



Rapport annuel d'activité, année 2022

Laboratoire National de Référence

**Eaux destinées à la consommation humaine, eaux minérales naturelles
et eaux de loisirs - volet biologie**

Nom du responsable du LNR

Thierry CHESNOT

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

Laboratoire d'Hydrologie de Nancy

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

Unité de microbiologie des eaux

Les faits marquants de l'année

En 2022 l'unité de microbiologie des eaux s'est attachée à maintenir et développer ses activités dans le domaine de la référence tout en conduisant en parallèle des activités de surveillance et de recherche.

En matière d'activités de référence, le volet relatif à l'animation du réseau de laboratoires agréés est réalisé en association avec le LNR « Eaux destinées à la consommation humaine, eaux minérales naturelles et eaux de loisirs - volet « chimie ». Les travaux de référence conduits par le laboratoire en 2022 concernent majoritairement les bactéries et les virus qui sont identifiés comme des indicateurs ou des pathogènes dans le cadre de contrôles officiels de la qualité des eaux de consommation, des eaux minérales ou de baignade. Pendant l'année 2022, le LNR a poursuivi son implication dans l'évaluation de méthodes alternatives et notamment celles applicables pour la quantification des *Legionella pneumophila* dans les eaux de réseaux : l'instruction d'une demande de reconnaissance de méthode alternative (Legiolert) à la méthode de référence NF T90-431 a été poursuivie. De la même manière, le laboratoire a débuté l'évaluation de méthodes commerciales intégrant des étapes de concentration et/ou de quantification des coliphages somatiques : il s'agit d'évaluer des méthodes de concentration impliquant une étape de filtration membranaire et l'étape de quantification reposant sur des méthodes dites NPP qui pourraient présenter un intérêt notamment pour les eaux superficielles utilisées en tant que ressources pour la production d'eau potable ; ces méthodes sont susceptibles de compléter la norme de référence NF EN ISO 10705-2. Le LNR a également développé des outils de RT-ddPCR adaptés à la détection des entérovirus dans les eaux de consommation, qui répondent à l'étape de dépistage des eaux potentiellement contaminées qui est décrite dans la norme NF T90-451. En ce qui concerne les eaux embouteillées, des travaux ont été initiés afin d'évaluer l'impact de la gazéification sur la flore bactérienne présente dans différentes eaux gazéifiées (CO₂). Par ailleurs, le LNR poursuit sa participation dans les travaux normatifs notamment en ce qui concerne les travaux de révision de la norme ISO 9308-1, qui se focalisent sur la détection des bactéries coliformes et des *Escherichia coli* et les travaux de révision de la norme NF EN 26 461-2 concernant la quantification des spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices.

En 2022, les activités de référence du laboratoire ont également consisté en l'animation du réseau Biotox-Eau et en la participation au réseau Piratox-Biotox. Dans ce cadre, le LNR conduit des travaux méthodologiques sur le paramètre microtox (NF EN ISO 11 348) afin de progresser sur l'identification de potentiels biais analytiques.

En parallèle, à l'échelle de l'Anses, le laboratoire a continué d'exercer des missions transversales, en particulier au travers du pilotage de la plateforme MALDI-TOF utilisée comme un outil majeur d'identification de bactéries isolées et transmises par les autres laboratoires au travers de leurs activités de référence, de surveillance ou de recherche.

Abréviations

AFNOR : Agence française de normalisation

AGLAE : Association générale des laboratoires d'analyses de l'environnement

AQUAREF : Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques

ARS : Agence Régionale de Santé

ASAP : Accélération et simplification de l'action publique

ASLAE : Association des directeurs et cadres des Laboratoires publics Agréés pour les analyses d'Eau

ALCESE : Association des Laboratoires de Contrôles et d'Expertise en Santé et Environnement

APROLAB : Association Professionnelle des Sociétés Françaises de Contrôle en Laboratoire

BIPEA : Bureau interprofessionnel d'études analytiques

BLSE : Bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

CNPE : Centre nucléaire de production d'électricité

COFRAC : Comité Français d'accréditation

ECS : Eau chaude sanitaire
DG ENV : Direction Générale Environnement de la CE
EDCH : Eaux destinées à la consommation humaine
LERES : Laboratoire d'études et de recherche en environnement et santé
LHN : Laboratoire d'hydrologie de Nancy
MALDI-TOF : Matrix assisted laser desorption ionization - time of flight
NPP : Nombre le plus probable
RT-PCR : Réaction de polymérisation en chaîne avec transcriptase inverse
RT-ddPCR : Réaction numérique en gouttelettes de polymérisation en chaîne avec transcriptase inverse.
SARS-CoV-2 : Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère
TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Pas de développement méthodologique

