



Rapport annuel d'activité, année 2023

Laboratoire National de Référence

**Surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de
station d'épuration**

Nom du responsable du LNR

Benoit GASSILLOUD

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

Microbiologie des eaux

Les faits marquants de l'année

Les activités déployées par le LNR dans le domaine de la référence s'inscrivent dans un contexte d'épidémiologie qui vise à suivre la progression du SARS-CoV-2 au sein de la population française via la mesure de la présence de particules virales dans les échantillons d'eaux usées collectées en entrée des stations d'épuration. A terme, la surveillance de ce pathogène sera assurée par les laboratoires du réseau SUM'eau piloté par la DGS et SpF au niveau de 126 stations d'épuration réparties sur l'ensemble du territoire. Dans le cadre de ce dispositif SUM'eau, le LNR s'est impliqué en 2023 dans différentes activités qui ont concerné :

- La poursuite de la surveillance du SARS CoV-2 dans les eaux usées de 12 stations d'épuration d'agglomérations de plus de 150 000 équivalent habitants représentatives du territoire national. Les résultats obtenus par le LNR ont été restitués toutes les semaines à SpF qui les a exploités et comparés aux données épidémiologiques. Depuis Juin 2023, ces données sont rendues publiques.
- La participation à la sélection sur les aspects techniques des laboratoires ayant répondu à l'appel d'offre de la DGS pour constituer le réseau SUM'eau. Ce travail s'est poursuivi par l'analyse par le LNR et les laboratoires sélectionnés d'échantillons d'eaux usées collectés au niveau des mêmes stations.
- L'organisation d'un second essai interlaboratoires sur la détection et la quantification du SARS-CoV-2 dans des échantillons d'eaux usées.
- La mise en place de l'aquathèque du réseau SUM'eau qui vise en la conservation des échantillons d'eaux usées collectés au niveau des stations et des extraits génomiques produits.

L'animation du réseau d'acteurs compétents dont les laboratoires du réseau SUM'EAU a été réalisée en association avec le LNR notamment en s'appuyant sur le site du Réseau Microbiologie des Matrices résiduelles urbaines et santé, utilisé notamment pour diffuser tout au long de l'année, des lettres d'information. En termes de référence, un appui constant a été apporté à la DGS dans le cadre de la mise en place des activités d'épidémiologie basées sur les niveaux de contamination des microorganismes dans les eaux usées.

Parallèlement aux activités déployées sur les eaux usées, le LNR s'est impliqué dans une expérimentation organisée par la DGS qui a consisté à tester un dispositif visant en la collecte, la détection et la caractérisation des particules virales de SARS CoV-2 dans les eaux de toilettes d'aéronefs. Cette expérimentation a été opérée au niveau de l'aéroport de Roissy Charles De Gaulle, en partenariat avec différents acteurs du domaine et d'opérateurs en charge de la logistique aéroportuaire. Le LNR a organisé le transport et l'acheminement des échantillons vers les laboratoires en charge des analyses. Il a participé aux analyses et a initié des expérimentations qui ont eu comme objectif principal d'étudier la répartition des particules virales et leur stabilité dans ce type d'échantillon particulier.

En 2023, le LNR a également travaillé sur la détection et la quantification des particules virales génomiques de SARS CoV-2 dans les boues de station d'épuration (Projet BUSCA). Plusieurs procédures ont été testées sur des boues biologiques. Une étude de répartition des particules virales au sein de cette matrice est en cours.

Au niveau des activités de recherche, le laboratoire a finalisé le travail initié sur le SARS CoV-2 dans le projet de recherche EJP COVRIN et plus particulièrement sur des aspects de survie et de comportement du virus dans les milieux hydriques. Il poursuit les activités d'évaluation des outils de séquençage *Long read* sur ce virus en lien avec l'IPMC et SpF. Enfin il participe au nouveau projet Européen EU-WISH qui a débuté fin 2023 avec 26 Etats membre de l'UE et qui consiste à partager l'expérience acquise sur ce virus dans ce domaine mais aussi sur de nombreux autres pathogènes ainsi que dans les domaines de l'antibiorésistance et du séquençage. Le LNR sera chargé de l'animation de différentes tâches.

