environnement agroalimentaire envoyées au CNRL pour :

- participer au plan de maîtrise des opérateurs agroalimentaires concernant *Listeria monocytogenes* en confirmant les résultats des autocontrôles et en caractérisant les souches,
- participer à l'identification du véhicule alimentaire en cas de cluster cgMLST, de cas groupés ou en début d'épidémie,
- comparer les souches cliniques aux souches alimentaires et identifier leurs caractéristiques respectives,
- constituer une banque de données pour mener les investigations lors de clusters de cas humains ou en début d'épidémie.

En 2017-2021, 7241 souches (2021 : 1275) de cette catégorie ont été reçues de France métropolitaine (augmentation de 16 % par rapport à 2020 (n = 1100)) (Figure 20).

Figure 20. Nombre annuel de souches d'origine non humaine adressées au CNRL par des laboratoires français depuis 1996.



- Les laboratoires expéditeurs

La répartition des 7241 souches non humaines reçues au CNRL de 2017 à 2021 (1275 en 2021), par catégories de laboratoires expéditeurs, a montré une diminution continue du nombre de souches envoyées par les Laboratoires Vétérinaires Départementaux (38% pour 2006-2011 et 29% pour 2011-2015) au profit des laboratoires privés, et est la suivante: laboratoires vétérinaires départementaux (19%) [2021: 17%], laboratoires privés d'hygiène alimentaire (78%) [2021: 81%], laboratoires Interrégionaux de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (1%) [2021: 1%], laboratoires ANSES hors LNRI (2%) [2021: <1%], laboratoires d'Hygiène de Centres Hospitaliers (0%) [2021: <1%] et laboratoires de recherche (<1%) [2021: <1%].

De 2017 à 2021, 7191 des souches non humaines provenaient de France métropolitaine (2021: 1263 souches) et 50 des DROM-TOM-COM (La Réunion et Guyane) (2021: 12, La Réunion).

- L'origine des souches

La répartition par origine des souches non humaines reçues entre 2017 et 2021 était la suivante: alimentaire (75%) [2021: 74%], environnementale (25%) [2021: 26], recherche/sans information (<1%) [2015: <1%], et vétérinaire (<1%) [2021:<1%].

Les proportions respectives des origines des souches non humaines sont globalement stables d'année en année depuis 2006.

- Remarques globales de fonctionnement

96% des souches reçues en 2017-2021 (contre 88% de 2011-2015) appartenaient à l'espèce *Lm* (97% en 2021), qui est la seule mentionnée dans les réglementations de sécurité sanitaire des aliments et de l'environnement agroalimentaire. Certains laboratoires, à la demande de leurs clients, envoient pour confirmation des souches d'autres espèces de *Listeria* dans le cadre de la surveillance de *Listeria* spp. dans l'environnement des ateliers de production et de leur plan de maîtrise sanitaire (76) et suite à la parution de l'instruction technique DGAI/SDSSA/2019-555.

Le taux de réception de cultures non pures, contaminées par d'autres espèces bactériennes et rapidement détectées à l'isolement par l'identification MALDI-TOF MS est passé de 24% en 2017 à 11% en 2021. Les cultures non pures entraînent un surcout analytique, allongent le délai d'analyse et peuvent entraîner un retard dans les investigations épidémiologiques.

3.2.3.2. Souches isolées d'aliments

3.2.3.2.1. Catégories de laboratoires ayant adressé les souches

La répartition des 5402 souches isolées d'aliments reçues au CNRL entre 2017 et 2021 (946 en 2021) respectivement pour les différentes catégories de laboratoires expéditeurs était la suivante: Laboratoires Vétérinaires Départementaux (17%) [2021: 16%], laboratoires privés d'hygiène alimentaire (81%) [2021: 82%], laboratoires Interrégionaux de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (1%) [2021: 1%], Laboratoires ANSES dont LNRI (<1%) [2021: <1%], et laboratoires d'hygiène de Centres Hospitaliers (<1%) [2021: <1%].

En 2021, le nombre de souches isolées d'aliments reçues au CNRL a augmenté de 17% par rapport à 2020. Parmi elles et comme entre 2017-2021, 6 souches provenaient d'un échantillon prélevé dans le cadre d'un plan de surveillance ou de contrôle géré par la DGAL et le LNRI, mais confié par la DGAL au CNRL pour intégration dans la surveillance nationale et aucune souche n'a été envoyée au CNRL par le LNRI dans le cadre d'investigation de clusters.

3.2.3.2.2. Nombre de souches et distribution par espèce

Sur un total de 5402 (2021: 946) souches d'origine alimentaire reçues au CNRL entre 2017 et 2021, 5273 (98% comme en 2021) ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *Lm*. Pour 11 envois (2021:4), les souches n'ont pas pu être analysées: abandon d'analyses (3; 2 en 2021), tubes nonensemencés (4; 1 en 2021), tubes cassés (4; 1 en 2021).

Entre 2017-2021, 17 souches (2021: 2) n'appartenaient pas au genre *Lm* (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus casseliflavus*, *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus circulans* et *Bacillus* sp. dont les colonies ont un aspect évocateur de *Listeria* spp. sur milieu Agar selon Ottaviani et Agosti (77)) et ont été identifiés par MALDI-TOF MS et séquençage du gène 16S rRNA.

En 2018-2019, le CNRL avait détecté de nombreuses souches contaminées avec *E. faecalis* sur les milieux ALOA/ALOA-Like ce qui a été notifié aux fabricants. Cette bactérie est esculine positive, rhamnose positive et peut avoir une PI-PLC comme *L. monocytogenes*.

La répartition par espèce des 101 souches de non-*L. monocytogenes* d'origine alimentaire reçues entre 2017 et 2021 (15 en 2021) était la suivante: *L. innocua* (59%) [2021: 87%], *L. ivanovii* (5%) [2021: 13%]; *L. welshimeri* (32%) [2021, 0 %], *L. seeligerii* (1%) [2021, 0 %] et *L. grayi*: (3%) [2021, 0 %].

En 2017, une souche de *L. innocua* présentait l'ilot de pathogénéicité LIPI-1.

L'identification des espèces est confirmée par l'analyse ANIb (Average Nucleotide Identification by BLAST) des souches à partir des séquences génomiques.

3.2.3.2.3. Distribution des souches de *L. monocytogenes* par catégorie d'aliments

La répartition par catégories d'aliments des 5273 souches de *Lm* d'origine alimentaire reçues au CNRL entre 2017 et 2021 (925 en 2021) était la suivante: viande et produits carnés (38%) [2021: 32%], lait et produits laitiers (44%) [2021: 30%], produits de la pêche (12%) [2021: 9%]; végétaux (4%) [2021: 4%], autres aliments (9%) [2021:8%], et sans information (4%) [2021: 2%]

La distribution est stable depuis 2011. Les « autres aliments » sont principalement des plats cuisinés et des pâtisseries. Les origines non précisées correspondent à des souches envoyées par des laboratoires privés qui n'ont pas souhaité transmettre cette information.

Le CNRL identifie par l'analyse de la séquence génomique, la présence de gènes associés à la tolérance aux désinfectants/biocides. Ces composés sont très utilisés par les industries agroalimentaires, en médecine et en cosmétologie pour la désinfection des ateliers, surfaces et équipements.

3.2.3.2.4. Distribution des souches alimentaires de *L. monocytogenes* par groupe PCR

La répartition des souches par groupes PCR et par catégories d'aliments est présentée dans le Tableau 5. Le groupe majoritaire est le groupe PCR IIa (sérovars 1/2a, 3a), quelle que soit la catégorie d'aliment, comme depuis 2006. Il est suivi par les groupes PCR IVb et IIc.

Comme l'illustrent la Figure 21 et le Tableau 6, le groupe PCR IVb (sérovars 4b, 4d et 4e) représente 22% des souches alimentaires analysées entre 2017 et 2021 (26% en 2021), en légère augmentation (18-20% des souches isolées d'aliments de 2011 à 2021), alors qu'il est le groupe le plus fréquemment impliqué en pathologie humaine. En revanche, le groupe IIc, très présent dans les aliments, est très rare en clinique. Ceci suggère une virulence accrue des souches du groupe IVb par rapport aux autres (74, 75, 78-80), ce que nous avons démontré expérimentalement (74, 75, 78-80). Les souches de ce groupe expriment une InA fonctionnelle (facteur de virulence permettant la traversée des barrières intestinale et placentaire de l'hôte), tandis que celles du groupe IIc expriment en majorité une InA tronquée et non fonctionnelle (74, 75, 80). Dans un modèle murin humanisé d'infection, les souches du groupe IVb sont plus virulentes (26).

Figure 21. Distribution par groupes PCR des souches de *Lm* cliniques et alimentaires en 2021 et entre 2006 et 2021

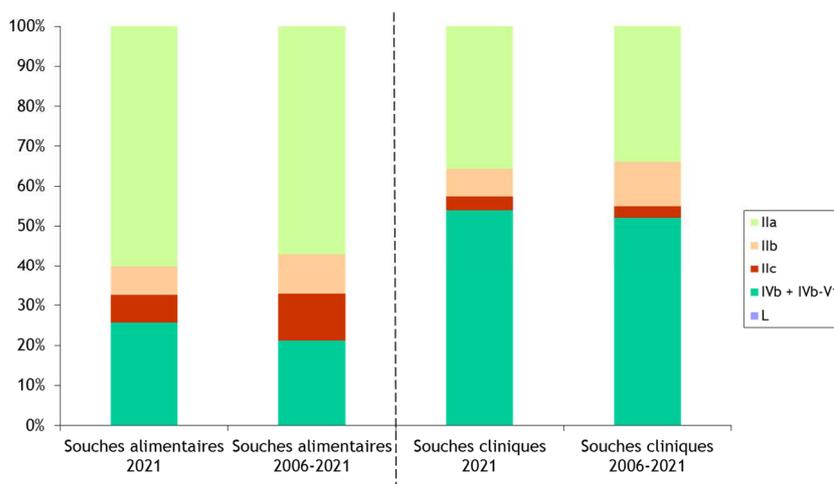


Tableau 6. Distribution par groupes PCR et par catégories d'aliments des souches alimentaires de *Lm* reçues au CNRL entre 2017-2021 (en italiques) et 2021.

Groupe PCR	viande et produits carnés	lait et produits laitiers	produits de la pêche	végétaux	autres aliments	origine non précisée	Total	Souches humaines
IIa	1167 (197)	864 (198)	550 (75)	140 (22)	310 (51)	86 (12)	3117 (59%) [555 (60%)]	607 (35%) [148 (36%)]
IIb	119 (25)	147 (36)	32 (1)	33 (3)	52 (2)	24 (2)	407 (7%) [69 (7%)]	152 (9%) [29 (7%)]
IIc	437 (44)	21 (7)	34 (3)	11 (1)	43 (9)	7 (0)	553 (10%) [64 (7%)]	47 (3%) [14 (3%)]
IVb + IVb _{v1}	260 (28)	757+2 (169)	37 (4)	36 (12)	71 (16)	21 (7)	1182+2 (22%) [236 (26%)]	946+3 (54%) [223+1 (54%)]
L	5 (0)	5 (1)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	12 (<1%) [1 (<1%)]	1 (<1%) [0 (0%)]
Total	1988 (294)	1796 (411)	665 (83)	220 (38)	476 (78)	138 (21)	5273 (925)	1756 (415)

3.2.3.2.5. Distribution des souches alimentaires de *L. monocytogenes* par complexe clonaux

Des résultats similaires peuvent être obtenus par typage MLST (Figure 14). Entre 2017-2021, certains complexes clonaux, comme CC121 (19%; 2021: 20%) et CC9 (11%; 2021: 8%) sont surreprésentés parmi les souches alimentaires et sont hypovirulents (38, 49), mais depuis 2021 le clone CC4 représente 12% des CC (contre 5% de 2017-2021). À l'inverse, les clones CC1 (2017-2021: 18%; 2021: 16%), CC6 (2017-2021: 12%; 2021: 14%) et CC4 (2017-2021: 12%; 2021: 13%) sont surreprésentés en pathologie humaine, et sont hypervirulents (38, 49).

Les CCs les plus fréquents dans les aliments étaient, par ordre décroissant, de 2017 à 2021, CC121, CC9, CC8, CC1, CC6, CC4, CC37 et CC5.

3.2.3.3. Souches isolées de l'environnement

Entre 2017 et 2021, 1808 souches (2021: 326) provenant de l'environnement de production alimentaire ont été reçues au CNRL, adressées par des laboratoires vétérinaires départementaux (23%, 2021: 17%), des laboratoires privés (70%, 2021: 79%), des laboratoires de la DGCCRF (<1%; 2021: 2%), et de l'ANSES (LCSSV) (7%, 2021: 2%). Il s'agit principalement d'échantillons prélevés sur des surfaces dans des industries agroalimentaires (article 5 du règlement européen EC 2073/2005 modifié sur les prélèvements de surface en agroalimentaire et avec le guide complémentaire à la norme EN ISO 18593 (révisée en 2018) et le guide complémentaire sur les prélèvements de surface pour *Lm*: Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Lm*: <https://eur-listeria.anses.fr/en/system/files/LIS-Cr-201213D1.pdf>) et des suites de signalements dans le cadre de l'instruction technique DGAI/SDSSA/2019-555 ou isolées de réfrigérateurs dans le cadre d'enquêtes alimentaires.

Ces 1805 souches de *Listeria* (et 3 tubes cassés ou non ensemencés) appartenaient entre 2017 et 2021 (2021: 326) à l'espèce *L. monocytogenes* (92%; 2021:95%), *L. innocua* (5%; 2021:3%), *L. welshimeri* (1%; 2021:1%), *L. ivanovii* (<1%; 2021: <1%); *L. grayi* (<1%; 2021:<1%), et 7 (en 2021: 0) souches non-*Listeria* (*Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus faecalis* et *Bacillus* spp.).

La répartition par groupe PCR des 1658 souches de *Lm* environnementales isolées respectivement en 2017 et en 2021 (311 en 2021), est la suivante par groupe PCR: IIa (66%; 2021: 62%), IIb (7%; 2021: 8%), IIc (7%; 2021: 5%); IVb (18%; 2021: 24%) et L (<1%; 2021: <1%). Les souches des groupes PCR IIa, IIc, et IIb sont majoritaires et représentent 80% (2021: 80 %) des souches.

Entre 2017 et 2021, les CCs les plus fréquents dans l'environnement de production alimentaire étaient, par ordre décroissant, CC121, CC9, CC8, CC2, et CC155 alors qu'en 2021, il s'agissait de CC121, CC8, et CC1. De 2012 à 2021, CC121, CC9, CC8, et CC2 étaient les plus représentés. Les CCs hypovirulents et de virulence intermédiaire (26) sont donc prédominants dans cet environnement de production alimentaire.

Ces données restent peu représentatives des souches de l'environnement en général à cause du faible échantillonnage des souches hors production alimentaire. L'isolement de souches à partir d'environnements naturels (tels que le sol, l'eau, la boue) serait important pour comprendre la circulation des souches entre cet environnement, les aliments et l'hôte humain, et pour déterminer la nature des réservoirs de *Listeria*.

3.2.3.4. Enquêtes ou études ponctuelles concourantes à la surveillance

MONALISA study group. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study

Article publié: Charlier C, Perrodeau É, Leclercq A, Cazenave B, Pilmis B, Henry B, Lopes A, Maury MM, Moura A, Goffinet F, Dieye HB, Thouvenot P, Ungeheuer MN, Tourdjman M, Goulet V, de Valk H, Lortholary O, Ravaud P, Lecuit

M; MONALISA study group. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2017 May;17(5):510-519. (1)

ETUDES ASSOCIÉES À LA COHORTE MONALISA

- **MONALISA-BABY** : L'analyse du devenir à 7 ans des enfants avec listériose périnatale a débuté en 2015 (CRC AP-HP 80k€), et permettra d'établir s'il existe chez ces enfants des séquelles à long terme, et le rôle respectif de la prématurité, du sepsis et de l'infection du système nerveux central dans ces séquelles éventuelles (collaboration avec PY Ancel, responsable de la cohorte EPIPAGE2). Ce travail est en cours rédaction.

- **MONALISA-TREAT** : Essai thérapeutique simulé visant à évaluer 4 stratégies antibiotiques différentes dans le cadre des listérioses invasives : traitement précoce (probabiliste) ou retardé jusqu'à la confirmation à J2 en culture de l'infection, par amoxicilline seule ou couplée à la gentamicine. L'approche d'essai thérapeutique simulé permet de mimer les conditions d'un essai sur la base de données de cohorte collectées prospectivement. Ce travail est mené en collaboration avec Ph RAVAUD (CRESS Hôtel Dieu), et financée par la Fondation Sauver La Vie (30k€). Ce travail est en cours d'analyse.

- **MONALISA-GENBIO** : Etude de la susceptibilité génétique de l'hôte vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* (génotypage SNPs des 1100 patients et témoins de l'étude, séquençage d'exome des patients présentant des formes particulièrement sévères ou survenant en l'absence de toute susceptibilité identifiée). En collaboration avec l'Unité de génétique humaine évolutive (Lluis Quintana, Etienne Patin, Institut Pasteur) et Dusan Bogunovic (Mount Sinai Hospital, NYC, USA). (ANR/PRTS 850k€).

Community-acquired bacterial meningitis in adults: in-hospital prognosis, long term disability and determinants of outcome in a multicenter prospective cohort

Personnes impliquées au CNRL dans l'étude COMBAT pour l'encodage des Case Report Form des 32 cas de listériose et pour la participation aux analyses (A. Leclercq, C. Charlier, M. Lecuit)

Article publié: Tubiana S, Varon E, Biron C, Ploy MC, Mourvillier B, Taha MK, Revest M, Poyart C, Martin-Blondel G, Lecuit M, Cua E, Pasquet B, Preau M, Hoen B, Duval X; COMBAT study group; Principal investigator; Steering Committee; Scientific committee: steering committee and the following members; COMBAT Clinical Centers; Coordination and statistical analyses (Clinical trial unit, Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine, AP-HP, Paris); Scientific partnership; Partners. Community-acquired bacterial meningitis in adults: in-hospital prognosis, long term disability and determinants of outcome in a multicentre prospective cohort. *Clin Microbiol Infect*. 2020 Jan 9. pii:S1198-743X(19)30679-2. (81).

A 5-day course of oral antibiotics followed by faecal transplantation to eradicate carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a randomized clinical trial

Collaboration dans le cadre d'expertises de selles de patients pour la détection de *Listeria monocytogenes* viables dans le cadre du projet R-GNOSIS.

Article publié: Huttner BD, de Lastours V, Wassenberg M, Maharshak N, Mauris A, Galperine T, Zanichelli V, Kapel N, Bellanger A, Olearo F, Duval X, Armand-Lefevre L, Carmeli Y, Bonten M, Fantin B, Harbarth S; R-Gnosis WP3 study group. A 5-day course of oral antibiotics followed by faecal transplantation to eradicate carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect*. 2019 Jul; 25(7):830-838. (82)

3.3. Le conseil aux professionnels ou aux autorités compétentes

Le CNRL a également pour mission la mise à jour et la diffusion des connaissances sur *Listeria* et la listériose

- auprès du grand public, et notamment pour les personnes à risque;
- auprès des professionnels de santé et du secteur agroalimentaire afin de les renseigner et les sensibiliser au danger représenté par *Lm*.

3.3.1. Centre de documentation et publication avec les laboratoires correspondants

Le CNRL/CC-OMS *Listeria* dispose d'une collection d'articles papier de 1956 à 2000 sur *Listeria* et un accès aux bases de données en ligne pour les articles de 2000 à nos jours, ainsi qu'une collection d'ouvrages de référence et de données historiques. Les chercheurs, étudiants, praticiens ou hygiénistes qui en font la demande peuvent consulter ce centre de documentation et en obtenir des informations. Chaque année, le CNRL procure environ 60 documents pour des chercheurs ou praticiens ou opérateurs agroalimentaires voulant approfondir leurs connaissances ou pour la rédaction de publications ou pour accompagner leur rapport d'essais dans des cas ou souches atypiques.

3.3.2. Site Internet

Le CNRL/CC-OMS des *Listeria* dispose d'un site internet en français et anglais: (<http://www.pasteur.fr/cnr/Listeria>), qui est incorporé au site des CNR de l'Institut Pasteur formant le LREMS (Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite) et est au minimum actualisé tous les 6 mois.

Il contient des informations sur les missions du CNRL, ses rapports d'activité, la listériose, des recommandations pour les professionnels de santé, les laboratoires (dont les éléments de conseils méthodologiques décrits en annexe A), les opérateurs agroalimentaires et patients, des liens vers les sites des partenaires du CNRL, et des informations pratiques comme la manière d'envoyer les souches au CNRL (contrat de prestation, feuilles de renseignements).

3.3.3. Enseignements, Formations, Accueil de stagiaires

Les membres du CNRL animent chaque année de multiples formations microbiologiques médicales et agroalimentaires: diplômes universitaires médicaux, formation médicale initiale des obstétriciens et infectiologues, séminaires de formation continue au sein de services hospitalo-universitaires d'Obstétrique, de Médecine Interne ou de Maladies Infectieuses sur différents sujets ayant trait à la listériose.

Entre 2017 et 2021, Marc Lecuit a encadré des étudiants et effectué les enseignements suivants:

- Cours en M1 et M2 de Microbiologie et Biologie cellulaire, Université Paris, Sorbonne Université, ENS.
- Cours de Maladies infectieuses et Microbiologie, Faculté de Médecine de l'Université Paris Cité.
- Direction du travail de 2 étudiants en thèses de doctorat et de 6 post-doctorants.
- Participation à la formation RESER pour des biologistes du Réseau international des Instituts Pasteur, Institut Pasteur, 26 novembre 2018, sur « WGS et référence: exemple *Listeria monocytogenes* ».