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

0 méthode(s)

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

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

11 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Le LNR ne met en œuvre ces analyses que de manière exceptionnelle car ces dernières sont principalement réalisées par les laboratoires agréés. En 2022 des sollicitations ponctuelles provenant des ARS ou de laboratoires ont conduit à l'analyse de 10 échantillons pour *Legionella* ECS, 2 échantillons biotox sur EDCH. Cette activité apparaît comme stable par rapport aux cinq dernières années.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le LNR n'a pas été sollicité en 2022. Au cours de ces dernières années, ce type de sollicitation reste en effet très ponctuel.

3.3 Autres analyses

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

462 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- Analyses par méthodes conventionnelles sur échantillons hydriques dans le cadre de projets de recherche (bactéries coliformes, entérocoques intestinaux, bactéries anaérobies sulfito-réductrices ainsi que flore aérobie revivifiable, *Pseudomonas aeruginosa* et staphylocoques pathogènes) : 349 échantillons.

- Analyses par méthodes alternatives sur échantillons hydriques (bactéries coliformes, entérocoques intestinaux, *Pseudomonas aeruginosa*) : 78 échantillons.

- Analyses par biologie moléculaire (RT-PCR et PCR) sur échantillons hydriques dans le cadre de projets de recherche (indicateurs de contamination fécale, virus entériques) : 8 échantillons RT-PCR ciblant les bactériophages et 27 échantillons en RT-PCR entérovirus.

- Les analyses par méthodes conventionnelles ont été essentiellement réalisées en lien avec les demandes d'appuis scientifiques et techniques actuellement en cours. Les dénombrements utilisant les méthodes alternatives ont été conduits dans un contexte de comparaison et d'acquisition de retours d'expérience pour ces nouvelles méthodes dont certaines font l'objet de projets de normalisation. Ces retours d'expérience sont utiles au LNR dans le cadre des échanges techniques auxquels il participe régulièrement (normalisation, journées techniques).

- Le nombre d'analyses a été réduit pendant l'année 2022 par rapport aux années précédentes, du fait d'une réorientation des agents d'intérêt ciblés par les méthodes d'amplification génique.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Le LNR a participé à 9 EILA nationaux répartis sur 4 programmes organisés par deux organisateurs de comparaison interlaboratoires (AGLAE et BIPEA).

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de réactifs produits et fournis (antigènes, kits, autres)

Des oligonucléotides de types amorces et sondes spécifiques des systèmes d'amplification utilisés dans le cadre des programmes d'analyses Biotox sont mis à disposition des laboratoires du réseau Biotox qui disposent de locaux répondant aux exigences de sécurité biologique de niveau 3. Au total, les oligonucléotides fournis permettent d'assurer l'amplification de 10 cibles distinctes. Avant transfert de ces oligonucléotides vers les laboratoires concernés du réseau, le LHN réalise une vérification des performances (limite de détection, limite de quantification) des systèmes d'amplification avec chaque nouveau lot de nucléotides.

Nombre de lots produits dans l'année

Un lot de réactif par système d'amplification est produit et mis à disposition de manière périodique sur une base de 2 à 3 ans et en fonction des sollicitations des laboratoires. Il n'a pas été nécessaire de produire de réactifs au cours de l'année 2022.

Nombre d'unités distribuées au plan national

Pour chacun des 10 systèmes d'amplification, une unité d'amorce sens, une unité d'amorce anti-sens et une unité de sonde sont périodiquement fournies à 3 laboratoires. Au regard de cette périodicité, il n'a pas été distribué de réactifs au cours de l'année 2022.

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Les quantités fournies aux laboratoires du réseau sont stables sur les 5 dernières années.