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

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

ANRS MIE : Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites virales, Maladies Emergentes Infectieuses

BIPEA : Bureau interprofessionnel d'études analytiques

BUSCA : Boues Urbaines et surveillance du SARS-CoV-2 – Analyse de la persistance du génome et du caractère infectieux

CCTP : Cahier des Clauses Techniques Particulières

COFRAC : Comité Français d'accréditation

DGS : Direction Générale de la Santé

dRT PCRq : digital Retro-Transcription, Polymerase-Chain-Reaction

EDCH : Eaux destinées à la consommation humaine

JRC : Centre Communautaire de Recherches de la Commission européenne

LERES : Laboratoire d'études et de recherche en environnement et santé

LHN : Laboratoire d'hydrologie de Nancy de l'Anses

MOT : Micro-organisme et toxines

PV : Poliovirus

RT-PCR : Retro-Transcription, Polymerase-Chain-Reaction

SARS-CoV-2 : Syndrome respiratoire aigu sévère dû au coronavirus 2

SERAC : Surveillance des eaux résiduaires appliquée au coronavirus

SERCO : Surveillance des eaux résiduaires

SpF : Santé publique France

SUM'eau : Surveillance microbiologique des eaux usées

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Pas de développement de méthode dans le mandat du LNR

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

1152 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Ces analyses concernent essentiellement la recherche par biologie moléculaire et le suivi de la circulation du SARS-CoV-2 dans les échantillons d'eaux usées de 12 stations d'épuration d'agglomérations de plus de 150 000 équivalent habitant, représentatives du territoire national et la mesure de l'azote total via l'emploi de tests physico-chimiques pour la normalisation des résultats. Le LNR a restitué les résultats à France SpF qui les traite et les compare aux données épidémiologiques.

En terme de tendance et rapportée mensuellement, l'activité est stable par rapport à l'année 2022.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

0 analyse(s)

3.3 Autres analyses

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

2388 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- Aquathèque SUM'EAU : analyses pour la conservation d'extraits génomiques en plusieurs exemplaires produits sur les 12 stations pilote analysées de manière hebdomadaire
- AST SERAV : expérimentation réalisée sur des aéronefs en provenant de l'étranger visant à détecter le virus SARS CoV-2 dans les eaux de toilette.

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 2 EILA organisés par LGC Standard (RU) et IELAB (Espagne) sur des échantillons d'eaux usées dopés par du SARS CoV-2.

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

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

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

Non

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

Non

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

Non

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

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

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

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

Des membres de l'équipe du LNR assurent le pilotage ou participent à des groupes d'experts en normalisation :

- Commission Afnor T90D - GT sur la détection et la quantification du SARS-CoV-2 dans les eaux usées
- Groupe d'experts ISO/TC 147/SC 4/WG 26 SARS-CoV-2 in wastewater (projet de norme européenne et internationale EN ISO 7014 : Water quality - Detection of SARS-CoV-2 and other viruses in wastewater).

Le LNR suit les travaux déployés par le JRC.

Le LNR participe et suit les travaux déployés au niveau de l'ANRS MIE qui visent à définir une stratégie commune de recherche des PV dans l'environnement sur le territoire national, en réponse à un risque accru de résurgence et conformément aux attentes des directives de surveillance internationales.

Le temps consacré à la participation à ces différentes instances de normalisation, groupe d'expertise et au pilotage de groupes d'experts correspond à un équivalent temps plein de 30 jours.

5.3 Dossiers de demande d'agrément

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

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

-Le LNR participe au réseau SUM'eau mis en place par les ministères en charge de la santé et de l'écologie. Dans ce cadre, afin d'apporter un éclairage technique, le LNR participe aux réunions hebdomadaires de pilotage animées par les tutelles et auxquelles participe également Santé publique France. Au sein du réseau SUM'eau, le LNR anime le sous-groupe d'experts « Protocole analytique SARS-CoV-2 dans les eaux usées » qui a pour objectif d'identifier et de proposer des axes d'amélioration méthodologiques sur cette thématique. D'une manière générale, les activités d'appui s'effectuent dans le cadre de sollicitations du bureau du bureau VSS1 de la DGS, de Santé publique France, voire de laboratoires d'analyse. Ces sollicitations sont en lien avec des problématiques d'ordre méthodologique.

- Le LNR a contribué à l'analyse des offres techniques reçues dans le cadre de l'Appel d'offre SUMEAU publié par la DGS

Le LNR participe en appui de SpF et de la DGS aux sollicitations de l'ARS de Mayotte (SERMA) sur la mise en place d'un suivi spécifique du PV et *Vibrio cholerae* dans les eaux usées afin de suivre une éventuelle émergence de ces deux pathogènes dans la population.

-Le LNR a été impliqué dans une expérimentation organisée par la DGS qui a consisté à tester un dispositif visant en la collecte, la détection et la caractérisation des particules virales de SARS CoV-2 dans les eaux de toilettes d'aéronefs.

-Le LNR a été impliqué dans le cadre d'une recherche de Poliovirus (PV) dans les eaux usées en sortie de centre hospitalier et en entrée d'une agglomération du sud de la France, suite à la détection d'un patient hospitalisé contaminé par une souche révertante de Poliovirus Sabin. Dans ce cadre le LNR a employé des outils de dRT-PCR qui ont été déployés pour cette étude.