Entre 2017 et 2021, Caroline Charlier a donné les enseignements suivants:

- Animation de 3 formations médicales continues sur Infections et grossesse.
- Staff Médecine Interne Beaujon: Listériose actualités.
- DU Ethique, Social et Humanitaire Paris 5. « Infections et grossesse: description et enjeux » 1H30, 2015-17.
- DU Infection et grossesse Paris 11. « Listériose ». 1H, 2015-18.
- Etudiants en Médecine de DFGSM3. DFGSM3: « Infection et grossesse », 2 heures, 2018.
- DIU - Antibiotique et autres traitements anti-infectieux Poitiers. Infections et grossesse, 3 heures, 2018.
- DU - Infection et grossesse Paris 11. « Listériose », 1 heure, 2018.
- DIU - Stratégies thérapeutiques et préventives en pathologie infectieuse Paris 5. « Anti-infectieux et grossesse, cas cliniques », 2 heures, 2018.
- DES - Maladies Infectieuses. Journée sur Infections et grossesse 8 heures, Octobre 2018.
- DES - Médecine Générale Paris Descartes, 2 heures, 2018.
- Animation d'un staff en réanimation à Louis Mourier, Colombes « Listériose en 2018 », 1 heure, 2018.
- Cours de Maladies Infectieuses Faculté de Médecine de l'Université de Paris étudiants de DFG3 à DFA3 20H/an, 2019-2020.
- Cours Européen de Maladies Infectieuses: étudiants de deuxième cycle de 3 à 6^{ème} année Hamburg, Edinburg, Anvers, Athènes, Rome et Paris: 30H/an, 2019-2020.
- Cours de troisième cycle dans 3 DU/ DIU: 10H/an, 2019-2020.
- Cours de troisième cycle de DES Maladies Infectieuses et Médecine Générale: 8H/an, 2019-2020.
- Cours à l'Institut de Formation en Soins Infirmiers: 4H/an.

- Participation à la formation des techniciens du réseau des Instituts Pasteurs. RESER. Listériose. 1 h en 2019.
- Encadrement de 2 mémoires de sages-femmes, 2019-2020.
- Encadrement de 3 thèses d'exercice de médecine, 2019-2020.
- Participation au jury de 3 thèses de médecine, 2019-2020.
- Conférence invitée à la faculté Catholique de Rome 2019.
- Conférence invitée au collège royal des obstétriciens d'Ecosse 2020.
- Capsule pédagogique sur listériose pour le Groupe Recherche Infections et Grossesse 2020.

Caroline Charlier est membre du conseil de pédagogie de l'UFR médecine de la faculté de santé de l'Université de Paris Cité, membre du conseil pédagogique du DIU Stratégies thérapeutiques en Maladies Infectieuses et Responsable du groupe national de recommandations de la société de pathologies infectieuses sur Infections et périnatalité.

En 2019 et 2020, Alexandre Leclercq a encadré des étudiants ou a réalisé les enseignements suivants:

- participation au comité de thèse:
 - d'une doctorante le 31 octobre 2019 du Dr T. CHERIFI (Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Canada), sur « l'étude de la diversité, de la persistance et de la formation du biofilm chez les souches de *L. monocytogenes* dans des abattoirs de porc au Québec » sous la direction du Prof. P. Fravalo, pour lequel le CNRL avait expertisé des souches en typage génomique.
 - d'une doctorante de l'École Doctorale ABIES (Université Paris-Est) le 17 Décembre 2019, Mme Lena Fritsch, du LNRI sur « Caractérisation de la variabilité intra-spécifique des limites de croissance de *Listeria monocytogenes* à des températures basses et études des mécanismes d'adaptation au froid » sous la direction du Prof. J.C. Augustin (École Vétérinaire de Maisons-Alfort).
 - d'une doctorante de l'Université Abd Al Malek Essaadi (Tetouan, Maroc) le 14 juillet 2018, Dr N. Amajoud, coopération pour la caractérisation des souches alimentaires de *Listeria* en 2016.
- participé à l'atelier GFN / AGISAR sur les enquêtes et la surveillance des maladies d'origine alimentaire (15 au 19 octobre 2018, NICD Johannesburg, Afrique du Sud) avec des 2 conférences sur « La sécurité sanitaire des aliments concernant la listériose » et « Technologies de génotypage de prochaine génération: séquençage du génome entier (WGS) et utilisation des données WGS ». Le CNRL a participé à des ateliers pratiques de laboratoire destinés à partager des connaissances et des compétences dans des domaines tels que l'identification phénotypique d'espèces de *Listeria* ou les tests antimicrobiens avec différents délégués OMS de pays africains.
- participé à la formation RESER pour des biologistes du Réseau international des Instituts Pasteur, Institut Pasteur, 19 novembre 2018, sur « L'importance de la relation microbiologie-épidémiologie dans la surveillance: exemple pratique *Listeria* ».

Entre 2017 et 2021, Alexandra Moura a participé:

- le 15 Octobre 2020 au jury du diplôme de l'École Pratique des hautes Etudes de Madame Claire Yvon (ANSES) sur « Quelle méthode analytique WGS choisir en vue de l'investigation d'évènements sanitaires ? Comparaison d'outils bio-informatiques en vue d'une validation et accréditation de méthode ».

Entre 2017 et 2021, le CNRL a accueilli:

- le Dr. Alexandra MOURA (de 2014 à 2019), chercheur post-doctorante dont le projet s'intitule « Génomique des populations des souches de *Listeria monocytogenes* »;
- l'étudiante Mme Maria José GIRALT ZUNIGA pour un stage de Licence « Typage de souches du Costa Rica. Apprentissage des techniques de typage » du 16 Janvier au 15 mars 2017, dans le but d'établir un système de surveillance des *Listeria* au Costa Rica;
- le Prof. Mauricio Redondo-Solano de la Faculté de Microbiologie, Costa Rica, du 30 septembre au 28 Octobre 2019, pour une formation sur le processus analytique du CNRL et la constitution d'une base de données génomique par cgMLST;
- le Dr Hsiu-Jung Lo de l'Institut National de Recherche en Santé de Taiwan, du 29 octobre 2018 au 31 août 2019, pour une formation sur le processus analytique et la génomique, création d'une base de données génomiques à Taiwan pour la surveillance des *Listeria*;
- le Dr. Monika KURPAS de l'Institut national de recherche vétérinaire, Pulawy, Pologne, du 04 avril 2018 au 04 mai 2018, pour une formation sur le processus analytique et la constitution d'une base de données génomique par cgMLST;

- et participé au programme RESER, réseau d'étude et de surveillance des pathogènes émergents, Institut Pasteur, Paris, France.
 - Stage d'un scientifique de l'Institut Pasteur de Casablanca (Maroc), du 01 au 26 avril 2019 et d'une technicienne de l'Institut Pasteur de Tunis (Tunisie), du 03 au 28 Juin 2019 pour une formation sur ce qu'est un CNR.
 - Formation du responsable scientifique des laboratoires de Tunisie, Maroc, Côte d'Ivoire, Madagascar, Cameroun et Sénégal par des cours avec conférences WHOCCCL sur «WGS et surveillance de la *Listeria*» et «Interaction entre microbiologie et épidémiologie lors d'une surveillance et d'une épidémie», stage de 3 scientifiques du Maroc et du Sénégal, du Centre national de référence pour la méthode et la surveillance de la bactérie *Listeria*, du 10 au 20 novembre 2018.

3.3.4. Participation à la rédaction de communications écrites didactiques

Le CNRL a participé à l'élaboration des chapitres de livres ou de revues didactiques listés dans la partie 4.1 pour les professionnels de santé et de l'agroalimentaire.

En avril 2020, le CNRL a également été corédacteur de la fiche ANSES sur *Lm* (<https://www.anses.fr/fr/content/fiche-de-description-de-danger-biologique-transmissible-par-les-aliments-listeria-0>).

3.3.5. Activité de conseil

De 2017 à 2021, le CNRL a reçu en moyenne 200 demandes d'information des professionnels de santé, de l'alimentaire, des particuliers, des scientifiques et des étudiants par e-mail (listeria@pasteur.fr) (~4/semaine) et environ 300 appels téléphoniques (~5/semaine) (cf. point 4.7 "Prestations de conseils » de la norme NF EN ISO 15189) et point 4.4. "Revue de contrat » de la norme NF EN ISO 17025).

Par ailleurs, de nombreux biologistes et cliniciens ayant participé à l'étude MONALISA sollicitent le CNRL pour des conseils médicaux à propos des patients inclus dans l'étude. Cette étude favorise nos échanges avec les professionnels de santé, qui n'hésitent pas à nous signaler directement des observations cliniques ou microbiologiques atypiques.

3.3.6. Expertises

Veille Internet

Le CNRL/CC-OMS *Listeria* est abonné à plusieurs réseaux d'alertes de santé humaine et alimentaire. Les cadres du CNRL participent au Réseau de Microbiologistes Médicaux (R2M) afin de répondre, le cas échéant, à toutes questions spécifiques sur la listériose ou toutes demandes de bibliographie sur ce sujet. Le CNRL répertorie l'ensemble des sites Internet en langue française et sollicite les modifications de données erronées, ajouter des informations ou effectuer un lien avec le site Internet du CNRL. Il effectue également une veille de la consultation des termes *Listeria*/listérioses sur Google trends et Twitter et des nouvelles publications associées à ce terme sur le web pour détecter un phénomène anormal non rapporté et le rapporter à la cellule *Listeria*. Ceci permet de détecter une augmentation atypique sur des termes dans une zone géographique et une période donnée signalant un phénomène anormal.

Expertises de souches

De 2017 à 2021, le CNRL a reçu 2280 souches isolées de patients ou d'aliments qui lui étaient adressées par des laboratoires de pays étrangers pour expertise.

Le CNRL a également reçu 1648 souches d'origine environnementale et/ou alimentaire (252 en 2021) adressées par des laboratoires d'hygiène et de contrôle des aliments pour leur identification et leur caractérisation dans un cadre de prestations privées payantes.

Les responsables du CNRL sont sollicités pour participer à des réunions nationales ou internationales en temps qu'experts. Le CNRL est aussi régulièrement sollicité pour des demandes d'expertise sur des dossiers spécifiques de listériose, ou pour le typage moléculaire de souches isolées de l'environnement ou d'aliments.

Expertise de méthodes ou de déclarations d'invention ou de projets industriels

De 2017 à 2021, les responsables du CNRL ont participé aux réunions sur la révision des normes françaises, européennes et internationales pour les *Listeria* en microbiologie de la chaîne alimentaire ou ont expertisé des méthodes d'industriels dans le cadre de l'appui technique du CNRL aux autorités compétentes.

Expertise de publications et de projets scientifiques

Entre 2017 et 2021, le CNRL a participé à l'examen d'articles (>120) dans des journaux nationaux et internationaux à comités de lecture (*New England Journal of Medicine*, *PLOS One*, *PLOS pathogens*, *PLOS Outbreaks*, *Lancet Infectious Diseases*, *Frontiers in Microbiology*, *Frontiers in Veterinary Science*, *Epidemiology and Infection*, *Science Reports*, *Clinical Microbiology and Infection*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *International Journal of Food Microbiology*, *Emergence Microbes & Infections*, *Foodborne Pathogens and Disease*, *Genes*, *Food Research International*, *International Journal of Infectious Diseases*, *Journal of Food Protection*, *Letter Applied Microbiology*, *Revue de Médecine interne*). Il a également expertisé des projets scientifiques.

M. Lecuit est membre du comité éditorial de « Virulence », C. Charlier est éditeur pour la section « Maladies Infectieuses » de la Presse médicale, et A. Leclercq est membre du comité éditorial de « Journal of Food Protection », « Food Analytical methods », « International Journal of Food Microbiology », « Frontier in Microbiology ».

Expertises dans des comités nationaux, européens ou internationaux

Les responsables du CNRL ont participé, en tant qu'experts ou conseillers, à différentes instances: ECDC groupe *Listeria*, groupe de travail permanent de la Coordination des Laboratoires de Référence et d'Expertise (Institut Pasteur), Réseau de Microbiologistes Médicaux (R2M), Comité Européen de Normalisation en microbiologie de la chaîne alimentaire CEN TC463, Comité français Afnor V08B, Comité International de normalisation en microbiologie des aliments ISO TC34/SC9, Comité d'experts spécialisés CES « BIORISK » de l'ANSES (jusqu'en avril 2019), groupes d'experts ANSES en 2019 sur « l'attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire » et groupe d'experts JEMRA FAO/OMS comme décrit précédemment.

Conseil auprès de Ministères

Par sa participation à la cellule *Listeria*, le CNRL est en contact presque quotidien avec les services concernés de Santé Publique France (Ministère de la Santé), de la DGAL (Ministère de l'Agriculture) et de la DGCCRF (Ministère de l'Économie).

Conseil auprès de l'ECDC, la FAO, l'OMS

Le CNRL participe avec SPF et les Ministères concernés, aux réponses aux demandes émises par les systèmes EPIS, RASFF, INFOSAN sur des épidémies, des cas groupés ou des produits alimentaires contaminés. Le CNRL participe aux réunions et à la rédaction de documents de l'ECDC et de l'OMS sur *Listeria*, et le laboratoire héberge le CCOMS *Listeria*.

Expertise d'articles du Bulletin de veille de la Plateforme de surveillance de la chaîne alimentaire (DGAI)

Expertise ou avis sur des articles sur *Listeria* pour V. AUVIGNE, DGAI, du Bulletin de veille sanitaire internationale de la plateforme SCA (<https://www.plateforme-sca.fr/>).

3.3.7. Retour d'informations

Le retour d'information prend plusieurs formes:

1. Compte-rendu détaillé des analyses effectuées pour chaque souche envoyée au laboratoire expéditeur. En cas d'atypies sur la souche ou l'observation médicale, le laboratoire expéditeur est contacté par l'un des responsables pour échanges d'informations.
2. Publication des formes atypiques de listérioses.
3. Communications orales dans des congrès nationaux et internationaux des travaux de recherche du CNRL (Congrès l'International Symposium on Problems of *Listeria* and Listeriosis (ISOPOL), XXe Symposium, 24-27 Octobre 2019, Toronto, Canada; réunions multidisciplinaires de chimiothérapie infectieuse (RICAI) en 2017-2021).

Depuis 2007, le rapport d'activité du CNRL (version web) après validation de l'activité de l'année concernée par le comité des CNR est mis en ligne sur notre site web (Adresse <http://www.pasteur.fr/cnr/Listeria> rubrique « actualités-Rapports »).

3.4. Contribution à l'alerte

L'ensemble du système de surveillance et d'alerte français a été décrit dans l'annexe A.

Le détail des clusters et les investigations qui en découlent sont des informations confidentielles de la Cellule Listeria et ne peuvent faire l'objet d'une analyse détaillée dans ce rapport d'activité. Ces données ne peuvent pas être divulguées à des tiers sans autorisation.

3.4.1. Suspensions d'infections nosocomiales

Entre 2017 et 2021, le diagnostic de listériose a été porté après 15 jours d'hospitalisation dans 117 cas (27 en 2021), faisant discuter la possibilité de listérioses nosocomiales (la mise en évidence de cas de listériose groupés temporellement et géographiquement (même hôpital, voire même service)) (83, 84). Dans 10 cas, des souches formaient un cluster qui a été investigué.

Les investigations dans les établissements de santé ont conduit à souligner les points suivants:

- La nécessité de ne pas mettre dans la même pièce des enfants dont un est atteint de listériose comme en 2021 avec la rédaction d'un article en cours avec le Centre Hospitalier concerné;
- La nécessité de communiquer au CNRL l'ensemble des souches prélevées dans le cadre des prélèvements d'environnements des cuisines d'établissements de soins;
- La gestion particulière des investigations dans des cuisines centrales de centres hospitaliers des grandes villes ;
- L'application de la bonne méthodologie de prélèvement des échantillons d'environnement;
- Les renseignements apportés par le CNRL sur la tolérance aux désinfectants ce qui a permis d'adapter la procédure de nettoyage-désinfection en conséquence pour éliminer la souche;
- La possibilité d'échanger avec des homologues étrangers en cas d'établissements frontaliers;
- Considérer le céleri comme un aliment à risque pour les établissements de soins suite à plusieurs épisodes de contamination en établissements de soins en France et aux USA, à intégrer au questionnaire alimentaire.

3.4.2. Clusters cgMLST

Depuis Janvier 2015, le CNRL utilise le séquençage du génome complet des souches (WGS) et la méthode de typage core génome MLST (cgMLST) pour identifier les clusters de souches humaines et/ou humaines + alimentaires/environnementales (18, 57).

L'évolution des clusters et des sources alimentaires identifiés depuis 2015 est présentée dans le tableau 7.

Tableau 7. Evolution des clusters en France et des sources alimentaires identifiées de 2015 à 2021

Année	Nombre de clusters en cours	% Source identifiée	Nombre de nouveaux clusters	% Source identifiée
2015	0	0	57	12% (n=7)
2016	57	12% (n=7)	66	8% (n=5)
2017	124	11% (n=12)	59	10% (n=6)
2018	183	10% (n=12+6*)	57	27% (n=10)
2019	240	16% (n=28+10*)	69	23% (n=16)
2020	309	18% (n=54+3*)	54	11% (n=6)
2021	434	14% (n=57+4*)	64	7% (n=4)

* sources identifiées durant l'année n-1 dans les clusters en cours

Entre 2017 et 2021, le CNRL a identifié 377 [2021: 64] nouveaux clusters et 25 [2021: 72] clusters identifiés avant 2017 ont été actualisés avec l'inclusion de nouvelles souches (humaines, alimentaires ou environnementales). Au total 402 clusters cgMLST (2021: 136) ont été investigués.

Entre 2017 et 2021, ces 379 clusters (2021: 57) étaient constitués de 3199 souches (2021: 396), dont 935 (2021: 54) souches humaines et 2264 (2021: 342) souches non humaines (dont alimentaires: 1753 (2021: 276) et environnementales 498 (2021: 66)) comprenant 1830 (298 en 2021) souches d'alertes produits ou d'investigation autour d'un cas humain. 20 souches de 2021 (2020: 11) sont à ce jour incorporées dans 3 clusters de 2022 (contre 11 en 2020).

Parmi les 377 nouveaux clusters cgMLST identifiés entre 2017-2021, les investigations menées conjointement par le CNRL, SPF et la DGAL ont permis d'identifier une source de contamination dans 14% (2021: 7%) de ces clusters. Entre 2017 et 2021, les nouveaux clusters comportaient de 1 à 21 souches humaines avec une médiane à 2 cas (contre 1 à 7 et médiane de 1 cas en 2021) et 84% (2021: 75%) avaient moins de 3 souches humaines.

Les clusters sont répartis de la façon suivante:

- clusters ponctuels,
- clusters humains et alimentaires/environnementaux persistants,
- clusters majoritairement alimentaires/environnementaux persistants, avec très peu ou pas de cas humains.

Il persiste des clusters purement alimentaires avec des alertes produits sur différentes années signant la persistance de la souche et une exposition humaine.

Le haut pouvoir de discrimination du cgMLST permet de s'affranchir des fenêtres temporelles et spatiales lors de l'investigation des cas groupés. Le cgMLST permet ainsi de détecter des cas liés qui sont géographiquement et temporellement séparés.

Ces caractéristiques sont intéressantes, compte tenu:

- de la distribution rapide des aliments à larges échelles,
- de la conservation d'aliments potentiellement contaminés par congélation sur des périodes de plus de 6 semaines,
- de la persistance des souches chez des opérateurs agroalimentaires ou des établissements de soins.

Ceci souligne également la nécessité d'avoir une plus grande exhaustivité des souches d'autocontrôles permettant d'accroître la capacité de détection des sources de contamination du système de surveillance français.

Le tableau 8 récapitule les épidémies de 1992 à 2021 en France avec identification de la source alimentaire.

L'ensemble de ces investigations soulignent l'importance de **l'efficacité des plans de nettoyage et désinfection** et de la vérification de leur efficacité pour éviter la persistance de *Lm*: produits adaptés par rapport à la tolérance du(es) clone(s) présent(s), personnels formés, nombre d'échantillons prélevés et neutralisants utilisés dans les systèmes de prélèvements des échantillons de surface par les laboratoires.

Tableau 8. Tableau récapitulatif des épidémies françaises de plus de 2 cas de 1992 à 2021 (Source : M. Tourdjman, SpF).

Année	Nombre de cas	Aliments
1992	279	Langue de porc en gelée
1993	38	Rillettes
1995	36	Brie
1997	14	Pont-l'Évêque
1999	4	Époisses
2000	10	Rillettes
2000	32	Langue de porc en gelée
2002	11	Saucisse à tartiner (tartinette)
2003	4	Mortadelle
2012	11	Brie
2013	6	Brebis
2013	11	Quenelles
2013	3	Brebis
2013	2	Brebis
2013	7	Etablissement de soins
2014	2	Maroilles
2014	11	Charcuteries
2015	2	Saint-Nectaire
2015	3	Saint-Nectaire
2015	4	Saint-Nectaire
2015	13	Andouille
2015	2	Saint-Nectaire
2015	3	Fromage de vache
2015	2	Contamination d'environnement de production - Artisan
2015	3	Saint-Nectaire
2016	21	Reblochon
2016	2	Brie aux truffes
2016	2	Charcuterie
2016	19	Fromage de vache (TIAC)
2017	2	Reblochon
2018	2	Fromage de chèvre
2018	18	Brie au lait cru
2018	2	Produits traiteurs
2018	3	Boucherie
2018	3	Viande de cheval
2018	2	Céleri
2018	3	Brebis
2019	15	Brie au lait cru
2019	3	Charcuteries
2019	8	Yaourt bio
2019	2	Jambon
2019	2	Etablissement de restauration collective
2019	4	Fromages
2019	4	Etablissement de soins
2019	11	Fromages
2019	10	Charcuteries
2020	4	Charcuteries
2020	4	Truite fumée
2021	2	Fromage de chèvre

3.4.3. Toxi-infections Alimentaires Collectives et Epidémies

Toxi-infections alimentaires collectives

Une toxi-infection alimentaire collective à *L. monocytogenes* ou cluster familial a été rapportée à notre connaissance en juillet 2021 dans une famille dont un des enfants avait eu une listériose neuroméningée.