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique**5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR****Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année**

1 demande(s)

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

1 rapport(s)

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

Appui technique au profit de l'unité évaluation des risques liés à l'eau de la Direction d'évaluation des risques de l'Anses, concernant une « Demande d'évaluation de l'impact d'une micro-filtration, avec un seuil de coupure inférieur à 0,8 µm, sur le microbisme naturel d'une eau minérale naturelle ou eau de source (saisine 2022-SA-0224). »

5.2 Autres expertises**Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor ...).**

Le LNR participe à des groupes de normalisation, à savoir le CEN/TC 426 (appareils domestiques de traitement de l'eau non connectés au réseau d'alimentation en eau), les commissions de normalisation AFNOR T90D (microbiologie des eaux), T95F (écotoxicologie aquatique), U47E (santé animale). Des membres de l'équipe du LNR assurent le pilotage de groupes d'experts visant à rédiger des projets de normes, en particulier dans le cadre des commissions suivantes:

- T95F concernant les méthodes de comptage des cyanobactéries pour la surveillance des eaux de baignade et la production d'eau potable (projet XP T90-330) ;

- U47E sur l'élaboration de lignes directrices quant à l'utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF dans l'identification de micro-organismes.

Le LNR participe au groupe d'experts européens en microbiologie (EMEG) de la DG ENV, expertisant les dossiers d'évaluation des méthodes alternatives des Etats membres dans les eaux de consommation et les eaux de baignade. Cette évaluation s'appuie sur la norme ISO 17 994. Le LNR participe également à des groupes d'experts nationaux (LEGIODOM) en lien avec la mise en place d'études visant à mieux caractériser l'impact des contaminations au domicile, dans le cadre de la surveillance des cas de légionellose.

Le temps qui a été consacré en 2022 à la participation à ces différentes instances de normalisation, groupes d'expertise et au pilotage de groupes d'experts correspond à 30 jours.

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

3 dossier(s) ont fait l'objet d'une demande d'appui technique de la part de la cellule agrément.

Détail de ces activités et estimation du temps consacré

Dans le cadre de l'application de la loi Accélération et simplification de l'action publique (ASAP), l'Anses est chargée depuis le 1er mars 2021 de la délivrance des agréments des laboratoires pour le contrôle sanitaire des eaux. La cellule agréments créée au LHN peut solliciter ponctuellement le LNR lors de la vérification des dossiers d'agrément pour des besoins techniques (essais inter-laboratoires non conformes, méthodes d'analyse mises en œuvre...). En 2022, ces 3 sollicitations ont concerné des expertises techniques « cyanobactéries » dans le cadre de demandes d'agrément de laboratoire.

Le temps consacré à ces expertises d'agrément est de l'ordre de 2 jours.

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Les activités d'appui s'effectuent dans le cadre de sollicitations du bureau de l'eau EA4 de la DGS, d'Agence Régionale de Santé, de laboratoires d'analyses agréés. Ces sollicitations peuvent être en lien avec des problématiques d'ordre sanitaire, des problématiques d'ordre méthodologiques ou des questions sur de nouveaux paramètres microbiologiques. Les sollicitations sont adressées au responsable de l'unité et/ou son adjoint au travers d'appels téléphoniques ou de mails. Au cours de l'année 2022, le LNR a reçu 18 sollicitations très majoritairement par courrier électronique. Ces sollicitations sont susceptibles de concerner des demandes en lien avec les trois matrices qui composent le domaine de référence du laboratoire (EDCH, eaux minérales et embouteillées, et eaux de loisirs). Pour chacune de ces matrices les demandes peuvent concerner des thématiques en lien avec des parasites, des bactéries ou des virus à transmission hydrique. A titre d'exemple en 2022 le LNR a été sollicité pour :

- un appui technique à l'ARS Aquitaine pour la mise en place d'analyses visant à quantifier les concentrations en *Naegleria thermotolérantes* dont *N. fowleri* dans des eaux de baignade potentiellement impactées par des effluents de CNPE.

- un appui technique au profit d'ARS et de laboratoires agréés concernant la mise en place pendant la saison balnéaire 2022 d'une stratégie analytique et l'exploitation des résultats associés, dans le cadre d'études exploratoires concernant des baignades d'eau de mer en Normandie et en Aquitaine. Cet appui technique visait à définir l'origine d'une contamination atypique consistant en de fortes concentrations en entérocoques intestinaux associées à une faible présence ou une absence d'*E. coli*.

- un appui technique à la Direction de l'évaluation des risques de l'Anses, afin de conduire une analyse critique d'une méthode d'analyse basée sur un principe FISH, proposée dans le cadre d'une étude d'exposition dans l'objectif de quantifier *Ostreopsis ovata*.