Étant donné l'existence de gastroentérites à *L. monocytogenes*, la définition officielle des toxi-infections alimentaires collectives pourrait inclure *L. monocytogenes*.

Epidémies

Epidémie en Espagne en 2019

Le 16 août 2019, les Autorités sanitaires régionales d'Andalousie (Espagne) ont signalé une épidémie de listériose à *Listeria monocytogenes*, associée à la consommation de viande de porc rôtie et réfrigérée contaminée à plus de 15.000 UFC/g fabriquée en Espagne par Magrudis Company Limited et vendu sous la marque « La Mechá ». Les autorités espagnoles ont notifié le 20 août 2019 cette épidémie à l'Organisation mondiale de la Santé par le biais du Réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments (INFOSAN) et une Urgent Inquiry N°594 a été ouverte dans le système EPIS de l'ECDC. Le CNRL a participé avec la cellule *Listeria* sous l'égide du CORRUSS à l'investigation du RASFF 2019.2989 en août 2019.

Le 23 août 2019, la France a notifié par l'intermédiaire du système d'alerte précoce et de réaction (EWRS) de la Commission européenne un cas lié à un voyage impliquant un citoyen étranger s'étant rendu en Andalousie et ayant consommé le produit incriminé. Ce cas de listériose chez un homme de 31 ans, résident du Royaume-Uni, qui a voyagé à travers la France à son retour d'un séjour à Séville. À Séville, il avait partagé un repas composé de porc froid avec 4 amis, le 13/08/2019. Le lendemain, ces amis ont présenté de la fièvre et consulté le service des urgences d'un hôpital de Séville, où on leur a dit que leur fièvre était probablement due à une infection par *Listeria*, contractée par leur consommation de porc froid. Le cas en France présentait également de la fièvre et a été hospitalisé pendant une journée le 16/08/2019. Il est sorti de l'hôpital et a continué son voyage au Royaume-Uni. La souche de *Lm* a été isolée d'une hémoculture. Le génome de cette souche du patient anglais a été transmis au Public Health England à sa demande par le CNRL.

Epidémie aux USA en 2020 (Alerte INFOSAN) – Urgent Inquiry UI-630

En collaboration avec le CDC d'Atlanta (USA), Dr Amanda Conrad, l'unité des alertes DGCCRF et SPF

Article en préparation: A. Tesfai, A. Conrad, E. Pereira, L. Palacios, R. Kandari, A. Kearney, A. Locas, F. Jamieson, E. Elliot, M. Otto, K. Kurdilla, M. Tijerina, I. Son, J. Pettengill, Y. Chen, T. Fox, C. Lane, R. Aguilon, J. Huffman, M. Wise, L. Edwards, S. Bidol, H. Blankenship, H. Rosen, J. Vidanes, A. Leclercq, M. Lecuit, M. Tourdjman, H. Herber, L. S. Singleton, M. Bazaco, S. Viazis. Multinational Outbreak of Listeria monocytogenes Infections Linked to Enoki Mushrooms Imported from the Republic of Korea 2016-2020.

Abstract: The global food supply necessitates international collaborations between countries. Health and regulatory agencies routinely communicate during foodborne illness outbreaks, allowing partners to share investigational evidence. An outbreak of *Listeria monocytogenes* infections involving the United States, Canada, Australia, and France, linked to imported enoki mushrooms, which began in 2016, required a multinational collaborative investigation. Ultimately, this outbreak included 54 ill people (36 in the U.S., 12 in Canada, and 6 in Australia) and was linked to enoki mushrooms sourced from one manufacturer located in the Republic of Korea. Epidemiologic, laboratory, and traceback evidence led to multiple regulatory actions, including extensive voluntary recalls by three firms in the U.S., one firm in Canada, and one firm in Australia. In the U.S. and Canada, the Korean manufacturer was placed on import alert while other international partners provided information about their respective investigations and advised the public to avoid the recalled enoki mushrooms. The breadth of the geographical distribution of this outbreak emphasizes the global reach of the food industry. This investigation provides a powerful example of the impact of national and international collaborative efforts to respond to foodborne illness outbreaks and protect consumers. It also demonstrates the importance of fast international data sharing and collaboration in identifying and stopping foodborne outbreaks in the global community. Additionally, it provides a powerful and meaningful example of the importance of food sampling, testing, and integration of sequencing results into surveillance databases.

Mention de l'implication du système de surveillance français ayant permis de trouver l'origine de cette épidémie et de la collaboration internationale effectuée : *J. B Pettengill, A.n Markell, A. Conrad, H.A Carleton, J. Beal, H. Rand, S. Musser, E. W Brown, M. W Allard, J. Huffman, S. Harris, M.Wise, A Locas, A multinational listeriosis outbreak and the importance of sharing genomic data, The Lancet Microbe, Volume 1, Issue 6, 2020, Pages e233-e234 (85).*

3.4.4. Alertes-produits DGAI et investigations alimentaires

Ces alertes et investigations ont pour but d'identifier des souches alimentaires qui ont des caractéristiques microbiologiques similaires à celles des souches à l'origine d'infections. Les aliments faisant l'objet de ces alertes peuvent avoir diverses origines, avoir été commercialisés ou non, enregistrés par la DGAI sous la forme (i) d'une non-conformité *Listeria*, (ii) d'une notification par une Direction Départementale de Protection des Populations ou (iii) d'une notification via le réseau européen des alertes RASFF. En 2020, la fiche de renseignements du CNRL a été revue avec la MUS/DGAI afin d'incorporer de nouvelles demandes de renseignements permettant un meilleur suivi des producteurs et des alertes à la distribution.

De 2017 à 2021, 5668 souches (950 en 2021) ont été adressées au CNRL dans le cadre des 1818 alertes-produits DGAI, DDPP et des Armées (367 en 2021). Ces souches incluaient 4531 souches alimentaires (767 en 2021), 1136 souches d'environnements agroalimentaires (183 en 2021) et une souche animale. Le nombre de souches par alerte-produit variait de 1 à 190 (médiane 1). **Le nombre de souches envoyées au CNRL par année dans le cadre d'une alerte-produit est stable dans la période 2017-2021 (854 en 2017 vs 950 en 2021).**

En cas d'alerte RASFF, le CNRL, sur la demande de la DGAI, demande à ses homologues étrangers les séquences génomiques assemblées ou les reads des souches *Lm* isolées des aliments incriminés.

Entre 2017 et 2021, à 12 reprises, la DGAI a sollicité des typages génomiques en urgence, dans les alertes produits, réalisé en 4 jours ouvrés et non 9 jours ouvrés en moyenne.

Entre 2017 et 2021, 1924 notifications (2021: 954) ont été faites à la Commission Européenne pour des denrées alimentaires avec des pathogènes alimentaires dont 233 (120 en 2021) concernaient *L. monocytogenes* comprenant 69 (2021: 36) notifiées par la France et 164 (2021: 84) par des pays étrangers ayant un lien avec un produit français (https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en). Le CNRL n'a pas participé aux investigations RASFF sans lien avec les urgent inquiry ECDC puisqu'aucune souche ou séquence n'a été envoyée au CNRL.

Entre 2017 et 2021, le **taux moyen d'exhaustivité de récupération des souches d'alertes-produits était de 73% (75% en 2021)**, stable de 2011 à 2021 (moyenne: 72%) sauf pour 2018, 62%.

L'absence d'envoi de souches d'alertes-produits au CNRL peut s'expliquer par:

- La méconnaissance du système d'alertes-produits;
- L'absence de l'obtention de numéro d'alerte par la DDPP locale;
- Le fait que les alertes-produits concernant une contamination < à 100 UFC/g n'aboutissent pas à l'envoi des souches au CNRL par le laboratoire;
- Le client peut refuser l'envoi des souches au CNRL, car cet envoi n'est pas obligatoire;
- Les souches ne sont pas toujours conservées par le laboratoire ou sont non viables.

Entre 2017 et 2021, 97% (2021: 98%) des souches issues d'aliments isolées dans le cadre des alertes-produits et envoyées au CNRL parce qu'elles ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *Lm* par le laboratoire expéditeur ont été confirmées comme *Lm* par le CNRL. Cette confirmation de l'espèce est importante dans le cadre des suites économiques, judiciaires, voire diplomatiques, de ces alertes produits. Sur les 5413 souches (927 en 2021) de *Lm* isolées d'aliments et d'échantillons environnementaux dans le cadre des alertes-produits, la répartition par groupe PCR était la suivante IIa (59%; 60% en 2021), IIb (7%; 8% en 2021), IIc (12%; 7% en 2021), IVb_{+IVb-V1} (22%; 25% en 2021) et L (<1%; 0% en 2021).

Entre 2017 et 2021, les complexes clonaux de *Lm* les plus fréquents à l'origine d'alertes-produits sont, par ordre décroissant, le CC121, CC9, CC8-16, CC1, CC4, CC6 et CC37, CC5, CC2 alors qu'en 2021, il s'agissait du CC121, CC4, CC9, CC1, CC8-16, CC37 et CC6.

Les dénombrements de *Lm* dans les échantillons concernés par les alertes-produits variaient de < 10 à >13.600.000 UFC *Lm*/g. 335 (23%) alertes-produits (2021: 50; 28%) ont été reliées à un cluster cgMLST avec cas humains. Comme depuis 2007, ils concernaient principalement par ordre décroissant des produits de viandes, surtout des charcuteries, de produits laitiers dont principalement des fromages au lait cru, de produits de la pêche, et de plats préparés. 113

alertes produits concernaient des viandes de poulet ce qui est en augmentation (2021: 17), alors qu'il s'agit d'aliments peu connus pour être contaminés par *Listeria monocytogenes*.

Entre 2017 et 2021, le CNRL a répondu à 9 alertes produits médiatisées.

Entre 2017 et 2021, le CNRL a communiqué les informations de 312 (2019: 65) souches d'autocontrôles privés étant dans des clusters français en application de la loi EGALIm et du code rural à la DGAI.

3.4.5. Alertes-produits DGCCRF

Entre 2017 et 2021, 20 alertes-produits (principalement Saumon, charcuteries, produits carnés de porcs) provenaient de la DGCCRF ou de ses laboratoires survenus et ont donné lieu à la réception au CNRL de 74 souches (2021: 18). Ces alertes sont mises en place lorsque des échantillons alimentaires ne répondent pas aux critères microbiologiques réglementaires pour *Lm* lors de l'application du plan de contrôle et de surveillance pour *Listeria* (<https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/contamination-des-aliments-a-distribution-par-listeria-monocytogenes-0>).

3.4.6. Alerte européenne et internationale

Entre 2017 et 2021, le CNRL a été informé d'alertes-produits communautaires soit par l'ECDC au moyen de la plateforme EPIS devenu EPIPULSE en 2021, soit par la DGAI au moyen du réseau RASFF (alertes-produits), soit par l'OMS/FAO au moyen du réseau INFOSAN. Le CCOMS-CNRL récupère auprès d'opérateurs agroalimentaires étrangers, les souches d'alertes-produits européennes ou internationales, ainsi que les souches des lots incriminés ayant circulé sur le territoire français. Ces souches sont alors introduites dans la surveillance nationale. Les homologues étrangers du CNRL peuvent aussi lui demander l'envoi de souches ou de génomes dans le cadre de cas groupés ou d'épidémies déclarés par la France ou de RASFF. En accord avec SPF et la DGAI, une réponse sur l'occurrence du cgMLST type dans les souches cliniques et alimentaires françaises est rapportée sur le site EPIS et la séquence est archivée dans le logiciel en ligne BIGSdb *Listeria*.

Entre 2017 et 2021, le CNRL a investigué 73 « urgent inquiries » par cgMLST (23 en 2021) de l'ECDC (communiquées sur la base EPIS/EPIPULSE) dont 2 émises par la France en 2019 et 2021. Dans chaque cas, en lien avec SPF et la DGAI/DGCCRF, le CNRL communique sur EPIS/EPIPULSE une synthèse des souches d'origines humaine et alimentaire du même cgMLST Type que la souche/les souches investiguées et met à disposition les séquences des souches françaises à l'ECDC ou à l'EURL *Lm* avec les métadonnées si autorisation des autorités compétentes françaises. L'ECDC/EFSA rédige une Joint Notification Summary et une publication Rapid Risk Assessment sur ces urgent inquiries associés (UI-426, -444) ou non à un RASFF qui sont publiques comme décrit dans le chapitre 3.1.1. ou confidentiels.

Des cas humains survenus en France ont été reliés microbiologiquement à des souches de ces alertes-produits internationales. **Cependant, une souche d'autocontrôle français a permis d'élucider l'investigation européenne UI-444 concernant des végétaux surgelés démontrant l'intérêt du typage des souches d'autocontrôles dans la surveillance des *Listeria*.**

3.4.7. Enquête sur les formes neuroméningées

Cette enquête est menée par les différents partenaires de la Cellule *Listeria*, et coordonnée par SPF. Elle est mise en place depuis août 2001. Lors de la notification d'un cas de listériose neuroméningée, les investigations par la DDPP consistent à réaliser des prélèvements d'aliments dans le réfrigérateur ou l'environnement du patient (avec son accord ou celui de sa famille). Le CNRL réalise un groupage PCR et un typage par cgMLST sur les souches alimentaires prélevées et celle du patient et compare ensuite les type cgMLST des souches afin d'identifier l'aliment à l'origine du cas et transmet les résultats à la Cellule *Listeria*.

Entre 2017 et 2021, 444 listérioses neuroméningées (2021:116) ont été déclarées aux autorités sanitaires. Pour 388 (87%) d'entre elles (2021: 92%, 107), la réalisation de prélèvements alimentaires/environnementaux autour du patient a été demandée. Ces prélèvements ont pu être réalisés pour 53% (2021: 57%, 66).

Ces 234 (2019: 66) cas neuroméningés suivis de prélèvements ont donné lieu à 222 (2021: 61) enquêtes dans le réfrigérateur du patient, 5 (2021:3) enquêtes en établissements de soins, et 13 (2021:2) enquêtes en points de vente fréquentés par le patient.

Parmi les 52/222 (2017-2021: 24%; 2021:23%; 14/61) enquêtes réfrigérateur ayant isolé une souche de *Listeria*, la souche isolée des aliments du frigo était similaire en cgMLST à la souche du patient pour 25 (48%; 2021: 50%, 7)(86). Une enquête conduite en établissement de soins entre 201 et 2021 a mis en évidence une *Listeria* pour un cas neuroméningé suivi de prélèvements et pour une enquête auprès de points de vente fréquentés seulement en 2020

Ainsi, les prélèvements à domicile effectués pour les cas de listérioses neuroméningées sont un complément utile à la DO et permettent d'identifier rapidement la source de contamination.

3.4.8. Expertises judiciaires

Depuis 2017, des demandes (8) auprès de SPF de restitution de rapports individuels d'investigations autour d'un cas ont été faites par les autorités judiciaires dans le cadre de procédures intentées par un cas ou son entourage, et des particuliers souhaitant obtenir les résultats des investigations réalisées à leur domicile. Ces demandes impliquent le CNRL pour l'analyse microbiologique, SPF pour l'analyse épidémiologique et la DGAI pour les investigations menées concernant l'origine de la contamination alimentaire.

3.5. Apports de la génomique

La surveillance en routine fondée sur **le WGS et le cgMLST augmente la résolution du typage des souches**, accroît la **détection des clusters** et **limite le nombre de faux positifs par rapport à la PFGE**. La meilleure résolution du cgMLST permet d'**améliorer l'efficacité de détection des sources alimentaires liées à des infections et facilite les investigations épidémiologiques**.

Le haut pouvoir de discrimination du cgMLST permet également de s'affranchir des fenêtres temporelles et spatiales lors de l'investigation des cas groupés. Le cgMLST permet ainsi de détecter des cas liés qui sont géographiquement et temporellement séparés.

4. LISTE DES PUBLICATIONS 2011-2021

4.1. Publications nationales et internationales

La liste des publications du CNRL depuis sa création est disponible et actualisée sur son site web.

4.2. Communications nationales

Journée Départementale du Département Infections et Epidémiologie. Institut Pasteur, Paris. 6 Janvier 2011. Poster. V. Chenal-Francisque, J. Lopez, T. Cantinelli, V. Caro, C. Tran, A. Leclercq, M. Lecuit, and S. Brisse. Poster. "Molecular typing of *Listeria monocytogenes*: a public health and population biology perspective". Abstract P24 page 48.

Journée « La PCR dans tous ses états Agro-alimentaire – Environnement - Santé humaine et animale". ASFILAB (Association des responsables de la qualité et de la fiabilité analytique). Paris. 18 Octobre 2011. Présentation orale – A. Leclercq. Frontières des méthodes PCR en microbiologie des aliments et des eaux.

12^{ème} journée nationale d'infectiologie. Toulouse. 8-10 Juin 2011. C. Charlier-Woerther, B. Cazenave, A. Leclercq, O. Lortholary, P. Ravaud, V. Goulet, M. Lecuit. Poster. Listériose materno-néonatale: données sur les 26 premiers cas de l'étude MONALISA. Poster C-16.

Journée Départementale du Département Infections et Epidémiologie. Institut Pasteur, Paris. 27-28 Septembre 2012. Poster. V. Chenal-Francisque, L. Diancourt, T. Cantinelli, V. Passet, H. Bracq-Dieye, A. Leclercq, C. Pourcel, S. Brisse and M. Lecuit. Assessing the genetic diversity of *Listeria monocytogenes* through Multiple Locus Variable of Tandem Repeat Analysis (MLVA) - Evaluation of MLVA as a molecular subtyping method for *Listeria monocytogenes*. Abstract P16 page 62.

5^{ème} colloque du "Club des Belles souris". Institut Pasteur, Paris. 5 avril 2012. Présentation orale. M. Lecuit. Humanized mouse models for listeriosis.

Seminar series. Institut Fédératif de Recherche 48, Marseille. 13 Avril 2012. Présentation orale. M. Lecuit. *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

Seminar series. UMR 722 Inserm Universités Paris Diderot et Paris Nord, Ecologie et évolution des microorganismes, Paris. 3 Mai 2012. Présentation orale. M. Lecuit. *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

Colloquium "Seeing is believing". Collège de France, Paris. 4 Juin 2012. Présentation orale. M. Lecuit. Revisiting the cell biology of *Listeria monocytogenes* infection by tissue imaging.

14^{èmes} Journées nationales d'Infectiologie, Clermont Ferrand, Juin 2013. Session Best Of. Présentation orale. Charlier, C. Actualités Infections femmes enceintes.

Journée Pathogènes alimentaires. Thermo Fisher Scientific (Oxoid), West Events, Nantes, 24 Septembre 2013. Présentation orale. Leclercq, A. Surveillance humaine et alimentaire des *Listeria*: Bilan et perspectives sur les méthodes analytiques et les réglementations.

Journée Départementale du département Infection et Epidémiologie. Institut Pasteur, Belle Eglise, 30 Septembre et 01 Octobre 2013. Poster. Dieye, H., V. Chenal-Francisque, L. Han, A. Leclercq, M. Scortti, A. Vazquez-Boland, and M. Lecuit. Characterization of non-haemolytic *Listeria monocytogenes* isolates. Abstract P-12, page 74.

Program UE Europe "Microbial Evolution and Molecular Epidemiology". Ecole Normale Supérieure, Lyon, (2013), 23 Janvier 2013. Oral. Lecuit, M. *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

SFR Biosciences Gerland Seminar Series, Lyon, 18 Février 2013. Présentation orale. Lecuit, M. *Listeria monocytogenes* and the intestinal barrier: invasion and host responses.

Seminar series, Inserm U 1002. Institut Necker & Necker-Enfants malades Medical School, Paris, 20 mars 2013. Présentation orale. Lecuit, M. *Listeria monocytogenes* crossing of the intestinal barrier: invasion and host responses.

Journées du Département Epidémiologie et Infections. 2014. C. Charlier, A. Leclercq, V. Goulet, O. Lortholary, P. Ravaud, M. Lecuit. Présentation orale et Poster. Multicentric Observational National Analysis of Listeriosis and *Listeria*: MONALISA study.

14^{ème} journée nationale d'infectiologie. 2014. G. Pires, C. Reichert, O. Lortholary, M. Lecuit, C. Charlier. Présentation orale et Poster U-04. Prise en charge des femmes enceintes dans un service de Maladies Infectieuses: Identification des difficultés et des axes d'amélioration, Poster U-04. E.

34^{ème} Réunion Interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Paris 27 Novembre 2014. C. Charlier. Présentation orale. Résultats de l'Etude MONALISA.

34^{ème} Réunion Interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Paris 27 Novembre 2014. P. Chatron, A. Leclercq, O. Lesens, P. Costis, T. Chatenet. Poster. Infection ostéo-articulaire à *Listeria monocytogenes*: à propos d'un cas.

Journée d'étude « Les techniques en microbiologie: de PETRI à MALDI-TOF » de l'Association des Responsables de la qualité et fiabilité analytique (Asfilab), Paris, 14 Novembre 2014. A. Leclercq. Présentation Orale. Evolution des techniques: objectifs et bénéfices.

Club Qualité des Responsables qualité de l'Association Régionale des Industries Agro-alimentaires du Centre, Orléans, 25 septembre 2014. A. Leclercq. Présentation orale. Le risque microbiologique dans l'alimentation. *Listeria monocytogenes* comme modèle.

Conférence du Conseil scientifique de l'Institut Pasteur, Paris, 6/02/14. M. Lecuit. Présentation Orale. Studying infections to better understand the biology of microbes and their hosts.

16^e Journées Nationales d'infectiologie, Nancy, Juin 2015. C. Charlier, S. Poirée, C. Delavaud, G. Khoury, C. Richaud, A. Leclercq, M. Lecuit. Poster. Imagerie cérébrale de la neurolistériose: série prospective de 71 dossiers neuroradiologiques. Poster COL01-02.

Department Infection and Epidemiology Annual Retreat, Chaumont-en-Vexin, 2015. Moura A, Pouseele H, Maury M, Touchon M, Chenal-Francois V, Dieye H, Cantinelli T, Leclercq A, Jones L, Criscuolo A, Larssonneur E, Tarr C, Carleton H, Kucerova Z, Katz L, Stroika S, Larsson J, Reimer A, Walker M, Nadon C, Nielsen E, Dallman T, Grant K, Gerner-Smidt P, Pot B, Lecuit M, Brisse S. Poster. A fast and universal typing method for research and surveillance of *Listeria monocytogenes* based in whole-genome sequencing.

Journée des CNRs, INVS, Paris, Novembre 2015. S. Brisse. Présentation Orale. Genomic epidemiology of bacterial pathogens.

L'industrie agroalimentaire face à la diversité des *Listeria*: Evolution taxonomique et situation épidémiologique. A. Leclercq. Présentation orale. 16^{ème} colloque bioMérieux Actualités et perspectives en Microbiologie Alimentaire, Paris, France, (2016) Octobre 18

Genome-based epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. A. Moura. Présentation orale. Congrès National de la Société française de Microbiologie, Paris, France, (2016)

Surveillance génomique de *Listeria monocytogenes* en France en 2015. A. Moura. Présentation orale. 36^{ème} Réunion Interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse (RICA), Paris, France (2016) décembre 12-13

Evolution normative et réglementaire. Desforges I, Leclercq A. Présentation orale. 17^{ème} colloque bioMérieux Actualités et perspectives en Microbiologie Alimentaire, Paris, France, (2017) Octobre 17.

Maldi-Tof mass spectrometry-based identification of *Listeria* species in surveillance: A prospective study. Leclercq A. Présentation orale. Bruker Symposium, Paris, France, (2017) Décembre 20.

Pasteur International Bioresources network (PIBnet): La nouvelle vision pour la santé publique: l'apport de PIBnet/P2M (exemple CNR *Listeria*). Enouf V. Présentation orale. 1^{er} journée scientifique MSD Avenir, Paris, France (2017) Novembre 29.

Actualités sur la Listériose. Charlier C. Présentation orale. 37^{ème} Réunion Interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Paris Décembre 2017.

C. Charlier, S. Poirée, C. Delavaud, G. Khoury, C. Richaud, A. Leclercq, M. Lecuit. Imagerie cérébrale de la neurolistériose: série prospective de 71 dossiers neuroradiologiques. Poster COL01-02. 16^e Journées Nationales d'infectiologie. Nancy (2017) Juin.

Genome-based surveillance of *Listeria monocytogenes*. A. Moura. Présentation orale. 8^{eme} Séminaire des CNR, Charenton-le-Pont, France (2017) novembre 16

The Contribution of whole-genome sequencing in food surveillance of *Listeria monocytogenes*. A. Moura. Présentation orale. Journée CNR-LNR, Saint-Maurice, France (2017) novembre 17

Listériose cutanée: une série de 11 cas prospectifs. Pilmis M, Maury MM, Leclercq A, Moura A, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Lecuit M, Charlier C. Poster. 38^{ème} Réunion Interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Paris, Décembre 2018.

Neurolistériose. Charlier C. Présentation orale. 38^{ème} Réunion Interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Paris, Décembre 2018.

Cell biology of *Listeria* translocation across the intestinal epithelium. M. Lecuit. Présentation Orale. Advanced Cell Culture Systems, Institut Pasteur, Paris, France (2019) Avril 05.

Genome-based surveillance of *Listeria monocytogenes*. M. Lecuit. Présentation Orale. 39th RICAI, Interdisciplinary Meeting on Antimicrobial Therapy, Paris, France, (2019), Décembre 16-17.

Listeriosis outbreak in South Africa: What have we learned? A. Leclercq. Présentation Orale. 15^e congrès national de la Société française de Microbiologie, Paris, (2019) Oct. 01.

4.3. Communications internationales

5th Workshops of the NRLs for *Listeria monocytogenes*. 10-11 Mars 2011. Paris. Marc Lecuit et Sylvain Brisse. « Recent trends in human Listeriosis ».

6th Workshops of the NRLs for *Listeria monocytogenes*. 28-30 Mars 2012. Maisons-Alfort. Marc Lecuit et Sylvain Brisse. « *Listeria monocytogenes* clonal diversity: everything is everywhere, so let's talk the same language ».

6th Workshops of the NRLs for *Listeria monocytogenes*. 28-30 Mars 2012. Maisons-Alfort. Marc Lecuit et Viviane Chenal Francisque. « MLVA evaluation as a subtyping method for *Listeria monocytogenes* ».

Symposium "Real time analysis of host-pathogen interactions", 112th American Society for Microbiology (ASM) General Meeting. 19 Juin 2012. San Francisco, CA / USA. Marc Lecuit. *Listeria monocytogenes* crossing of the intestinal barrier: *in vivo* imaging of a silent invasion.

Spetses summer school on pathogen-host-interactions of major animal infectious diseases and zoonoses. 10 Septembre 2012. Spetses Island, Greece. Marc Lecuit. *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

11th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 15 Septembre 2012. Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji City, Hyogo, Japan. Marc Lecuit. *Listeria monocytogenes*, a silent invader.

European congress of Clinical Microbiology and Infectious diseases. International Congress Centre Berlin, Berlin, Allemagne, 27-30 Avril 2013. Poster. Charlier, C., B. Cazenave, A. Leclercq, J. Podevin, D. Assomany, L. Guilbert, and M. Lecuit. 2013. *Listeria monocytogenes*-associated biliary tract infections: analysis of 18 cases. Abstract P2102 page 171.

European congress of Clinical Microbiology and Infectious diseases. International Congress Centre Berlin, Berlin, Allemagne, 27-30 Avril 2013. Poster. Shoai-Tehrani, M., A. Leclercq, M. Lecuit, C. Charlier, on behalf of the endovascular listeriosis study group. 2013. Endovascular listeriosis: a series of 12 consecutive cases. Abstract P2098 page 171.

ISOPOL (International Symposium on Problems of Listeriosis). 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. Dieye, H., V. Chenal-Francisque, L. Han, A. Leclercq, M. Scortti, A. Vazquez-Boland, and M. Lecuit. Characterization of non-haemolytic *Listeria monocytogenes* isolates. Abstract P/BIO/08 page 50.

ISOPOL (International Symposium on Problems of Listeriosis). 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. Pezzuto, A. I. Drigo, A. Piovesana, C. Bacchin, D. Comin, A. Leclercq, A. Morvan, A. Cereser, and M. Fravetti. *Listeria monocytogenes* in fresh and seasoned homemade salami: serotype prevalence. Abstract P/DS/06 page 83.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. Roussel, S., V. Chenal-Francisque, G. Pontdeme, M. Lecuit, S. Brisse, and A. Brisabois. Genetic diversity of major clones of *Listeria monocytogenes* from food sources. Abstract P/DS/08 page 86.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. A. Leclercq, V. Cadet-Daniel, A. Morvan, T. Cantinelli, V. Chenal-Francisque, and M. Lecuit. Does *Listeria monocytogenes* serovar 4ab exist? Abstract P/DS/09 page 87.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. Chenal-Francisque, V., L. Diancourt, T. Cantinelli, V. Passet, C. Tran-Hykes, H. Bracq-Dieye, A. Leclercq, C. Pourcel, M. Lecuit, and S. Brisse. An optimized MLVA assay for *Listeria monocytogenes* clone identification and surveillance. Abstract P/DS/11 page 89.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. Leclercq, A., V. cadet-Daniel, H. Dieye, A. Morvan, T. Cantinelli, V. Chenal-Francisque, and M. Lecuit. Improvement of listeriosis surveillance by adding *Smal* to *Listeria monocytogenes* *Ascl/Apal* PFGE subtyping. Abstract P/DS/12 page 90.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Poster. Leclercq, A., S. Roussel, J. Santolini, A. Agbessi, V. Chenal-Francisque, R. Lailler, M. Lecuit, N. Pihier, and A. Brisabois. French surveillance of *Listeria monocytogenes* in food from 2006 to 2011. Abstract P/PC/10 page 215.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Communication orale. Dieye, H., O. Disson, A. Leclercq, V. Chenal-Francisque, and M. Lecuit. Febrile and septicemic gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. Abstract O/EPI/02 page 157.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Communication orale. Charlier, C., A. Leclercq, V. Goulet, O. Lortholary, P. Ravaud, and M. Lecuit. MONALISA: Multicentric observational national analysis on listeriosis and *Listeria*. Abstract O/EPI/03 page 158.

10th International Meeting on Microbial Epidemiological Markers (IMMEM-10). Institut Pasteur, Paris, France. Poster. Chenal-Francisque, V., L. Diancourt, T. Cantinelli, V. Passet, C. Tran-Hykes, H. Braccq-Dieye, A. Leclercq, C. Pourcel, M. Lecuit, and S. Brisse. An optimized MLVA assay for *Listeria monocytogenes* clone identification and surveillance. Poster 225.

Présentation sur les épidémies de *Listeria*, European *Listeria* typing Exercise (ELITE) meeting. ECDC, Stockholm, 28-29 Novembre 2013. Leclercq, A., V. Chenal-Francisque, M. Lecuit, M. Tourdjmann, E. Laurent, H. de Valk, S. Salah, and N. Pihier. Detection of a listeriosis cluster of cases linked to cheese (France, 2013).

7th Global Microbial Identifier Meeting (GMI7), York, UK. 2014. Poster. Moura A., Pouseele H., Maury M., Touchon M., Chenal-Francisque V., Dieye H., Cantinelli T., Leclercq A., Jones L., Tarr C., Carleton H., Kucerova Z., Katz L., Stroika S., Larsson JT., Reimer A., Walker M., Nadon C., Nielsen E.M., Gerner-Smidt P., Pot B., Lecuit M., Brisse S. Poster. Development of a core genome MLST scheme for global epidemiology and population biology of *Listeria monocytogenes*.

24rd European congress of Clinical Microbiology and infectious diseases, Barcelone, 2014. Présentation orale. C. Charlier. MONALISA Study: First results.

Mini-Symposium on Neurotropism of *Listeria monocytogenes*, University of Bern, Bern, Suisse. Janvier 2014. Présentation orale. M. Lecuit. Studying human neuroinfection: an epidemiological, microbiological and experimental integrated approach.

Mini-Symposium on Neurotropism of *Listeria monocytogenes*, University of Bern, Bern, Suisse. Janvier 2014. Présentation orale. S. Brisse. The genetic structure of *Listeria monocytogenes*: phylogenetic and epidemiological perspectives.

American Society for Cell Biology (ASCB) annual meeting, Philadelphia, PA / USA. 6-10/12/14. M. Lecuit. Présentation Orale. Deciphering the molecular mechanisms of *Listeria* transcytosis across the intestinal epithelium in organoids.

Journée annuelle du Réseau des Cliniciens, Centre de Référence Déficiences Immunitaires Héritaires (CEREDIH), Institut Imagine, Paris. 17/11/14. M. Lecuit. Présentation Orale. Next Generation Sequencing-based pathogen discovery in immunodeficient patients.

Department of Immunology Seminar series, Weizmann Institute, Israel. 18/11/14. M. Lecuit. Présentation Orale. *Listeria* invasion of host tissues.

France – Japan Immunology meeting, Cassis, France. 22-23/10/14. M. Lecuit. Présentation Orale. *Listeria* invasion of host tissues.

Seminars in Microbiology, Institute of Microbiology, ETH Zurich, Switzerland. 15/10/14. M. Lecuit. Présentation Orale. How *Listeria* makes its way into the host.

World Sepsis Day, Institut Pasteur, 12/09/14. M. Lecuit. Présentation Orale. Interest of animal models.

Program UE Europe “Microbial Evolution and Molecular Epidemiology”, Ecole Normale Supérieure, Lyon, France. 21/01/14. M. Lecuit. Présentation Orale. *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

PathoGenoMics/Infect-ERA meeting, Vienna, Austria. 19/03/14. M. Lecuit. Présentation Orale. Analysis of the cellular mechanisms underlying the early response of the host to stress induced by *Listeria* infection (presentation of the results of the Listress program).

PathoGenoMics/Infect-ERA meeting, Vienna, Austria. 20/03/14. M. Lecuit. Présentation Orale. Subversive pro- and anti-inflammation signals promote infection by *Listeria monocytogenes* (presentation of the Proantilis program).

24th Pasteur-Weizmann Symposium: Biological Communication, Institut Pasteur, Paris, France.16-17/06/14. [M. Lecuit](#). Présentation Orale. How *Listeria* makes its way into the host.

Berlin Life Science Colloquium, Max Planck Institute for Infection Biology, Berlin, Germany. 04/09/14. [M. Lecuit](#). Présentation Orale. How *Listeria* makes its way into the host.

Second meeting of Working Group on *Listeria monocytogenes* of the European Commission Mandate M381 of European validation of reference methods in Microbiology of the Food Chain, ANSES, European Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*, Maisons-Alfort. Février 2014. Présentation orale. [A. Leclercq](#). Taxonomy of *Listeria*: update, impact on methods validations and perspectives.

25th ECCMID, Copenhagen, April 2015. C. Charlier, S. Poirée, G. Khoury, C. Delavaud, C. Richaud, A. Leclercq, M. Lecuit. Présentation Orale. Neuroradiology imaging in neurolisteriosis: a prospective series from 71 patients.

SFB 914 “Trafficking of Immune Cells in Inflammation, Development and Disease” Seminar Series, München, Mai 2015. M. Lecuit. Présentation Orale. *Listeria monocytogenes* invasion of host tissues.

4th workshop ‘Rapid NGS for clinical, Public Health, and food Microbiology’, Münster, Allemagne, 11-13 Mars 2015. S. Brisse. Présentation Orale. *cgMLST analysis of Listeria monocytogenes*.

Gordon Research Conference, Infections of the nervous system, pathogenesis and worldwide impact, Hong Kong (2015), 14-19 Juin. M. Lecuit. Présentation Orale. Clinical, microbiological and pathophysiological insights on neurolisteriosis,

Immunology and Infection Department Seminars, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, 7 Octobre 2015. M. Lecuit. Présentation Orale. *Listeria monocytogenes* invasion of host tissues.

Genome-based epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes* at a global scale. A. Moura. Poster ID98, ESCMID-SEGEM CONFERENCE, 11eme International Meeting in Microbial Epidemiological Markers, Estoril, Portugal, (2016) March 9-12

Perinatal Listeriosis: a prospective series from 82 neonates. Poster. C Charlier, A. Leclercq, E. Perrodeau, P. Ravaud, M. Lecuit. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, The Netherlands (2016) Avril 9-12

Genome-based epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes* at a global scale. Présentation Orale. A. Moura. [Moura A](#), Pouseele H, Criscuolo A, [Maury M](#), Touchon M, [Leclercq A](#), [V.Chenal-Francisque](#), [H Dieye](#), [T Cantinelli](#), L Jones, Larsonneur E, Tarr C, H Carleton, Kucerova Z, L S Katz, S Stroika, JT Larsson, A Reimer, M Walker, C Nadon, E M Nielsen, T Dallman, Grant K, Gerner-Smidt P, Pot B, [Lecuit M](#), Brisse S. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, The Netherlands (2016) Avril 9-12

Identification of *Listeria monocytogenes* in the urine: retrospective analysis of 14 cases. Poster N°199. F. Danion, A. Leclercq, M. Maury, M. Lecuit et C. Charlier. International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Food and Environmental investigations of sporadic invasive listeriosis cases – France, 2003-2015. Poster N°138. M. Tourdjman, [A. Leclercq](#), E. Laurent, V. Goulet, N. Fredricksen, M.P. Donguy, H. De Valk, [M. Lecuit](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Changes in epidemiology and surveillance of listeriosis in France. H. De Valk Présentation Orale. H. De Valk, M. Tourdjman, [A. Leclercq](#), [M. Maury](#), [A. Moura](#), [V. Chenal-Francisque](#), V. Goulet, S. brisse, [M. Lecuit](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Hospital-acquired listeriosis outbreak linked to prolonged contamination of a hospital kitchen environment. Poster N°137. M. Tourdjman, [A. Leclercq](#), C. Groleau, L. Soyer, [A. Moura](#), E. Laurent, M.P. Dongy, G. Coan, D. Legoff, S. Brisse, [M. Lecuit](#), H. De Valk. International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Characterization of non-haemolytic *Listeria monocytogenes* isolates, impact on virulence. Poster N°179. [H. Bracq-Dieye](#), [V. Chenal-Francisque](#), [M. Maury](#), L. Han, [A. Leclercq](#), M. Scortti, O. Disson, E. Gouin, J.A. Vazquez-Boland, [M. Lecuit](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Evaluation du MALDI-TOF mass spectrometry of identification of *Listeria* species. Poster N°64. P. Thouvenot, G. Vales, [H. Bracq-Dieye](#), N. Tessaud-Rita, [A. Moura](#), [M. Maury](#), [M. Lecuit](#), [A. Leclercq](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Genome-based surveillance of *L. monocytogenes* in France in 2015. Poster N°58. [A. Moura](#), [A. Leclercq](#), [H. Bracq-Dieye](#), [P. Thouvenot](#), [G. Vales](#), [M. Maury](#), H. De Valk, A. Criscuolo, V. Enouf, S. Brisse, [M. Lecuit](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

A multiplex PCR to identify hypervirulent and hypovirulent clones of *Listeria monocytogenes*. Poster N°62. [V. Chenal-Francisque](#), [M. Maury](#), M. Lavina, M. Touchon, [A. Leclercq](#), [M. Lecuit](#), S. Brisse. International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

***Listeria thailandensis* sp. nov.** Poster N°63. [A. Leclercq](#), [A. Moura](#), [N. Tessaud-Rita](#), [H. Bracq-Dieye](#), [P. Thouvenot](#), [G. Vales](#), [M. Maury](#), [G. Aquilhon](#), [M. Lecuit](#). Isolated from food in Thailand. International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. Poster N°132. [A. Moura](#), [A. Criscuolo](#), [H. Pouseele](#), [M. Maury](#), [A. Leclercq](#), [C. Tarr](#), [Jonas T. Björkman](#), [T. Dallman](#), [A. Reimer](#), [V. Enouf](#), [E. Larssonneur](#), [H. Carleton](#), [H. Bracq-Dieye](#), [L. S. Katz](#), [L. Jones](#), [M. Touchon](#), [M. Tourdjman](#), [M. Walker](#), [S. Stroika](#), [T. Cantinelli](#), [V. Chenal-Francisque](#), [Z. Kucerova](#), [E. P. C. Rocha](#), [C. Nadon](#), [K. Grant](#), [E. M. Nielsen](#), [B. Pot](#), [P. Gerner-Smidt](#), [M. Lecuit](#), [S. Brisse](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Isolation of *Listeria monocytogenes* from urine: analysis of 14 cases. Poster N°199. [F. Danion](#), [A. Leclercq](#), [M. Maury](#), [M. Lecuit](#), [C. Charlier](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Highly prevalent *Listeria monocytogenes* sequence types in neuroinfection. Poster N°60. [M. Dreyer](#), [L. Aguilar-Bultet](#), [A. Thomann](#), [S. Rupp](#), [M. Ganter](#), [C. Guldemann](#), [M. Lecuit](#), [S. Brisse](#), [R. Stephan](#), [A. Schock](#), [A. Otter](#), [J. Frey](#), [A. Oevermann](#). International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Standardization and quality-assurance in PCR based methods in the microbiology of the food chain. [A. Leclercq](#), Présentation orale, 4th qPCR and Digital PCR Congress, London, UK, (2016) Octobre 20-21

***Listeria* invasion of host tissues: mechanisms and effects.** [M. Lecuit](#), Présentation orale. Excellence in Genetics and Immunology Seminar Series at McGill University, Montreal, Canada (2017) Janvier 23

New insights in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. [M. Lecuit](#), Présentation orale. National and International Seminar Series, Departments of Molecular Biology, Clinical Microbiology, WCMM, Umea University, Umea, Sweden (2017) Mars 3

Prevalence of *Listeria* spp. in Costa Rica and genomic characterization of *Listeria monocytogenes* isolates. [Núñez-Montero K](#), [Giralto M](#), [Vales G](#), [Moura A](#), [Leclercq A](#), [Pizarro-Cerdá J](#), [Lecuit M](#), [Peraza J](#). Poster, 6th International workshop Advances in Science and technology of bioresources, Pucon, Chile, (2017) décembre 29-30

Multi-country outbreak of listeriosis due to *Listeria monocytogenes*, multi-locus sequence type 6, infections probably linked to frozen corn, European Union 2015–2018. Poster. [Einöder-Moreno M](#), [Rizzi V](#), [Felix F](#), [Rimhanen-Finne R](#), [Leinonen E](#), [Kanagarajah S](#), [Jernberg C](#), [Lecuit M](#), [Leclercq A](#), [Albert A](#), [Schmid D](#), [Pietzka A](#), [Takkinen J](#) & International Outbreak Investigation Team. ESCAIDE, Malte, (2018) Novembre 21-23.

Understanding how *Listeria* crosses host barriers and disseminates within the host. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Seminar Series, Institute of Microbiology and Immunology at National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan (2018) Mai 9.

Understanding how *Listeria* crosses host barriers and disseminates within the host. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Microbial pathogenesis symposium, Chang Gung University, Taipei, Taiwan (2018) Mai 10.

Understanding how *Listeria* crosses host barriers and disseminates within the host. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Institut Pasteur International Network Asia-Pacific teaching course. Institut Pasteur, Shanghai, China (2018) Mai 14.

Infections in pregnancy. [Charlier C](#). Présentation orale. 17th European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) - Summerschool, (2018) Paris, Juillet.