Le temps qui a été consacré à ces expertises est de l'ordre de 30 jours.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

125 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILA

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Oui

Nombre d'EILA organisés par un tiers dont les résultats ont été exploités par le LNR au cours de l'année

2 EILA

Nom de l'EILA organisé par un tiers

1 circuits EILA organisé par AGLAE, concernant différents paramètres et matrices sont exploités par le LNR. Il s'agit d'un circuit qui propose des EIL sur Eaux propres, eaux superficielles, eaux de baignades, eaux salines et eaux chaudes sanitaires. Les différents programmes d'EIL de ce circuit concernent les bactéries coliformes dont *E. coli*, les Entérocoques intestinaux, les bactéries aérobies revivifiables, les *Pseudomonas aeruginosa*, les staphylocoques et les bactéries anaérobies sulfito-réductrices, les *Legionella* (programmes 11, 30, 31, 32).

Nom de l'organisateur

AGLAE

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

Oui

Nombre de laboratoires agréés participants

91 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

8 laboratoire(s) en demande d'agrément

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

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Maintien du nombre de laboratoires agréés et des performances dans le temps ces dernières années.

Nom de l'EILA organisé par un tiers

1 circuit EILA organisé par le BIPEA, concernant différents paramètres et matrices sont exploités par le LNR. Il s'agit d'un circuit qui propose des EIs sur Eaux de distribution, eaux de puits, eaux de forage, eaux récréatives, eaux superficielles et eaux chaudes sanitaires. Les différents programmes d'EIL de ce circuit concernent les bactéries coliformes dont *E. coli*, les Entérocoques intestinaux, les bactéries aérobies revivifiables, les *Pseudomonas aeruginosa*, les staphylocoques et les bactéries anaérobies sulfito-réductrices, les *Legionella* (programmes 11, 30, 31, 32). Programmes 35 et 50 de BIPEA

Nom de l'organisateur

BIPEA

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

Oui

Nombre de laboratoires agréés participants

53 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

8 laboratoire(s) en demande d'agrément

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

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Maintien du nombre de laboratoires agréés et des performances dans le temps ces dernières années.

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires**Actions mises en œuvre**

Le LNR peut être amené à réaliser sur demande des ARS ou de la DGS des analyses de levées de doute.

(**) au sens de la norme 17043

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

1 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

1 journée d'échange multi-acteurs avec une trentaine de participants : le LHN organise avec le Bureau de la qualité des eaux de la DGS une journée annuelle de rencontre des acteurs du contrôle sanitaire des eaux. Cette manifestation regroupe les principaux acteurs dans le domaine de l'analyse de l'eau : DGS – Bureau de la qualité des eaux, COFRAC, AFNOR, représentants des associations de laboratoires (ASLAE, ALCESE, APROLAB), organisateurs d'EILA (AGLAE, BIPEA) et AQUAREF.

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

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Oui

Cadre de ces activités

Biotox - Eaux ; Biotox - Piratox

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de "Biotox - Eaux"

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

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de "Biotox - Piratox"

Réalisation d'analyses de première intention

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

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

Acronyme	Titre	Statut
Thèse	Circulation et comportement des <i>E. coli</i> producteurs de Shiga toxines dans des eaux naturelles (eaux de surface et eaux de nappes) utilisées pour produire de l'eau de consommation ainsi que dans les eaux traitées	terminé
CARAVANE	Etude des bactéries <i>E. coli</i> BLSE dans les eaux d'un bassin versant	terminé
LEGIODOM	Etude de l'impact de l'exposition au domicile dans la survenue de légionellose	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du CNR

Tous les CNR des agents MOT et agents impliqués dans les TIAC d'origine hydrique

Organisme porteur du CNR

Tous les CNR des agents MOT et agents impliqués dans les TIAC d'origine hydrique

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Projet LEGIODOM : Etude visant à évaluer l'impact des contaminations au domicile. Participation à la structuration du projet. Ce projet s'inscrit également dans le cadre du 4ème Plan National Santé Environnement (PNSE4) et notamment l'action 12 visant à mieux comprendre et prévenir les cas de légionellose.

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Sans objet

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Sans objet

Transfert de matériel biologique

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international
Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences
Aucun