Characterization of atypical hemolytic *Listeria innocua*. 1st Meeting of *Listeria* Club, Instituto de Investigação e Inovação da Universidade do Porto, Porto, Portugal (2019) Janvier 25, [Marc Lecuit](#)

Twenty years of epidemiology and surveillance of listeriosis in France, new challenges in the sequencing era. 20th International Symposium on Problems of Listeriosis (ISOPOL XVI), Toronto, Canada, (2019) Septembre 24-27, Poster, [M. Tourdjman](#), [A. Leclercq](#), [MP. Donguy](#), [M. Maury](#), [A. Moura](#), [E. Laurent](#), [S. Brisse](#), [H. de Valk](#), [M. Lecuit](#)

Listeriosis. Italian Congress of Infectious Diseases, Palermo, Italie (2019) Novembre 25, [C. Charlier](#)

Study of sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cheese factory. Microbiotec, University of Coimbra, Coimbra, Portugal, (2019) Décembre 5-7, Poster, Ferraz AR, Maria C, Barreira MJ, Gualo MM, Correia CB, Calhau A, [Leclercq A](#), [Lecuit M](#), Pintado CS.

Lessons from listeriosis outbreaks and perspectives. WHO/INFOSAN, Second global meeting of the international food safety authorities network (Infosan), Abu Dhabi, United Arab Emirates, (2019) Decembre 09, [Alexandre Leclercq](#)

Listeria and Listeriosis. WHO/INFOSAN, Second global meeting of the international food safety authorities network (Infosan), Abu Dhabi, United Arab Emirates, (2019) Decembre 09, [Alexandre Leclercq](#)

Listeriosis. Royal College of Physician Edinburg, Edinburg, UK, 2020, [C. Charlier](#)

A GWAS of *Listeria monocytogenes* strains of food and clinical origins. European Human Genetics Conference, Berlin, Allemagne, (2020), Juin 06-09 F. Laporte, [M. Maury](#), E Patin, [A Leclercq](#), L Quintana-Murci, R. Chicki, [M. Lecuit](#), H. Aschard.

4.4. Conférences sur invitations

Séminaire du Centre pour l'Infection & Immunologie de Lille. 11 Octobre 2011. Lille. [M. Lecuit](#). « *Listeria monocytogenes*, a silent invader ».

GABBA Module in Microbiology and Infection. 19 Janvier 2011. Porto, Portugal. [M. Lecuit](#) it. Microbes and host barriers.

***Listeria monocytogenes*, an expert barrier breaker.** 17 Janvier 2011. Department of Infectious Diseases and Pathobiology seminar series, University of Bern, Switzerland. [M. Lecuit](#).

FDA/USDA/CDC sponsored *Listeria monocytogenes* dose-response Workshop Pathophysiology of listeriosis. 17-18 Mars 2011. Arlington, USA. [M. Lecuit](#).

International workshop on Intestinal mucosal homeostasis and disease. 23-24 Mars 2011. Hannover, Germany. [M. Lecuit](#) *Listeria monocytogenes*, a silent invader.

Symposium "The intestine, a cell signaling paradigm". *Listeria monocytogenes* breaching of the intestinal epithelium. [M. Lecuit](#). 25 Mars 2011. College de France, Paris, France.

Department of Microbiology seminar series. Peking University, Beijing, China. 6 Avril 2011. [M. Lecuit](#). *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

2nd Conference on "Microbiology: Pathogens and Host Response" *Listeria monocytogenes*, a silent invader. [M. Lecuit](#). Hebrew University of Jerusalem, Israel. 10-13 Mai 2011.

1st Eranet pathogenomics Listress meeting. Giessen, Germany. 27 Mai 2011. [M. Lecuit](#). Animal models for gastrointestinal listeriosis.

Seminar series, Departments of Environmental health science, Infectious diseases, Microbiology and the Biomedical Health Science Institute, University of Georgia, Athens, GA, USA. 20 Juin 2011. [M. Lecuit](#). *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

Seminar series, Division of biological and biomedical sciences. Emory University, Atlanta, USA. 22 Juin 2011. [M. Lecuit](#). *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers.

Microbial Pathogenesis & Host Response, Cold Spring Harbour Meeting, Cold Spring Harbour, NY, USA. 15 Septembre 2011. [M. Lecuit](#). Transcytosis of *Listeria monocytogenes* across the intestinal barrier upon specific targeting of goblet cell accessible E-cadherin.

Seminar series. *Listeria monocytogenes*, a silent invader. Institut Pasteur de Lille, Lille. 11 Octobre 2011. [M. Lecuit](#).

Systems biology and genomic medicine Today Symposium. Infection and Immunity: beyond the future in the control of infectious disease. 18 Octobre 2011. Institut Pasteur, Paris, France. [M. Lecuit](#). Transcytosis of *Listeria monocytogenes* across the intestinal barrier upon specific targeting of goblet cell accessible E-cadherin.

Seminar series. *Listeria monocytogenes* crossing of host barriers. Centre de Physiopathologie de Toulouse-Purpan, Toulouse, France. 23 Novembre 2011. [M. Lecuit](#).

Séminaire du Centre pour l'Infection & Immunologie de Lille. 11 Octobre 2011. Lille. [M. Lecuit](#). « *Listeria monocytogenes*, a silent invader ».

10th European Initiative for Basic Research in Microbiology and Infectious Diseases, Max Planck Institute for Infection Biology. Berlin / Saint Maximin la Ste Baume, 2-4/10/13. [M. Lecuit](#). *Listeria monocytogenes* interactions with the intestinal barrier.

A Day on Infection associated Diseases. Braunschweig, 21/11/13. [M. Lecuit](#). *Listeria monocytogenes* invasion of host tissues.

23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Symposium Pathogenesis of infections due to intracellular bacteria. Berlin, Germany, 27-30/04/13. [M. Lecuit](#). Targeting of the central nervous system by *Listeria monocytogenes*.

ISOPOL. 2013. Goa (India). 19-22 Septembre 2013. Communication orale. [Lecuit, M.](#) *Listeria monocytogenes* crossing of the intestinal barrier and within-host dissemination. Abstract PI 7/A page 8.

Eranet pathogenomics Listress meeting. Madrid, Spain, 13/04/13. [M. Lecuit](#). Murinization of internalin extends its receptor repertoire, altering *Listeria monocytogenes* cell tropism and host responses.

ESCMID postgraduate course, Intracellular Bacteria: From Biology to Clinic. Villars-sur-Ollon, Switzerland, 26-30 Aout 2013. [M. Lecuit](#). Clinical listeriosis.

ESCMID postgraduate course, Intracellular Bacteria: From Biology to Clinic. Villars-sur-Ollon, Switzerland, 26-30 Aout 2013. [M. Lecuit](#). *Listeria* pathogenesis

ESCMID postgraduate course, Intracellular Bacteria: From Biology to Clinic. Villars-sur-Ollon, Switzerland, 26-30 Aout 2013. [M. Lecuit](#). *Listeria* genomics.

Journée Worldwide Food Science. Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, 26 Septembre 2013. [Leclercq, A.](#) *Listeria monocytogenes*; *Listeria spp.* Representative collection of the population diversity? Needs and targets.

Invitation Afnor Validation domaine agroalimentaire. Afnor, La Plaine Stade de France, 06 Mai 2013. [Leclercq, A.](#) *Listeria monocytogenes*, *Listeria spp.* Collection représentative de la diversité ? Définition des besoins.

Formation continue « Pathogènes alimentaires » : *Listeria monocytogenes*, ADRIA Développement de Quimper, Rennes, 25/09/14. [A. Leclercq](#).

Alpa, Institut Pasteur de Lille, Lille, 04/06/14. [A. Leclercq](#). Formation continue «*Listeria*: Bactériologie, Epidémiologie et pouvoir Pathogène des *Listeria* », cycle « Micro-organismes pathogènes et aliments ».

Séminaire pour le staff de Microbiologie, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, 2014. [C. Charlier-Woerther](#). Malades sur « MONALISA ».

Séminaire pour le staff d'Obstétrique, Hôpital Cochin Port Royal, AP-HP, Paris, 2014. [C. Charlier-Woerther](#). « Actualités Listériose »

Séminaire pour le staff de Maladies Infectieuses, Hôpital Bichat Claude Bernard, AP-HP, Paris, 2014, [C. Charlier-Woerther](#). « MONALISA »

Séminaire pour le staff de Maladies Infectieuses, Hôpital Tenon, Paris, Janvier 2014. [M. Lecuit](#). « Neurolistériose ».

Seminar series, Centre de Recherche des Cordeliers, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France, Février 2015. [M. Lecuit](#). How *Listeria* makes its way into the host.

BioMérieux Research and Development, Marcy l'Etoile, France, 20 Septembre 2016. [A. Leclercq](#). Présentation Orale. **Nouvelles espèces de *Listeria* et diversité des *L. monocytogenes*.**

Séminaire d'Epidémiologie moléculaire appliquée à la surveillance et au contrôle des maladies infectieuses, Labex IBEID, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France, Mars 2015. [M. Lecuit](#). Identification et découverte de pathogènes par le séquençage à haut débit.

Séminaire d'Immunologie, Hématologie et de Rhumatologie Pédiatriques Pierre Royer, Institut Imagine, Paris, France. 27 Mars 2015. [M. Lecuit](#). Next Generation Sequencing-based pathogen discovery in immunodeficient patients.

Séance du CES BIOHAZARD, ANSES, Maisons-Alfort, 06 Novembre 2015. [A. Leclercq](#). Présentation orale. **WGS et *Listeria*.** Listériose 2017. C. Charlier, Présentation orale, Journées de Microbiologie Clinique. Paris (2017) Janv 12

Les souches hypervirulentes de *Listeria monocytogenes*. M. Maury, Présentation orale, Topo de fond du CES BIORISK, Anses, Maisons-Alfort, France, (2016) Mars 15

New insights in the pathogenesis of *Listeria*, M. Lecuit, Présentation orale, 38th annual infectious diseases symposium, Lucerne, Switzerland (2016) Mars 31

CNR et LNR au temps du NGS: enjeux et perspective pour la référence et la santé publique: Exemple de *Listeria*. S. Brisse, Présentation orale, Séminaire Commun LNR-CNR, Anses, Maisons-Alfort, (2016) Mars 31

Maldi-Tof MS: Utilisateur (MS Bruker)/Accréditation: Exemple *L. monocytogenes*. A. Leclercq, Présentation orale, Journée « Spectrométrie de masse pour l'identification des agents pathogènes pour les animaux et/ou zoonotiques » de la Commission Afnor U47A Santé Animale, Afnor, La Plaine-Stade de France, (2016) Avril 5

***Listeria* invasion of host tissues,** M. Lecuit, Présentation orale, 25th Pasteur-Weizmann meeting, Rehovot, Israel (2016) Apr 13-14

Bacterial population biology and applications to global epidemiology and public health: examples of *Klebsiella pneumoniae* and *Listeria monocytogenes*. S. Brisse, Présentation orale, Séminaire du Département de Microbiologie, Institut Pasteur, Paris, France, (2016) avril 22

Listériose et grossesse. 13 min de Médecine. C. Charlier, Présentation orale, Conférence du centre de recherche translationnelle, Institut Pasteur, (2016) Mai

New insights in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*, M. Lecuit, Présentation orale, Seminar of the Center of Excellence in Bacteriology of the University of Geneva, Geneva (2016) Mai 2

Clinical, microbiological and pathophysiological insights on neurolisteriosis, M. Lecuit, Présentation orale, Richard T Johnson lecture, 10th Liverpool Neurological Infectious Diseases Course, University of Liverpool, Liverpool (2016) Mai 5-6

Revisiting *Listeria monocytogenes* virulence. M. Lecuit, Présentation orale, International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Clinical features and pronostic factors of listeriosis: the MONALISA study. C. Charlier, Présentation orale, International Symposium on Problems of Listeriosis, XIXth Isopol, Paris, France (2016) Jun 14-17

Utilisation, Normalisation, Management de la qualité en génomique et méthodes associées pour la microbiologie de la chaîne alimentaire. A. Leclercq, Présentation orale, Journée « Techniques NGS pour l'identification des agents pathogènes pour les animaux et/ou zoonotiques » de la Commission Afnor U47A Santé Animale, Afnor, Paris, (2016) Octobre 10

New insights in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. M. Lecuit, Présentation orale, Hokkaido University, 19th leading seminar, Sapporo, Japan (2016) Oct 26

***Listeria* infections: what does MONALISA teach us?** M. Lecuit, Présentation orale, 59^{ème} Journée de l'Hôpital Claude Bernard. Université Paris Diderot, Paris, France (2016) Nov 17

Actualités sur la caractérisation et le typage de *Listeria monocytogenes*. A. Moura et M. Maury, présentation orale, Réunion des réseaux de laboratoires officiels, Anses (LNR *Listeria monocytogenes*), Maisons-Alfort, France, (2016) Novembre 24

***Listeria* invasion of host tissues: mechanisms and effects.** M. Lecuit, Présentation orale, 50th Annual meeting of the French Society for Immunology, Paris, France (2016) Nov 28-30

Impact of the microbiota on neonatal susceptibility to bacterial meningitis. M. Lecuit, Présentation orale, International Symposium Microbes and Brain. Institut Pasteur, Paris, France (2016) Dec 7

Utilisation, Normalisation, Management de la qualité en génomique et méthodes associées pour la microbiologie de la chaîne alimentaire. A. Leclercq, Présentation orale, Les apports du NGS à la bactériologie et à la métagénomique, Illumina, Paris, France, (2016) Décembre 8

***Listeria* invasion of host tissues: mechanisms and effects.** M. Lecuit, Présentation orale, Berlin Life Science Colloquium. Max-Planck Institute for Infection Biology, Berlin, Germany (2016) Dec 13

Listérioses actualités 2017. C. Charlier. RICAI. Paris, France (2017)

Listériose 2017. C. Charlier, Présentation orale. Journées de Microbiologie Clinique. Paris, France (2017) Janvier 12

Listeria invasion of host tissues: mechanisms and effects. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Séminaire du Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, Toulouse, France (2017) Janvier 12

New insights in the listeriosis pathophysiology. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Journée de Recherche Translationnelle, Center for Translational Research, Institut Pasteur, Paris France (2017) Mars 9

Listeria invasion of host tissues: mechanisms and effects. [M. Lecuit](#), Excellence in Genetics and Immunology Seminar Series at McGill University, Montreal, Canada (2017) Janvier 23

Genome-based surveillance of *Listeria monocytogenes*. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Séminaire "Epidémiologie moléculaire appliquée à la surveillance et au contrôle des maladies infectieuses". Santé Publique France, Saint Maurice, (2018) Mars.

Listeria monocytogenes, un envahisseur silencieux. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Séminaire du Cours "Immunité contre les microorganismes à développement intracellulaire", Chaire de Médecine Expérimentale, Collège de France, (2018) Juin.

Genome sequencing in infectious diseases. [M. Lecuit](#), Présentation orale. European Human Genetics Conference, Milano, (2018) Juin 16.

Neurolisteriosis, [M. Lecuit](#), Présentation orale. 8th Neuroscience of Critical illness and acute Central Nervous System Infection Meeting, Institut Pasteur, (2018) Juin 28-29.

Listeria invasion of host tissues and within-host dissemination. [M. Lecuit](#), Présentation orale. Innovative approaches to the study of bacterial pathogens. International Center for Interdisciplinary Science, Qui Nhon, Vietnam, (2018) Septembre 16-21.

Making sense of *Listeria monocytogenes* biodiversity. ASM Microbe 2019. San Francisco USA (2019) Juin 20-24, [Marc Lecuit](#)

Listeria, from fork to brain. 20th International Symposium on Problems of Listeriosis (ISOPOL XVI), Toronto, Canada, (2019) Septembre 24-27, [Marc Lecuit](#)

Clinical features of listeriosis and genomics of *Listeria monocytogenes*. International Symposium on *Listeria*, Seville, Spain, (2020), Jan 23-24, [Marc Lecuit](#)

Understanding how *Listeria* crosses host barriers and disseminates within the host. CIET / Institut Pasteur Joint Symposium: Current Challenges on Infectious Diseases in Central America. University of Costa Rica. San José, Costa Rica (2019) Février 20-22, [Marc Lecuit](#)

Bridging ages with *Listeria monocytogenes*, Microorganisms bridging ages Symposium, Belgian Society of Infectiology and Clinical Microbiology, Brussels, Belgium (2019) Avril 04, [Marc Lecuit](#)

Understanding how *Listeria monocytogenes* crosses host barriers and disseminates within the host. Seminar series in Infection biology. Biozentrum. University of Basel. Basel, Switzerland, (2019) Octobre 14, [Marc Lecuit](#)

Les CNR et la stratégie européenne en matière de séquençage. [M. Lecuit](#), Présentation orale. 9e séminaire des Centres Nationaux de référence (CNR). Santé Publique France, Saint Maurice, (2019) Novembre 15.

Listeriosis. [C. Charlier-Woerther](#). 39e RICAI. (2019), Paris, France, Décembre 17. Quand évoquer et comment traiter une listériose neuroméningée ? Session Recommandations 2018 sur les méningites bactériennes: où en sommes-nous ?

Ruptures prématurées des membranes avant terme. Quels enjeux? Quels traitements? [C. Charlier-Woerther](#). 41e RICAI, webconference. (2020) Décembre 17.

4.5. Chapitres de livres

[Lecuit, M.](#), [Charlier, C.](#) **Listériose.** Chapitre 67. Pilly Edition 2014.

[Charlier, C.](#), [Lecuit, M.](#) Fiches e-POPI *Micrococcus*, *Listeria*, *Fusarium*, *Geotrichum* et *Malassezia*.

[Leclercq, A.](#), [Overmann, A.](#), [Danguy-des-Déserts, R.](#), [Granier, S.](#), [Hammack, T.](#), [Jinneman, K.](#), [Chen, Y.](#), [Rathbone, R.](#), [Riegler, G.](#) **Listeria monocytogenes.** Chapitre 2.9.7. In OIE Terrestrial Manual. World Organization for Animal Health (OIE), Paris, 2014.

[Charlier, C.](#), [Lecuit, M.](#) **Listériose.** Traité de Médecine. Edition Lavoisier 2014.

Charlier, C., Lecuit, M. **Listériose**. Chapitre 67. Pilly Edition 2014 et 2015.

Leclercq A., Hardouin H., Lombard, B. 2015. Chapter 5 - CEN/ISO standards for both culture and molecular methods. *In* Molecular Microbial Diagnostic Methods: Pathways to Implementation for the Food and Water Industries, Elsevier - Academic Press, Nigel Cook, Martin D'Agostino, K. Clive Thompson (eds), pp.79-106

Leclercq, A. 2015. **Listeria monocytogenes**, Chapitre 4. p. 74-94 *In* D. Drider and G. Salvat (ed.), Sécurité Sanitaire des Aliments: Epidémiologie et moyens de luttés contre les principaux contaminants zoonotiques des aliments. Economica, Paris.

Le Monnier, A., Leclercq, A., Lecuit, M. Chapitre **Listeria monocytogenes**. Remic 2015, Société française de Microbiologie.

Leclercq A, Charlier-Woerther C, Disson O, Jacquet C, Martin P, Rocourt J, Lecuit M. **Chapitre Listeria monocytogenes**. *In*: Précis de Bactériologie clinique, ESKA (ed). 2015.

Leclercq, A., Charlier-Woerther, C. Kayal, S. 2017. **Chapitre Listeria**. *In*. Traité EMC Biologie Médicale Elsevier (ed.).

Charlier C, Lecuit M. 2018. **Chapitre 68: Listériose**. *In*: Maladies infectieuses et tropicales. E. Pilly, 26^e édition, Paris, France.

Lourenço J, Leclercq A, Lecuit M et Charlier C. **Listériose**. 2017. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Sous presse.

Leclercq A, Le Monnier A. 2018. **Chapitre 67: Listeria monocytogenes**. *In*: REMIC – Référentiel en microbiologie médicale, 6eme édition, Société française de Microbiologie, Paris, France.

Charlier C, Lecuit M. **Listériose**. EPilly 2018.

Lecuit M, Charlier C. **Listériose**. Chapitre 67 Pilly Edition 2018.

Lourenço J, Leclercq A, Lecuit M, C. Charlier. **Listériose**. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. 2017

4.6. Interactions avec la presse

Tournage d'un reportage pour la chaîne NRJ12 pour la série « **Les énigmes de la médecine** »: *Listeria* et listériose. 2011

Formation continue infirmière: Interview pour « le Journal de l'infirmière Libérale ». Charlier, C. Journal de l'infirmière libérale, décembre 2013.

Mystères de la science biomédicale. Institut Pasteur, Paris, 12 Février 2013. M. Lecuit. **Listeria monocytogenes: des aliments au cerveau**.

Hanne-Lys Meyer (Interview A. Leclercq). **La population à risque vis-à-vis de Listeria change**. Revue Laitière française, 767:36-37. (2016) Décembre.

Sperat-Czar A (Interview A. Leclercq et M. Tourdjman). **Listeria: Seniors, le maillon faible**. Profession fromager, 76:35-37. (2017) Mars-Avril.

Cérou M (Interview A. Leclercq). **Listeria: la surveillance fait un bond en avant**. Process alimentaire, 1345:89-90. (2017) Mars.

Marc Lecuit. **Une femme enceinte perd son bébé, contaminé à la listériose**, Le Parisien, 27/05/19.

<http://www.leparisien.fr/seine-et-marne-77/listeria-dans-le-fromage-de-la-brie-une-deuxieme-victime-recensee-27-05-2019-8081193.php>

Leclercq A. Comment l'Europe va renforcer la surveillance des *Listeria*, Process Alimentaire, 24/09/18. <http://www.processalimentaire.com/Qualite/Comment-l-Europe-va-renforcer-la-surveillance-des-Listeria-34863>

Lecuit M. La mystérieuse *Listeria* qui a fait paniquer Buffalo Grill, Mediapart, 16/11/18. <https://www.mediapart.fr/journal/france/161118/la-mysterieuse-Listeria-qui-fait-paniquer-buffalo-grill?onglet=full>

Cérou M (Interview A. Leclercq). **Le point sur *Listeria*: De nouvelles espèces sont régulièrement découvertes, sans risque de pathogénicité.** Process alimentaire, 1395:76. (2021) Octobre.

4.7. Contributions ou collaborations avec des instances nationales et internationales

4.7.1. Santé Publique France

Le CNRL est en lien quotidien avec SPF pour la surveillance nationale et le suivi de dossiers de souches humaines ou d'investigations, et pour la gestion de phénomènes anormaux. Des alertes sur la surveillance permanente des informations françaises web sur les *Listeria* sont également adressées à SPF ainsi qu'aux autres membres de la cellule *Listeria*.

4.7.2. ANSES et LNR *Listeria monocytogenes*

Le CNRL a participé au CES BIORISK de l'ANSES (A. Leclercq, membre du CES, jusqu'avril 2019) comprenant le groupe de travail ANSES « Attribution des Sources des dangers » pour lequel le CNRL a été auditionné avec SPF et le LNR *Lm* en 2017 et ayant abouti en 2019 aux publications décrites au chapitre 4: *Mughini-Gras L et al., Front Microbiol. 2019 Nov 12; 10:2578 (63)* et Leclercq et al., *Microbial Risk Analysis. 2021 June ; 17 (65)*.

Le CNRL a des interactions régulières avec le LNRI de l'ANSES:

- Dans le cadre d'un accord validé en 2008 par la cellule *Listeria*, un échange régulier de souches d'alertes-produits et de séquences génomiques entre le LNRI et le CNRL a été mis en place grâce à des bases compatibles. Ces échanges permettent d'augmenter l'exhaustivité de la collecte de souches alimentaires pour la surveillance nationale. Le CNRL et le LNRI, appuis techniques de la cellule *Listeria*, investiguent donc ensemble des sources possibles de contamination.
- Le CNRL participe, avec le LNRI, à l'examen de saisines DGS/DGCCRF/DGAI en tant qu'expert pour le CES « Evaluation des risques biologiques des aliments » de l'ANSES.
- Le CNRL échange également avec les investigateurs en charge de la surveillance de la résistance aux antibiotiques des *Lm* d'origine alimentaire et animale du LNRI (87).
- Le CNRL participe à la rédaction et à la mise à jour en 2017 de la fiche de danger « *Listeria* » de l'ANSES.
- En 2017, le CNRL a commenté avec l'ANSES le document Scientific Opinion on *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU de l'EFSA.

Entre 2017 et 2021, le CNRL a communiqué des séquences génomiques au LNRI dans le cadre de la surveillance européenne, et a reçu en 2022 les génomes des plans de surveillance et de contrôle des aliments de la DGAI et DGCCRF depuis 2017. Le CNRL est à la disposition du LNRI pour séquencer et typer les souches qu'il pourrait lui adresser.

Le 11 mars 2020, Marc Lecuit a reçu au CNRL la visite de M. Gilles Salvat – Directeur Général Délégué Pôle Recherche et Référence, accompagné de M. Nicolas Canivet – Directeur de la stratégie et des programmes, pour présenter le CNRL ainsi que ces activités.

4.7.3. ANSM

Le CNRL a expertisé la détection de *Lm* viables dans les selles, d'après la méthode développée selon le guide ANSM « La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques », http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/5e5e01018303790194275ded0e02353c.pdf.

4.7.4. DGS, DGAI et DGCCRF

Le CNRL est en lien plurihebdomadaire avec la DGAI dans le cadre du suivi des alertes-produits et des enquêtes sur les formes neuroméningées ou une demande d'appui technique. Le CNRL participe à des réunions coordonnées par

la DGS dans le cadre de gestion d'alertes, de cas groupés ou d'épidémies. Le CNRL, au sein de la cellule *Listeria*, est en lien direct et simultané avec la DGS, DGAI et la DGCCRF. En 2017, il a participé avec le CORRUSS/DGS à une formation sur un nouveau logiciel de la DGAI sur la traçabilité utilisable en cas de crises ou d'investigations de clusters de cas humains/épidémies.

En 2017, la DGAI (C. DANAN) a demandé au CNRL d'assister deux étudiantes d'AgroParisTech en Master 2 pour l'établissement d'une fiche web de la DGAI sur *La listériose* avec les liens vers les données publiques dans le secteur alimentaire, vétérinaire et humain qui a été publiée le 24/08/17 à l'adresse <http://agriculture.gouv.fr/la-listeriose>. Cette page web regroupe la présentation générale, les acteurs et les modalités de la surveillance de la listériose en France et les principales recommandations pour la prévention de la listériose.

4.7.5. Laboratoire Communautaire de Référence (EURL) des *Listeria monocytogenes* et DG SANTE

Le laboratoire de référence des *Listeria* de l'Union européenne (EURL) est situé au laboratoire ANSES-LSA de Maisons-Alfort, également LNRI. Ses missions consistent en l'analyse de l'antibiorésistance des souches zoonotiques et la mise au point de méthodes d'essais dans le domaine alimentaire et vétérinaire pour la détection, l'énumération et la caractérisation des *Lm*.

La DG SANTE a sollicité le CNRL/CCOMS afin d'évaluer la fréquence d'isolement, en Europe et en France, de souches de *Lm* non hémolytiques dans des échantillons alimentaires et vétérinaires. L'EURL *Lm*/LNRI a ensuite envoyé une demande officielle aux CCOMS/CNRL des *Listeria* pour définir l'impact de ces souches atypiques sur la santé publique. Le CNRL a publié la réponse à cette demande sur (i) la prévalence de ces souches dans les échantillons cliniques, alimentaires et environnementaux, (ii) les origines moléculaires de ce caractère non hémolytique, et (iii) l'impact sur la virulence des souches (38).

Le CNRL a également participé avec le LNRI et l'EURL *Lm* (ANSES) à l'étude LiSEQ (*Listeria* SEQuencing).

Entre 2017 et 2021, l'EURL *Lm* a sollicité le CNRL dans le cadre d'analyses déjà effectuées par le CNRL pour 20 séquences génomiques d'Urgent Inquiries (UI-509, UI-605, UI-583).

4.7.6. European Center for Diseases Control: ECDC

Le CNRL participe au groupe de travail *Listeria* du réseau européen des maladies d'origine hydrique et alimentaire (FWD) et au « Workshop on whole-genome sequencing for food and waterborne pathogens » de l'ECDC, avec la participation de M. Lecuit ou A. Leclercq en tant qu'experts.

Il contribue à la notification de données françaises dans la base ECDC TESSY (European Surveillance System), et participe ainsi à la surveillance des maladies infectieuses au niveau européen. Il participe également, en lien avec SPF, aux investigations de cas groupés ou épidémies européennes, nommées « Urgent Inquiries », et signalées via la base ECDC EPIS (Epidemic Intelligence Information System). Il assure la compatibilité de la base du CNRL avec la base Européenne TESSY Mol, qui est connectée à la base du CNRL depuis décembre 2012. En juin 2022, la base EFSA/ECDC One Health de métadonnées et typages génomiques sera ouverte et le CNRL suivra les indications de ses tutelles.

Le CNRL a aussi participé:

- au groupe de travail *Listeria* du réseau européen des maladies d'origine hydrique et alimentaire (FWD) (M. Lecuit, A. Leclercq);
- à la gestion des alertes européennes de la plateforme EPI/EPIPULSE;
- au meeting annuel du FWD network (18 Octobre 2017, Parma, A. Moura) et à l'ECDC-EFSA networks' meeting (Parma, 16-17 Octobre, A. Moura);
- à l'exercice européen EFSA-ECDC, au projet ELITE (European *Listeria* Typing Exercise) et à la Base Line Study EFSA (étude sur la contamination des aliments prêts-à-consommer et les cas humains survenus sur la période 2010-début 2011)
- à la consultation sur le draft « EU protocol for enhanced surveillance of listeriosis » en 2019;
- à la demande de l'ECDC sur la collecte des données et génomes des cas de listériose « Initiation of WGS-enhanced real-time data collection of *Listeria* isolates from 1 march 2019 »;
- de l'Atlas annuel de surveillance Food and Waterborne diseases;
- à participer à l'actualisation de la base TESSY par SPF avec les données françaises;

- à la révision du rapport ECDC sur ELITE (European Listeria Typing Exercise) en 2020 publié en mars 2021 (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/joint-ecdc-efsa-and-eurl-lm-report-european-listeria-typing-exercise-elite>);
- à des rapports conjoints annuels EFSA-ECDC sur les zoonoses (European Union Summary Report (EUSR) on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in EU, in 2016),
- à une enquête:
 - sur « changes and practices in the national surveillance systems for invasive listeriosis » et “ national capacity for Whole Genome Sequencing (WGS) use for Public Health applications in EU/EEA countries” ayant abouti à l’article *Revez J, Espinosa L, Albiger B, Leitmeyer KC, Struelens MJ and ECDC National Microbiology Focal Points and Experts Group. 2017. Survey on the Use of Whole-Genome Sequencing for Infectious Diseases Surveillance: Rapid Expansion of European National Capacities, 2015–2016. Front. Public Health 5:347.*
 - à une enquête sur « Evaluation of the European FWD Surveillance System (EPHESUS) » <https://sites.google.com/a/epiconcept.fr/ephesus/home> en février 2018.
 - sur « Criteria for *Listeria* multi-country cluster detection » pour l’Advisory Forum de l’ECDC en Septembre 2018.
 - sur « Upgrade of the ECDC-EFSA joint database for whole genome sequencing » en 2019;
- à la publication de Joint ECDC-EFSA Rapid Outbreak Assessments (ROAs) for *L. monocytogenes* décrit au chapitre 3.1.1.;
- à un poster à l’ESCAIDE, Malte, 21-23 Novembre 2018 Einöder-Moreno M, Rizzi V, Felix F, Rimhanen-Finne R, Leinonen E, Kanagarajah S, Jernberg C, Lecuit M, Leclercq A, Albert A, Schmid D, Pietzka A, Takkinen J & International Outbreak Investigation Team. Multi-country outbreak of listeriosis due to *Listeria monocytogenes*, multi-locus sequence type 6, infections probably linked to frozen corn, European Union 2015–2018 (<https://simul-europe.com/2018/esc/HtmlPage1.html?prodId=12.4.pdf.jpg>);

4.7.7. Autorité Européenne de sécurité des Aliments: EFSA

Le CNRL participe ou a participé:

- en lien avec le Statens Serum Institute de Copenhague en 2017, au projet EFSA WGS intitulé « Closing gaps for performing a risk assessment on *L. monocytogenes* in ready-to-eat. Activity 3 – Comparison food and human isolates”;
- au Stakeholder meeting à l’EFSA (Parma, Italie, A. Leclercq) le 19-20 septembre 2017 on draft scientific opinion on “*Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU” sur les points suivants: the potential health effects associated with *L. monocytogenes* and the relation between doses and illness in different risk groups; the exposure to *L. monocytogenes* by consumption of RTE foods, and the trends of human listeriosis cases in the EU with potential explanatory factors;
- à la Scientific opinion EFSA par ses données et ses analyses: EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Fernández Escámez PS, Girones R, Herman L, Koutsoumanis K, Nørrung B, Robertson L, Ru G, Sanaa M, Simmons M, Skandamis P, Snary E, Speybroeck N, Ter Kuile B, Threlfall J, Wahlström H, Takkinen J, Wagner M, Arcella D, Da Silva Felicio MT, Georgiadis M, Messens W and Lindqvist R, 2018. Scientific Opinion on the *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA Journal 2018;16(1):5134, 173 pp.* <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5134>

4.7.8. Center for Disease Control and PulseNet

En 2017, le CNRL a participé à l’harmonisation européenne (ECDC/EFSA) et internationale (Pulsenet) des méthodes de groupage PCR et de typage moléculaire par génomique des *Lm*.

Sylvain Brisse a représenté le CNR/CC-OMS *Listeria* au PulseNet International meeting on global foodborne disease surveillance: Towards publicly available databases and tools, Winnipeg, Canada, 21-22 juin 2017, sur la mise en place du WGS et des bases de données dans le réseau Pulsenet international.

Le CNRL a participé à la réunion du 15 septembre 2017 à SPF entre SPF et le CDC Atlanta sur les infections d’origine alimentaire en présence de Robert Tauxe, qui a abordé les points suivants: le WGS en surveillance de routine, les dernières investigations d’épidémies, l’utilisation de méthodes diagnostic sans culture: PCR syndromiques, un résumé des différentes activités de surveillance des infections d’origine alimentaire dont *Listeria*.

4.7.9. Organisation Internationale de Normalisation (ISO) et Comité Européen de Normalisation (CEN)

En 2019 et 2020, A. Leclercq a participé à des réunions de normalisation de la microbiologie de la chaîne alimentaire concernant *Listeria*:

- aux réunions Afnor V08B, CEN TC275/WG6 et ISO TC34/SC9 sur les méthodes EN ISO 11290 de détection et d'énumération des *Lm* et *Listeria* spp. dans la chaîne alimentaire;
- au développement des normes NF EN ISO 16140-6 et NF EN ISO 16140-7 sur la validation des méthodes microbiologiques de confirmation (identification, typage moléculaire);
- à l'ISO TC34/SC9/WG25 sur la normalisation du Whole Genome sequencing et typages associés.

4.7.10. Office International des Epizooties (OIE)

Le CNRL et CCOMS répond aux sollicitations de l'OIE sur des questions concernant *Listeria*, dont la coordination de la révision du chapitre *Listeria monocytogenes* finalisé en septembre 2020 pour le Terrestrial manual OIE 2022.

4.7.11. EC Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)

Le réseau RASFF de l'Union européenne est un outil d'échange d'informations sur les mesures prises pour garantir la sécurité alimentaire: les notifications d'alertes (produits alimentaires à risque sur le marché nécessitant une action immédiate) et notifications informatives (mise en place d'une alerte nationale ayant entraîné des mesures telles que le retrait ou le refus de produits alimentaires) sont transmises aux membres du réseau (DGAI, DGCCRF, SPF), qui les communiquent au CNRL.

Ce système est complété au niveau mondial par le réseau INFOSAN de l'OMS. Le CNRL/CCOMS est contacté pour expertiser certaines alertes en relation avec des urgent inquiries ECDC. Le CNR a communiqué des séquences génomiques françaises dans le cadre du RASFF 2018.0802 (UI-467), 2018.0216 (UI-444), 2016.1290, 2017.1319 et 2017.1546 (UI-509), 2018.0802 (UI-467), 2018.0216 (UI-444), 2016.1290, 2017.1319 et 2017.1546 (UI-509), et 2017.2213 (UI-630).

Ce système est complété au niveau mondial par le réseau INFOSAN de l'OMS. Le CNR/CCOMS est contacté pour expertiser certaines alertes avant leur envoi sur le réseau international. La participation du CNRL à ce système est décrite dans le chapitre 3.4.6. et en annexe A.

4.7.12. Centre Collaborateur OMS (CC-OMS)

L'Unité de Biologie des Infections est Centre Collaborateur de l'OMS des *Listeria* (Site web: <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-collaborateurs-l-oms-ccoms/listeriose-d-origine-alimentaire>).

Dans ce cadre, l'équipe du CNRL participe également à la surveillance internationale de la listériose, à la collecte de données pour l'analyse des risques réalisée par l'OMS, à la surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens des *Listeria*, et à la formation des personnels qui le contactent. Le CC-OMS a ainsi formé des stagiaires désireux de s'initier aux techniques de surveillance et de typage de *Lm*. Il répond aux sollicitations de l'OMS et apporte s'il le peut une assistance technique en cas de crise sanitaire. Le large panel de souches qui lui sont envoyées par ses différents correspondants internationaux lui permet de conduire des études sur la biodiversité de *Listeria* à large échelle.

Entre 2017 et 2021, Le CNRL/CC-OMS a participé:

- à l'organisation du congrès international ISOPOL à Toronto, Canada;
- à la gestion de l'épidémie de listériose en Afrique du Sud (2017-2019); Mission de 3 semaines (Alexandre Leclercq) du 15 mai au 3 juin 2018 à Johannesburg, auprès du National Institute for Communicable Diseases (NICD), en tant qu'expert de l'OMS pour la sécurité sanitaire des aliments, GOARN, et membre de la WHO / NICD Joint *Listeria* Incident Management Team.

- au Second Global Meeting of the FAO/WHO International Food Safety Authorities Network (Infosan), 9-11 décembre 2019, Abu Dhabi, Émirats Arabes Unis, à la session 2 INFOSAN in action sur *Listeria*. A. Leclercq a réalisé 2 présentations orales "*Introduction/background to Listeria monocytogenes*" et "*Perspectives from the WHO CC for Listeria*" (<https://www.who.int/publications-detail/9789240003934>);
- à la relecture pour la FAO et l'OMS pour le Département de Food Safety de l'OMS en 2019 du guide INFOSAN Member's guide version 13 août 2019 et d'une publication « Food safety digests » sur « *Listeria monocytogenes* et listériose » pour les gestionnaires du risque, les exploitants du secteur alimentaire et les consommateurs;
- au groupe de travail mixte FAO/OMS JEMRA (Joint Evaluation Microbiological Risk Assessment; Alexandre Leclercq, Octobre-Novembre 2020, expert *Listeria*,) sur « microbiological risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food: attribution, characterization and monitoring » pour l'édition d'un rapport de l'Evaluation des Risques Microbiologiques actualisant celui réalisé en 2004 (<https://cdn.who.int/media/docs/default-source/food-safety/jemra/listeria-meeting-summary-and-participantlist-oct-nov->
- En 2018, A. Leclercq a participé aux réunions du GOARN sur les alertes internationales concernant l'UI-444 (maïs surgelé) transformé en INFOSAN Alert (Multi-Country Outbreak of listeriosis linked to internationally distributed frozen vegetables from Hungary) et l'épidémie en Afrique du Sud.

6. REFERENCES

1. Charlier C, Perrodeau E, Leclercq A, Cazenave B, Pilmis B, Henry B, Lopes A, Maury MM, Moura A, Goffinet F, Dieye HB, Thouvenot P, Ungeheuer MN, Tourdjman M, Goulet V, de Valk H, Lortholary O, Ravaud P, Lecuit M, group Ms. 2017. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* doi:10.1016/S1473-3099(16)30521-7.
2. Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, Marchiaro G, Novara O, Leone L, Salmaso S. 2000. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N Engl J Med* 342:1236-41.
3. Dalton CB, Austin CC, Sobel J, Hayes PS, Bibb WF, Graves LM, Swaminathan B, Proctor ME, Griffin PM. 1997. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N Engl J Med* 336:100-5.
4. Ooi ST, Lorber B. 2005. Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. *Clin Infect Dis* 40:1327-32.
5. Gilchrist M. 2009. Cutaneous *Listeria* infection. *Br J Hosp Med (Lond)* 70:659.
6. Charlier C, Leclercq A, Cazenave B, Desplaces N, Travier L, Cantinelli T, Lortholary O, Goulet V, Le Monnier A, Lecuit M. 2013. *Listeria monocytogenes*-associated joint and bone infections: a study of 43 consecutive cases. *Clin Infect Dis* 54:240-8.
7. Blot M, Disson O, Leclercq A, Moura A, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Burrioni B, Lupo A, Lecuit M, Charlier C. 2022. *Listeria*-Associated Lymphadenitis: A Series of 11 Consecutive Cases and Review of the Literature. *Open Forum Infect Dis* 9:ofab598.
8. Charlier C, Fevre C, Travier L, Cazenave B, Bracq-Dieye H, Podevin J, Assomany D, Guilbert L, Bossard C, Carpentier F, Cales V, Leclercq A, Lecuit M. 2014. *Listeria monocytogenes*-associated biliary tract infections: a study of 12 consecutive cases and review. *Medicine (Baltimore)* 93:e105.
9. Shoai-Tehrani M, Pilmis B, Maury MM, Robineau O, Disson O, Jouvion G, Couplier G, Thouvenot P, Bracq-Dieye H, Vales G, Leclercq A, Lecuit M, Charlier C, *Listeria* endovascular infections study g. 2019. *Listeria monocytogenes*-associated endovascular infections: A study of 71 consecutive cases. *J Infect* 79:322-331.
10. Anonyme. 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. EFSA, Parme, Italie Accessible à <https://efsaonlineibrarywileycom/doi/102903/jefsa20195926>.
11. Charlier C, Kermorvant-Duchemin E, Perrodeau E, Moura A, Maury MM, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Leclercq A, Ravaud P, Lecuit M. 2022. Neonatal *Listeriosis* Presentation and Outcome: A Prospective Study of 189 Cases. *Clin Infect Dis* 74:8-16.
12. Ivanek R, Grohn YT, Tauer LW, Wiedmann M. 2004. The cost and benefit of *Listeria monocytogenes* food safety measures. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44:513-23.
13. de Noordhout CM, Devleeschauwer B, Angulo FJ, Verbeke G, Haagsma J, Kirk M, Havelaar A, Speybroeck N. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 14:1073-82.
14. Hazards EPoB, Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Fernandez Escamez PS, Girones R, Herman L, Koutsoumanis K, Norrung B, Robertson L, Ru G, Sanaa M, Simmons M, Skandamis P, Snary E, Speybroeck N, Ter Kuile B, Threlfall J, Wahlstrom H, Takkinen J, Wagner M, Arcella D, Da Silva Felicio MT, Georgiadis M, Messens W, Lindqvist R. 2018. *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA J* 16:e05134.
15. Pouillot R, Hoelzer K, Jackson KA, Henao OL, Silk BJ. 2012. Relative risk of listeriosis in Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) sites according to age, pregnancy, and ethnicity. *Clin Infect Dis* 54 Suppl 5:S405-10.
16. Thomas J, Govender N, McCarthy KM, Erasmus LK, Doyle TJ, Allam M, Ismail A, Ramalwa N, Sekwadi P, Ntshoe G, Shonhiwa A, Essel V, Tau N, Smouse S, Ngomane HM, Disenyeng B, Page NA, Govender NP, Duse AG, Stewart R, Thomas T, Mahoney D, Tourdjman M, Disson O, Thouvenot P, Maury MM, Leclercq A, Lecuit M, Smith AM, Blumberg LH. 2020. Outbreak of *Listeriosis* in South Africa Associated with Processed Meat. *N Engl J Med* 382:632-643.
17. Goulet V, Leclercq A., Laurent E., King, L.A., Chenal-Francisque, V., Vaillant, V., Letort, M.J., Lecuit, M., H. de Valk. . 2012. Surveillance de la listériose humaine en France, 1999-2011. . *Bull Epidemiol Bebdom Hors Série*. 9 mai 2012.:38-40.
18. Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, Maury MM, Leclercq A, Tarr C, Bjorkman JT, Dallman T, Reimer A, Enouf V, Larssonneur E, Carleton H, Bracq-Dieye H, Katz LS, Jones L, Touchon M, Tourdjman M, Walker M, Stroika S, Cantinelli T, Chenal-Francisque V, Kucerova Z, Rocha EP, Nadon C, Grant K, Nielsen EM, Pot B, Gerner-Smidt P, Lecuit M, Brisse S. 2016. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nat Microbiol* 2:16185.
19. Leclercq A, Le Monnier A. 2018. *Listeria monocytogenes*, p 569-574. In *Microbiologie Sfd (ed), Référentiel en microbiologie médicale (REMIC)*, 6 ed, vol 6.2, Paris, France.
20. Thouvenot P, Vales G, Bracq-Dieye H, Tessaud-Rita N, Maury MM, Moura A, Lecuit M, Leclercq A. 2018. MALDI-TOF mass spectrometry-based identification of *Listeria* species in surveillance: A prospective study. *J Microbiol Methods* 144:29-32.
21. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. 2004. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 42:3819-22.
22. Leclercq A, Chenal-Francisque V, Dieye H, Cantinelli T, Drali R, Brisse S, Lecuit M. 2011. Characterization of the novel *Listeria monocytogenes* PCR serogrouping profile IVb-v1. *Int J Food Microbiol* 147:74-7.
23. Chenal-Francisque V, Charlier C, Mehvish S, Dieye H, Leclercq A, Courvalin P, Lecuit M. Highly Rifampin-Resistant *Listeria monocytogenes* Isolated from a Patient with Prosthetic Bone Infection. *Antimicrob Agents Chemother* 58:1829-30.
24. Morvan A, Moubareck C, Leclercq A, Herve-Bazin M, Bremont S, Lecuit M, Courvalin P, Le Monnier A. 2010. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans in France. *Antimicrob Agents Chemother* 54:2728-31.

25. Chenal-Francisque V, Maury MM, Lavina M, Touchon M, Leclercq A, Lecuit M, Brisse S. 2015. Clonogrouping, a Rapid Multiplex PCR Method for Identification of Major Clones of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol* 53:3355-8.
26. Maury MM, Tsai YH, Charlier C, Touchon M, Chenal-Francisque V, Leclercq A, Criscuolo A, Gaultier C, Roussel S, Brisabois A, Disson O, Rocha EP, Brisse S, Lecuit M. 2016. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat Genet* 48:308-13.
27. Nwaiwu O. 2020. What are the recognized species of the genus *Listeria*? *Access Microbiol* 2:acmi000153.
28. Haase JK, Didelot X, Lecuit M, Korkeala H, Achtman M. 2013. The ubiquitous nature of *Listeria monocytogenes* clones: a large-scale Multilocus Sequence Typing study. *Environ Microbiol* 16:405-16.
29. Haase JK, Murphy RA, Choudhury KR, Achtman M. Revival of Seeliger's historical 'Special *Listeria* Culture Collection'. *Environ Microbiol* 13:3163-71.
30. Schjorring S, Gillesberg Lassen S, Jensen T, Moura A, Kjeldgaard JS, Muller L, Thielke S, Leclercq A, Maury MM, Tourdjman M, Donguy MP, Lecuit M, Ethelberg S, Nielsen EM. 2017. Cross-border outbreak of listeriosis caused by cold-smoked salmon, revealed by integrated surveillance and whole genome sequencing (WGS), Denmark and France, 2015 to 2017. *Euro Surveill* 22.
31. Palacios-Gorba C, Moura A, Leclercq A, Gomez-Martin A, Gomis J, Jimenez-Trigos E, Moce ML, Lecuit M, Quereda JJ. 2021. *Listeria* spp. Isolated from Tonsils of Wild Deer and Boars: Genomic Characterization. *Appl Environ Microbiol* 87.
32. Palacios-Gorba C, Moura A, Gomis J, Leclercq A, Gomez-Martin A, Bracq-Dieye H, Moce ML, Tessaud-Rita N, Jimenez-Trigos E, Vales G, Garcia-Munoz A, Thouvenot P, Garcia-Rosello E, Lecuit M, Quereda JJ. 2021. Ruminant-associated *Listeria monocytogenes* isolates belong preferentially to dairy-associated hypervirulent clones: a longitudinal study in 19 farms. *Environ Microbiol* 23:7617-7631.
33. Hurley D, Luque-Sastre L, Parker CT, Huynh S, Eshwar AK, Nguyen SV, Andrews N, Moura A, Fox EM, Jordan K, Lehner A, Stephan R, Fanning S. 2019. Whole-Genome Sequencing-Based Characterization of 100 *Listeria monocytogenes* Isolates Collected from Food Processing Environments over a Four-Year Period. *mSphere* 4.
34. Painset A, Bjorkman JT, Kiil K, Guillier L, Mariet JF, Felix B, Amar C, Rotariu O, Roussel S, Perez-Reche F, Brisse S, Moura A, Lecuit M, Forbes K, Strachan N, Grant K, Moller-Nielsen E, Dallman TJ. 2019. LiSEQ - whole-genome sequencing of a cross-sectional survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and human clinical cases in Europe. *Microb Genom* 5.
35. Halbedel S, Wilking H, Holzer A, Kleta S, Fischer MA, Luth S, Pietzka A, Huhulescu S, Lachmann R, Krings A, Ruppitsch W, Leclercq A, Kamphausen R, Meincke M, Wagner-Wiening C, Contzen M, Kraemer IB, Al Dahouk S, Allerberger F, Stark K, Fliieger A. 2020. Large Nationwide Outbreak of Invasive Listeriosis Associated with Blood Sausage, Germany, 2018-2019. *Emerg Infect Dis* 26:1456-1464.
36. Rivas L, Paine S, Dupont PY, Tiong A, Horn B, Moura A, Gilpin BJ. 2021. Genome Typing and Epidemiology of Human Listeriosis in New Zealand, 1999 to 2018. *J Clin Microbiol* 59:e0084921.
37. Kurpas M, Osek J, Moura A, Leclercq A, Lecuit M, Wieczorek K. 2020. Genomic Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolated From Ready-to-Eat Meat and Meat Processing Environments in Poland. *Front Microbiol* 11:1412.
38. Maury MM, Chenal-Francisque V, Bracq-Dieye H, Han L, Leclercq A, Vales G, Moura A, Gouin E, Scotti M, Disson O, Vazquez-Boland JA, Lecuit M. 2017. Spontaneous Loss of Virulence in Natural Populations of *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun* 85.
39. Moura A, Disson O, Lavina M, Thouvenot P, Huang L, Leclercq A, Fredriksson-Ahomaa M, Eshwar AK, Stephan R, Lecuit M. 2019. Atypical Hemolytic *Listeria innocua* Isolates Are Virulent, albeit Less than *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun* 87.
40. Danion F, Maury MM, Leclercq A, Moura A, Perronne V, Leotard S, Dary M, Tanguy B, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Lecuit M, Charlier C. 2017. *Listeria monocytogenes* isolation from urine: a series of 15 cases and review. *Clin Microbiol Infect* 23:583-585.
41. Chersich MF, Takkinen J, Charlier C, Leclercq A, Adams PE, Godbole G, Altmeyer U, Friesema IHM, Labbe Sandelin L, Jenkin L, Fontana L, Aldigeri R, Venter F, Luchters SMF, Lecuit M, Cimino L. 2017. Diagnosis and Treatment of *Listeria monocytogenes* Endophthalmitis: A Systematic Review. *Ocul Immunol Inflamm* doi:10.1080/09273948.2016.1276788:1-10.
42. Charlier C, Poirée S, Delavaud C, Khoury G, Richaud C, Leclercq A, Hélénon O, Lecuit M. 2018. Imaging of human neuroinfection: a prospective study of 71 cases. *Clin Infect Dis* In Press.
43. Morgand M, Leclercq A, Maury MM, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Lecuit M, Charlier C. 2018. *Listeria monocytogenes*-associated respiratory infections: a study of 38 consecutive cases. *Clin Microbiol Infect* 24:1339 e1-1339 e5.
44. Charlier C, Perrodeau E, Levallois C, Cachina T, Dommergues M, Salomon LJ, Azria E, Goffinet F, Ravaud P, Lecuit M. 2020. Causes of fever in pregnant women with acute undifferentiated fever: a prospective multicentric study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 39:999-1002.
45. Pilmis B, Leclercq A, Maury MM, Moura A, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Lecuit M, Charlier C. 2020. Cutaneous listeriosis study g. 2020. Cutaneous listeriosis, a case series of 16 consecutive patients over 25 years. *J Infect* 80:232-254.
46. Charlier C, Lecuit M. 2020. Maternal-fetal infections: Why do they matter? *Virulence* 11:398-399.
47. Charlier C, Disson O, Lecuit M. 2020. Maternal-neonatal listeriosis. *Virulence* 11:391-397.
48. Charlier C, Kermorvant-Duchemin E, Perrodeau E, Moura A, Maury MM, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Leclercq A, Ravaud P, Lecuit M, neonatal Msg. 2021. Neonatal listeriosis presentation and outcome: a prospective study of 189 cases. *Clin Infect Dis* doi:10.1093/cid/ciab337.

49. Maury MM, Bracq-Dieye H, Huang L, Vales G, Lavina M, Thouvenot P, Disson O, Leclercq A, Brisse S, Lecuit M. 2019. Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products. *Nat Commun* 10:2488.
50. Rolhion N, Chassaing B, Nahori MA, de Bodd J, Moura A, Lecuit M, Dussurget O, Berard M, Marzorati M, Fehlner-Peach H, Littman DR, Gewirtz AT, Van de Wiele T, Cossart P. 2019. A *Listeria monocytogenes* Bacteriocin Can Target the Commensal *Prevotella copri* and Modulate Intestinal Infection. *Cell Host Microbe* 26:691-701 e5.
51. Ferwerda B, Maury MM, Brouwer MC, Hafner L, van der Ende A, Bentley S, Lecuit M, van de Beek D. 2019. Residual Variation Intolerance Score Detects Loci Under Selection in Neuroinvasive *Listeria monocytogenes*. *Front Microbiol* 10:2702.
52. Lecuit M. 2020. *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. *Cell Microbiol* 22:e13186.
53. Meza-Torres J, Lelek M, Quereda JJ, Sachse M, Manina G, Ershov D, Tinevez JY, Radoshevich L, Maudet C, Chaze T, Giai Gianetto Q, Matondo M, Lecuit M, Martin-Verstraete I, Zimmer C, Bierne H, Dussurget O, Cossart P, Pizarro-Cerda J. 2021. Listeriolysin S: A bacteriocin from *Listeria monocytogenes* that induces membrane permeabilization in a contact-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118.
54. Nunez-Montero K, Leclercq A, Moura A, Vales G, Peraza J, Pizarro-Cerda J, Lecuit M. 2018. *Listeria costaricensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 68:844-850.
55. Leclercq A, Moura A, Vales G, Tessaud-Rita N, Aguilhon C, Lecuit M. 2019. *Listeria thailandensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 69:74-81.
56. Quereda JJ, Leclercq A, Moura A, Vales G, Gomez-Martin A, Garcia-Munoz A, Thouvenot P, Tessaud-Rita N, Bracq-Dieye H, Lecuit M. 2020. *Listeria valentina* sp. nov., isolated from a water trough and the faeces of healthy sheep. *Int J Syst Evol Microbiol* 70:5868-5879.
57. Moura A, Tourdjman M, Leclercq A, Hamelin E, Laurent E, Fredriksen N, Van Cauteren D, Bracq-Dieye H, Thouvenot P, Vales G, Tessaud-Rita N, Maury MM, Alexandru A, Criscuolo A, Quevillon E, Donguy MP, Enouf V, de Valk H, Brisse S, Lecuit M. 2017. Real-Time Whole-Genome Sequencing for Surveillance of *Listeria monocytogenes*, France. *Emerg Infect Dis* 23:1462-1470.
58. Nwaiwu O, Moura A, Thouvenot P, Rees C, Leclercq A, Lecuit M. 2017. Draft Genome Sequences of *Listeria monocytogenes*, Isolated from Fresh Leaf Vegetables in Owerri City, Nigeria. *Genome Announc* 5.
59. El Zowalaty ME, Moura A, Lecuit M, Zishiri OT. 2022. Draft Genome Sequence of *Listeria innocua* Strain MEZLIS29, Isolated from a Cow in South Africa. *Microbiol Resour Announc* 11:e0112221.
60. Camargo AC, Moura A, Avillan J, Herman N, McFarland AP, Sreevatsan S, Call DR, Woodward JJ, Lecuit M, Nero LA. 2019. Whole-genome sequencing reveals *Listeria monocytogenes* diversity and allows identification of long-term persistent strains in Brazil. *Environ Microbiol* 21:4478-4487.
61. Hafner L, Pichon M, Burucoa C, Nusser SHA, Moura A, Garcia-Garcera M, Lecuit M. 2021. *Listeria monocytogenes* faecal carriage is common and depends on the gut microbiota. *Nat Commun* 12:6826.
62. Moura A, Lefrancq N, Wirth T, Leclercq A, Borges V, Gilpin B, Dallman TJ, Frey J, Franz E, Nielsen EM, Thomas J, Pightling A, Howden BP, Tarr CL, Gerner-Smidt P, Cauchemez S, Salje H, Brisse S, Lecuit M, *Listeria* CCSG. 2021. Emergence and global spread of *Listeria monocytogenes* main clinical clonal complex. *Sci Adv* 7:eabj9805.
63. Mughini-Gras L, Kooh P, Fravallo P, Augustin JC, Guillier L, David J, Thebault A, Carlin F, Leclercq A, Jourdan-Da-Silva N, Pavia N, Villena I, Sanaa M, Watier L. 2019. Critical Orientation in the Jungle of Currently Available Methods and Types of Data for Source Attribution of Foodborne Diseases. *Front Microbiol* 10:2578.
64. Mughini-Gras L, Kooh P, Augustin JC, David J, Fravallo P, Guillier L, Jourdan-Da-Silva N, Thebault A, Sanaa M, Watier L, Anses Working Group on Source Attribution of Foodborne D. 2018. Source Attribution of Foodborne Diseases: Potentialities, Hurdles, and Future Expectations. *Front Microbiol* 9:1983.
65. Leclercq A, Kooh P, Augustin JC, Guillier L, Thebault A, Cadavez V, Gonzales-Barron U, Sanaa M. 2021. Risk factors for sporadic listeriosis: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Risk Analysis* 17.
66. Trimoulinard A, Beral M, Henry I, Atiana L, Porphyre V, Tessier C, Leclercq A, Cardinale E. 2017. Contamination by *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. and *Listeria* spp. of most popular chicken- and pork-sausages sold in Reunion Island. *Int J Food Microbiol* 250:68-74.
67. Scortti M, Han L, Alvarez S, Leclercq A, Moura A, Lecuit M, Vazquez-Boland J. 2018. Epistatic control of intrinsic resistance by virulence genes in *Listeria*. *PLoS Genet* 14:e1007525.
68. Bastin B, Bird P, Crowley E, Benzinger MJ, Agin J, Goins D, Sohler D, Timke M, Awad M, Kostrzewa M. 2018. Confirmation and Identification of *Listeria monocytogenes*, *Listeria* spp. and Other Gram-Positive Organisms by the Bruker MALDI Biotyper Method: Collaborative Study, First Action 2017.10. *J AOAC Int* 101:1610-1622.
69. Van Walle I, Bjorkman JT, Cormican M, Dallman T, Mossong J, Moura A, Pietzka A, Ruppitsch W, Takkinen J, European *Listeria* Wgs Typing G. 2018. Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. *Euro Surveill* 23.
70. De Valk H, Tourdjman M, Leclercq A, Maury MM, Moura A, Chenal-Francisque V, Goulet V, Brisse S, Lecuit M. 2016. Changes in epidemiology and surveillance of listeriosis in France, abstr ISOPOL XIX, Paris, France, 14-17 June 2016.
71. Mook P, O'Brien SJ, Gillespie IA. 2011. Concurrent conditions and human listeriosis, England, 1999-2009. *Emerg Infect Dis* 17:38-43.
72. Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, Desenclos JC. 2012. Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clin Infect Dis* 54:652-60.
73. Hof H, Nichterlein T, Kretschmar M. 1997. Management of listeriosis. *Clin Microbiol Rev* 10:345-57.

74. *Disson O, Grayo S, Huillet E, Nikitas G, Langa-Vives F, Dussurget O, Ragon M, Le Monnier A, Babinet C, Cossart P, Lecuit M. 2008. Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis. Nature 455:1114-8.*
75. *Jacquet C, Doumith M, Gordon JJ, Martin PM, Cossart P, Lecuit M. 2004. A molecular marker for evaluating the pathogenic potential of foodborne Listeria monocytogenes. J Infect Dis 189:2094-100.*
76. *Anonyme. 2007. Règlement (CE) no 1441/2007 de la Commission du 5 décembre 2007 modifiant le règlement (CE) no 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Journal officiel des Communautés européennes 0012 - 0029.*
77. *Angelidis AS, Kalamaki MS, Georgiadou SS. 2015. Identification of non-Listeria spp. bacterial isolates yielding a beta-D-glucosidase-positive phenotype on Agar Listeria according to Ottaviani and Agosti (ALOA). Int J Food Microbiol 193:114-29.*
78. *Cotter PD, Draper LA, Lawton EM, Daly KM, Groeger DS, Casey PG, Ross RP, Hill C. 2008. Listeriolysin S, a novel peptide haemolysin associated with a subset of lineage I Listeria monocytogenes. PLoS Pathog 4:e1000144.*
79. *Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, Khun H, Huerre M, Vacher-Lavenu MC, Gordon JJ, Cossart P. 2004. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by Listeria monocytogenes: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. Proc Natl Acad Sci U S A 101:6152-7.*
80. *Lecuit M, Vandormael-Pournin S, Lefort J, Huerre M, Gounon P, Dupuy C, Babinet C, Cossart P. 2001. A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier. Science 292:1722-5.*
81. *Tubiana S, Varon E, Biron C, Ploy MC, Mourvillier B, Taha MK, Revest M, Poyart C, Martin-Blondel G, Lecuit M, Cua E, Pasquet B, Preau M, Hoen B, Duval X, group Cs, Principal i, Steering C, Scientific committee: steering c, the following m, Centers CC, Coordination, statistical a, Scientific p, Partners. 2020. Community-acquired bacterial meningitis in adults: in-hospital prognosis, long term disability and determinants of outcome in a multicentre prospective cohort. Clin Microbiol Infect doi:10.1016/j.cmi.2019.12.020.*
82. *Huttner BD, de Lastours V, Wassenberg M, Maharshak N, Mauris A, Galperine T, Zanichelli V, Kapel N, Bellanger A, Olearo F, Duval X, Armand-Lefevre L, Carmeli Y, Bonten M, Fantin B, Harbarth S, group RGWs. 2019. A 5-day course of oral antibiotics followed by faecal transplantation to eradicate carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a randomized clinical trial. Clin Microbiol Infect 25:830-838.*
83. *Lazarus C, Leclercq A, Lecuit M, Vaillant V, Coignard B, Blanchard H, Novakova I, Astagneau P. 2013. Probable nosocomial transmission of listeriosis in neonates. J Hosp Infect 85:159-60.*
84. *Tourdjman M, Leclercq A, Groleau C, Soyer L, Moura A, Laurent E, Donguy MP, Conan G, Legoff D, Brisse S, Lecuit M, De Valk H. 2016. Hospital-Acquired listeriosis outbreak linked to prolonged contamination of a hospital kitchen environment - France, 2013, abstr International Symposium on Problems of Listeriosis (ISOPOL) XIX, Paris, France,*
85. *Pettengill JB, Markell A, Conrad A, Carleton HA, Beal J, Rand H, Musser S, Brown EW, Allard MW, Huffman J, Harris S, Wise M, Lucas A. 2020. A multinational listeriosis outbreak and the importance of sharing genomic data. Lancet Microbe 1:e233-e234.*
86. *Richard S, Oggioni C, Jacquet C, Laurent E, Lequerrec F, Quelquejeu N, Goulet V. 2004. Investigations autour de cas de listériose neuroméningée: bilan de 1è mois de fonctionnement. Bull Epidemiol Hebdom 9:35-36.*
87. *Granier SA, Moubareck C, Colaneri C, Lemire A, Roussel S, Dao TT, Courvalin P, Brisabois A. Antimicrobial resistance of Listeria monocytogenes isolates from food and the environment in France over a 10-year period. Appl Environ Microbiol 77:2788-90.*
88. *FAO, OMS. 2002. Exemple de la cellule "Listeria", abstr Conférence paneuropéenne sur la sécurité sanitaire et la qualité des aliments, document de séance de la délégation française, Budapest, Hongrie,*
89. *Roussel S., Leclercq A, Santolini A, Agbessi A, Chenal-Francisque, V. L, R. L, M., , Pihier N, Brisabois A. 2012. Surveillance des Listeria monocytogenes dans les aliments. . Bull Epidemiol Hebdom Hors série. 9 mai 2012:41-45.*
90. *Anonyme. 2008. Commission decision of 28 April 2008 amending Decision 2002/253/EC laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council, p 46-90.*
91. *Anonyme. 2002. Règlement (CE) No 178/2002 du parlement européen et du conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires. Journal officiel des Communautés européennes:1-24.*
92. *Goulet V, King LA, Vaillant V, de Valk H. 2013. What is the incubation period for listeriosis? BMC Infect Dis 13:11.*
93. *Leclercq A, Charlier C, Lecuit M. Global burden of listeriosis: the tip of the iceberg. Lancet Infect Dis 14:1027-8.*
94. *Halpin JL, Garrett NM, Ribot EM, Graves LM, Cooper KL. Re-evaluation, optimization, and multilaboratory validation of the PulseNet-standardized pulsed-field gel electrophoresis protocol for Listeria monocytogenes. Foodborne Pathog Dis 7:293-8.*

ANNEXE A

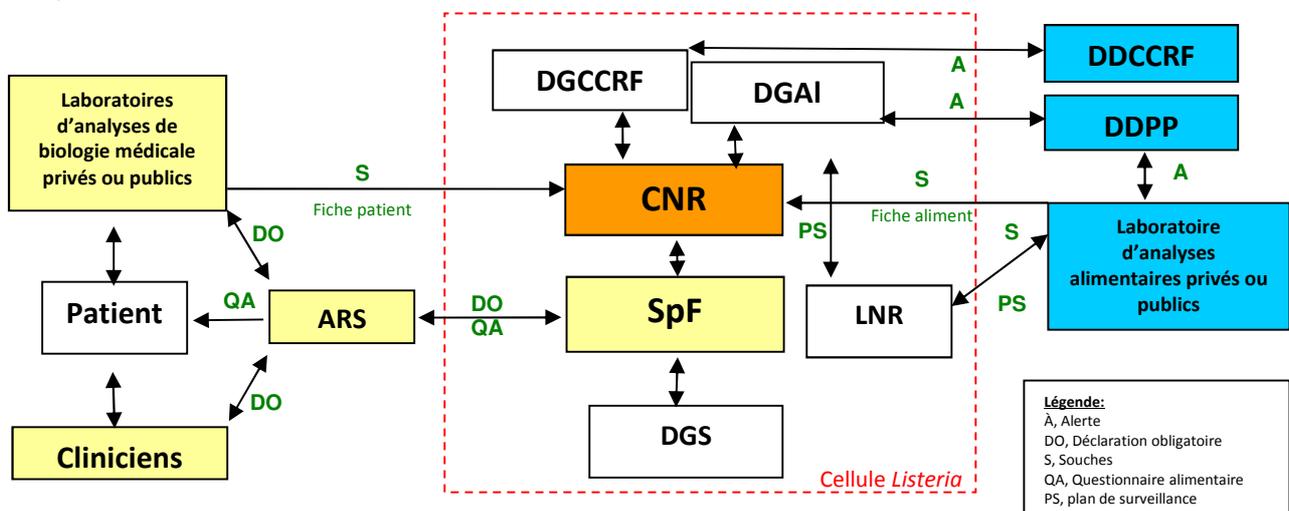
LA SURVEILLANCE FRANÇAISE DE LA LISTERIOSE

Les systèmes de surveillance de la listériose

Surveillance de la listériose humaine en France

Le CNRL détecte les cas groupés et participe aux investigations destinées à identifier l'origine alimentaire des cas (88). Cette surveillance s'effectue en lien avec SpF, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) et la Direction Générale de la Consommation, de la Concurrence et de la Répression des Fraudes (DGCCRF), qui constituent la Cellule interministérielle *Listeria*, comprenant également la DGS et l'ANSES (Figure 20). Le fonctionnement de cette entité est formalisé depuis janvier 2004 par la « Procédure relative au fonctionnement de la Cellule *Listeria* chargée de la coordination des investigations et des actions autour de cas groupés de listériose ». Les missions de la cellule sont (i) la détection des cas groupés de listériose, (ii) la proposition et la coordination des investigations et actions à mettre en œuvre devant des cas groupés potentiellement liés à une source commune de contamination, (iii) leur gestion et leur prévention. Le rôle du CNRL dans la surveillance est présenté dans la Figure 23.

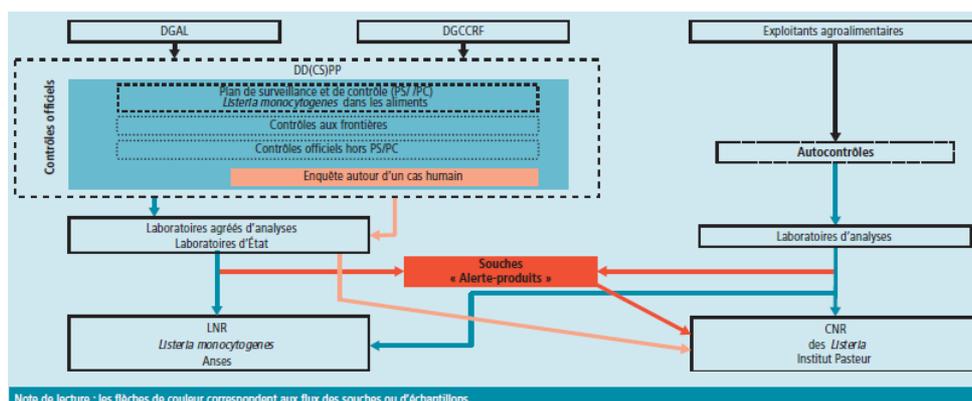
Figure 23. Schéma de fonctionnement de la cellule *Listeria*.



CNR: Centre national de Référence des *Listeria*; LNR: Laboratoire National de référence; INVS: Institut de Veille Sanitaire; DGAI: Direction Générale de l'Alimentation; DDPP: Directions Départementales de la Protection des Populations; DDCCRF: Directions Départementales de la Concurrence et de la Répression des Fraudes; DGCCRF: Direction Générale de la Consommation et de la Répression des Fraudes; ARS: Agence Régionale de Santé; DGS: Direction Générale de la Santé.

Au sein de la « Cellule *Listeria* », le CNRL joue un rôle scientifique, technique et d'aide à la décision. Le circuit des souches d'origine alimentaire ou environnementale a été formalisé par la cellule *Listeria* comme présenté à la Figure 24.

Figure 24. Circuit des souches sur le schéma de surveillance microbiologique français des *Listeria monocytogenes* (Source: BEH. 2012. Surveillance des *L. monocytogenes* dans les aliments. Hors Série: 41-45 (89)).



DEFINITION DES CAS

En France

Les cas de listériose humaine sont classés en forme materno-néonatale et non materno-néonatale:

- Un cas de **listériose materno-néonatale** est un cas où *Lm* est isolée d'une culture d'un site, le plus souvent physiologiquement stérile, chez la femme enceinte, le fœtus, des prélèvements périnataux ou du nouveau-né (≤ 28 jours). La mère et son enfant comptent pour un cas.
- Un cas de **listériose non materno-néonatale** est un cas où une souche de *Lm* est isolée d'un site, le plus souvent physiologiquement stérile, chez un sujet de plus de 28 jours (femme enceinte exclue). Il peut s'agir:
 - d'une **forme septicémique (S)** définie par la présence de *Lm* dans une hémoculture, en l'absence d'argument pour une atteinte neurologique;
 - d'une **forme neurologique (N)** définie par la présence de *Lm* dans la culture d'un liquide céphalo-rachidien (LCR), dans le contenu d'un abcès cérébral, ou dans une hémoculture chez un patient avec atteinte neurologique clinique ou neuroradiologique (sans diagnostic alternatif);
 - d'une **autre forme (A)** définie par la présence de *Lm* dans un prélèvement non-fécal et non-sanguin, materno-fœtal ou cérébral.

On distingue les cas sporadiques et les cas groupés. Les cas groupés (appelés clusters, dus à des souches présentant les mêmes caractéristiques microbiologiques) constituent une épidémie avérée lorsque la source de contamination alimentaire est identifiée. La plupart des cas de listériose sont sporadiques, bien qu'une partie de ces cas sporadiques puisse être de clusters de sources communes non identifiées.

Le système de surveillance de la listériose du CNRL se fonde sur l'étude des souches adressées volontairement par les biologistes. Il s'agit donc d'un système passif. Le nombre d'isolats reçus au CNRL est très voisin du nombre de cas déclarés dans le cadre de la déclaration obligatoire, démontrant la quasi-exhaustivité du recueil des souches cliniques des cas déclarés. Le bilan présenté concerne tous les cas pour lesquels un prélèvement positif à *L. monocytogenes* a été effectué à l'année n avec une souche reçue et caractérisée par le CNRL. Ceci inclut également des souches reçues au CNRL au cours du premier trimestre n+1 pour des cas déclarés en n, compte tenu des délais d'acheminement des souches après la déclaration.

Proposition de modification en Europe

En Juin 2018, la Commission Européenne SANTE C3 a publié un amendement (Implementing act to the Decision 1082/13) de la liste des « EU/EEA reportable diseases » et de leurs définitions pour amender la définition européenne des cas de listériose en incluant la détection d'acides nucléiques de *L. monocytogenes* comme alternative à l'isolement par une méthode par culture pour définir un cas confirmé en Europe de listériose (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L.2018.170.01.0001.01.ENG>).

S'agissant d'une maladie à la déclaration obligatoire, SPF enregistre également les cas de listérioses sans isolement de souches principalement issues de diagnostics par qPCR simplex ou syndromiques même si le formulaire CERFA demande l'isolement de la souche.

SURVEILLANCE MICROBIOLOGIQUE DE LA LISTERIOSE EN FRANCE

Le diagnostic de listériose repose sur l'isolement de *Lm* à partir d'un prélèvement biologique physiologiquement stérile ou de prélèvements périnataux. Les cas diagnostiqués par une autre technique (biologie moléculaire ou sérologie) ne sont à ce jour pas retenus dans le cadre de la DO (90).

L'activité de surveillance du CNRL consiste à:

1. Confirmer l'identification de la souche;
2. Analyser les caractéristiques microbiologiques (groupe PCR, MultiLocus Sequence Typing (MLST), core génome

MLST (cgMLST), sensibilité aux antibiotiques et aux désinfectants) des souches isolées de cas humains, d'aliments ou d'environnement agroalimentaires, à visée épidémiologique ;

3. Recueillir les informations cliniques associées aux cas ou aux souches d'aliments ou d'environnement agroalimentaires au moyen d'une fiche de renseignements.

Ces éléments permettent:

1. d'identifier les souches doublons (patients transférés dans différents hôpitaux, couples mère-enfant, etc.);
2. de suivre les tendances épidémiologiques (répartition des formes cliniques, caractéristiques des souches, évolution du nombre de cas, etc.);
3. de détecter les épidémies, par la détection de cas groupés, en caractérisant les souches isolées et en surveillant l'apparition des cas reliés;
4. de participer à l'étude des phénomènes épidémiques en lien avec SPF: identification des cas épidémiques, du véhicule alimentaire, caractérisation de la souche épidémique.

SURVEILLANCE ET DEPASSEMENT DE SEUIL

On distingue plusieurs étapes successives d'alerte, redéfinies le 10 Janvier 2017 et du 08 Novembre 2019 par la cellule interministérielle *Listeria*, sur la base de l'analyse génomique cgMLST qui remplace la macrorestriction d'ADN (PFGE):

1. Définition de cluster dans le cadre de l'analyse génomique

Un **cluster** de souches est défini en France depuis 2015 par la mise en évidence d'au moins deux souches, dont au moins une souche humaine, ayant une similarité de plus de 99,60% (7 allèles différents sur 1748 loci détectés du core génome du cgMLST).

2. Surveillance microbiologique hebdomadaire

Le CNRL effectue depuis janvier 2017 chaque semaine un tableau de suivi des clusters (optimisé en réunion DGAI/CNRL/SPF en Janvier 2017) envoyé par courrier électronique à SPF, la DGAI et la DGCCRF, regroupant dans le détail sur les souches alimentaires/environnementales d'alertes produits, le détail anonyme sur les souches humaines des clusters et les souches d'autocontrôles des clusters simplement mentionnés par le numéro de CLIP CNRL, et les types cgMLST (CT) de ces souches. Ce tableau signale aussi les caractéristiques microbiologiques similaires des souches françaises à des alertes européennes ou internationales.

3. Surveillance renforcée

Tout cluster de plus de 2 cas est suivi d'une phase de surveillance renforcée durant laquelle le CNRL signale toute nouvelle souche d'origine humaine ou alimentaire similaire à ce cluster, tandis que SPF conduit les questionnaires alimentaires et les enquêtes épidémiologiques appropriées. La Cellule *Listeria* décide au vu des résultats de ces investigations des actions à mettre en œuvre: analyse des informations disponibles (résultats des contrôles, retraits de produits), demande de transmission au CNRL de souches isolées à la production ou à la distribution, identification des marques commercialisant les produits contaminés, prélèvements dans les magasins où s'approvisionnent les patients, enquêtes dans des établissements de production, etc. La phase de surveillance renforcée est close par décision entre le CNRL, SPF et la DGAI ou la DGCCRF.

4. Phase d'alerte

La Cellule *Listeria* peut décider du passage en phase d'alerte, définie comme toute situation présentant une menace potentielle pour la santé publique et nécessitant la mise en œuvre d'investigations ou d'actions complémentaires, soit en raison du nombre de cas détectés, soit en raison des hypothèses sur l'origine de la contamination.

La Cellule *Listeria* propose les investigations complémentaires et les actions à mener. Toutes les souches de *Lm* isolées dans le cadre de ces investigations sont envoyées au CNRL. La phase d'Alerte est levée par la Cellule *Listeria*. Certaines mesures spécifiques de surveillance peuvent être maintenues après la levée de l'Alerte.

5. Cas sporadiques, groupés et épidémies

Des cas liés à des souches de même cgMLST, mais dont la source n'a pas été identifiée sont qualifiés de groupés. Une « épidémie » correspond à des cas groupés dont la source alimentaire a été identifiée. Un cas isolé dont la source n'a pas été identifiée est qualifié de sporadique. L'accroissement du nombre de génomes dans base de données cgMLST du CNRL et l'abandon d'une fenêtre temporelle pour la comparaison des souches tend à diminuer le nombre de cas sporadiques, et à créer de clusters de grande taille. Ceci a pour conséquence la détection de sites de production alimentaire distillant sur de longues durées des souches de *Lm* d'un même cgMLST, dont l'éradication pourrait avoir un impact sur la contamination alimentaire et le nombre de cas de listérioses.

6. Toxi-infection alimentaire collective

Il s'agit de la survenue d'au moins deux cas de gastro-entérite à *Lm* dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Selon la définition légale d'une toxi-infection alimentaire collective, la listériose n'en fait pas partie et ce point serait à reconsidérer pour tenir compte des gastroentérites à *L. monocytogenes* maintenant prouvées.

SURVEILLANCE ALIMENTAIRE

Les alertes-produits

Une alerte produit est déclenchée quand une denrée alimentaire non-conforme aux critères microbiologiques de sécurité du règlement européen 2073/2005 modifié (100 UFC/g ou absence/présence) (76, 91), et présentant donc un risque pour la santé publique, a été mise sur le marché et que des mesures de retrait et/ou rappel auprès du consommateur doivent être prises. Les alertes-produits peuvent être issues de contextes de surveillance variés comme les contrôles officiels, les autocontrôles effectués par les professionnels ou les plans de surveillance et de contrôle.

En France, ces alertes-produits sont déclenchées en cas de présence de *Lm* au sein de tout produit mis sur le marché, à consommer en l'état et permettant la croissance de *Listeria*, quel que soit le résultat du dénombrement, limite plus stricte que celle prévue par le règlement européen 2073/2005 modifié (100 UFC/g) (76, 91). Le CNRL effectue chaque semaine un tableau par courrier électronique aux membres de la Cellule *Listeria*, concernant les souches d'alertes-produits et leurs caractéristiques transmises. SPF investigate uniquement les clusters cgMLST où au moins une souche d'alerte produit était reliée. Les clusters 1 souche humaine/1 souche alimentaire ou environnementale étant très présents, de nombreuses investigations ont été demandées aux DDPP ce qui a changé les demandes habituelles sur des larges cas groupés. Le CNRL réalise chaque semaine la recherche du résistome (gènes impliqués dans la tolérance à des désinfectants comme les ammoniums quaternaires et de la résistance aux antibiotiques) et du virulome (gènes de virulence) des souches de *L. monocytogenes* issues d'alertes produits ce qui permet d'informer les DDPP locales qu'un produit comme le chlorure de benzalkonium ne doit pas être utilisé, car la souche présente une tolérance.

Les enquêtes autour d'un cas de forme neuroméningée

Depuis 2001, pour tous les cas d'infection neuroméningée (cas avec signes cliniques d'atteinte neuroméningée et souche de *Lm* isolée du sang ou du LCR), des prélèvements des aliments dans le réfrigérateur du patient ou de son environnement (avec l'accord du patient ou le cas échéant de sa famille) sont réalisés par la DDPP. Des prélèvements dans les lieux d'achats du patient par la DDPP ou la DDCCRF peuvent également être effectués. Le CNRL compare le Type cgMLST des souches isolées des aliments à celle(s) isolée(s) chez le patient afin de tenter d'identifier l'aliment à l'origine du cas.

SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

La surveillance de la résistance de *Lm* aux antibiotiques est effectuée dans un but épidémiologique pour 22 antibiotiques (céfotaxime, sulfonamides, kanamycine, clindamycine, rifampicine, tétracycline, érythromycine, chloramphénicol, ciprofloxacine, moxifloxacine, triméthoprime, gentamicine, acide fusidique, vancomycine, streptomycine, pénicilline G, ampicilline, amoxicilline, acide nalidixique, imipénème, fosfomycine), à la recherche de résistances naturelles ou acquises, selon la méthodologie EUCAST de diffusion. Les résultats de la surveillance des

souches d'origine humaine isolées de 2017 et 2021 ont été présentés dans le chapitre 3.1.9.

DETECTION ET ANALYSE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Le caractère nosocomial des infections à *Lm* est difficile à établir, car l'incubation de la listériose peut être longue (92) et la source alimentaire de l'infection est difficile à identifier.

Ce mode de contamination a été décrit:

- soit par des aliments consommés à l'hôpital,
- soit par transmission croisée, notamment par le biais de matériel contaminé par un enfant infecté (thermomètres, couveuses, table à langer, huile de soins) ou interhumaine en mettant des nouveaux nés dans la même pièce.

Le pouvoir de discrimination du cgMLST permet la détection de souches d'infections nosocomiales transmises depuis 2015 en cas de persistance dans des cuisines hospitalières. Cette identification de ces clusters spécifiques déclenche une notification à SPF et une enquête impliquant SPF, l'ARS, la DGAL/DDPP et le CNRL ainsi que le CLIN et l'hygiéniste hospitalier concerné est conduite pour identifier l'origine de l'infection.

Les bactériémies ou infections neuroméningées contractées chez des patients hospitalisés depuis plus de 15 jours et sans apport de nourriture extérieur entraînent une inspection de la cuisine hospitalière, et la réalisation de prélèvements alimentaires et de surface.

Surveillance microbiologique de la listériose en Europe

L'ECDC a mis en place un système volontaire d'investigations de cas groupés ou d'épidémies européens au moyen de la plateforme d'échanges EPIS (Epidemic Intelligence Information System) devenu EPIPULSE en 2021, ouverte aux 27 pays européens et à 51 pays non-européens.

Le CNRL, en relation avec SPF, répond à toutes les alertes déposées sur la plateforme EPIS. Ce système permet un échange de données de typages et d'informations concernant les cas groupés et les épidémies.

La base européenne ECDC TESSY (European Surveillance System) regroupe les données épidémiologiques transférées de façon volontaire et non exhaustive par les agences de santé publique nationales. Cette base est complétée par TESSY MOL, dont l'objectif est de lier les données épidémiologiques des cas humains aux données microbiologiques correspondantes (génotypage et typage moléculaire PFGE) dans le but de rendre possible une surveillance microbiologique européenne et une détection précoce des cas groupés ou épidémies au sein des pays participants, en lien avec la plateforme EPIS.

Le Laboratoire de Référence de l'Union Européenne (EURL) pour *Lm* coordonne un réseau de laboratoires nationaux de référence (LNR) dont les méthodes de détection et d'énumération des *Lm* dans les échantillons de la chaîne alimentaire et de l'environnement agroalimentaire, et les méthodes de typage moléculaire PFGE ont été harmonisées. Une base de données, sous l'égide de la DG-SANTE de l'Union Européenne et l'European Food Safety Agency (EFSA), est fonctionnelle.

Surveillance microbiologique internationale de la listériose

L'Unité de Biologie des Infections héberge le Centre Collaborateur de l'OMS des *Listeria* (Site web: <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-collaborateurs-l-oms-ccoms/listeriose-d-origine-alimentaire>). Son mandat a été renouvelé le 01 Novembre 2019 par l'OMS pour un mandat se terminant en Novembre 2023.

Dans ce cadre, le CNRL participe à la surveillance internationale de la listériose et de la résistance aux agents antimicrobiens des *Listeria*, à la collecte de données pour l'analyse des risques réalisée par l'OMS et à la formation des personnels qui le contactent (13, 93).

Le CNRL répond aux sollicitations de l'OMS et apporte son expertise en cas de crise sanitaire.

Le CC-OMS peut constituer un appui scientifique et technique pour l'OMS et la FAO en cas d'épidémies ou de cas groupés au niveau international, et émettre des recommandations, avis ou rédiger des documents d'informations.

En 2012, le CC-OMS *Listeria* a constitué un réseau international des Centres et Laboratoires de Référence des *Listeria*

(41 pays membres à ce jour) pour contribuer à la surveillance microbiologique internationale des *Listeria* dont fait partie le CNRL. Cette surveillance internationale existe pour le typage moléculaire PFGE, grâce au réseau Pulsenet (94) et est en cours de remplacement par la nouvelle méthode de typage moléculaire basé sur la génomique: le cgMLST (core genome MLST) développé par le CNRL/CC-OMS.