Le temps consacré à la participation à ces différentes activités correspond à un équivalent temps plein de 3 mois.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nom du réseau et/ou description de l'activité du réseau

Laboratoires du réseau SUM'eau désignés par la DGS

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

4 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

1 EILA

Nom de l'EILA

Détection et quantification du génome de SARS CoV-2 dans les eaux usées.

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

Non

Nombre de laboratoires participants

12 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

0 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoires) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

11 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

9 laboratoires français et 3 laboratoires européens

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

1 laboratoire(s)

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

Sans objet (1^{er} EILA pour ce réseau)

**6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers
Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)**

Non

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

Comparaison de résultats obtenus par le LNR et les laboratoires du réseau SUM'eau sur les mêmes échantillons collectés au niveau de stations d'épuration.

6.4 Formation, organisation d'ateliers**Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année**

1,5 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

- 1/2 journée(s) de restitution concernant l'EIL de validation organisé par le laboratoire : Journée d'animation SARS-CoV-2 et eaux résiduaires du 30 mars 2023
- Journée multi-acteurs du 05 juillet, 50 participants. Le LHN, avec ses trois mandats de LNR dans le domaine des analyses d'eaux, organise avec le Bureau de la qualité des eaux de la DGS une journée de rencontre pour partager les principales informations scientifiques et réglementaires du domaine. Cette manifestation regroupe chaque année les principaux acteurs dans le domaine de l'analyse de l'eau : COFRAC, AFNOR, représentants des associations de laboratoires (ASLAE, ALCESE, APROLAB), organisateurs de circuits interlaboratoires (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

(**) Au sens de la norme 17043

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 ; Appui scientifique et technique (analyses de données, etc...)

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

Animation/coordination

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
COVRIN OH EJP project	SARS-COV-2 : emergence, risk assessment and preparedness	terminé
EU4H-2023-JA-IBA	EU Wastewater Integrated Surveillance for Public Health - EU-WISH	en cours
SARS-Cov-2 AERM	Détection et comportement du SARS CoV-2 dans les eaux de surface	en cours

9. Relations avec le CNR

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

Oui

Intitulé du CNR

CNR Virus des infections respiratoires (dont la grippe)

Organisme porteur du CNR

Institut Pasteur

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Mise en place d'un matériau de référence destiné aux laboratoires du futur réseau SUM'eau pour la quantification génomique par biologie moléculaire du SARS-CoV-2

Fourniture de matériel biologique

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

Oui

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

ANNEXES

Liste des publications et communications 2023 dans le cadre du mandat de LNR Surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de station d'épuration

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

Publications scientifiques nationales et internationales

Atoui, A., C. Cordevant, T. Chesnot et B. Gassilloud. 2023. "SARS-CoV-2 in the environment: Contamination routes, detection methods, persistence and removal in wastewater treatment plants." *Science of The Total Environment* 881: 163453. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163453>.

Atoui, A., F. Jourdain, D. Mouly, C. Cordevant, T. Chesnot et B. Gassilloud. 2023. "A review on mpox (monkeypox) virus shedding in wastewater and its persistence evaluation in environmental samples." *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 7: 100315. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100315>.

Communications nationales

Atoui, A., A. Wilhelm, L. Couturier et B. Gassilloud. 2023. "Evaluation of technical artifact during viral decay study: an application of SARS-CoV-2." 10th European Meeting on Viral Zoonoses, St Raphaël (France), 23-26 September 2023.

Gassilloud, B. et F. Jourdain. 2023. "Ce que les eaux usées disent de nous." 24es Journées Nationales d'Infectiologie, Grenoble, 7 au 9 juin 2023.

Roman, V., A. Wilhelm, T. Chesnot et B. Gassilloud. 2023. "Wastewater surveillance for COVID 19: Variability in SARS CoV 2 genome quantification affected by RNA extraction method and the time course of its stability." 10th European Meeting on Viral Zoonoses, St Raphaël (France), 23-26 September 2023.

Chesnot, T. 2023. "Restitution EIL-SARS-SCV-01 : « Essai inter-laboratoires de validation concernant la quantification de génome du SARS-COV-2 par biologie moléculaire (RT-PCR) dans des eaux résiduaires brutes". Journée d'animation SARS-CoV-2 et eaux résiduaires, Nancy, France, 30 mars 2023.

Communications internationales (‘conference proceedings ou ‘conference paper’)

Atoui, A. 2023. "Inter-comparison strategy to evaluate SARS-CoV-2 methodologies used for the detection and quantification in wastewater." Oral IAFP'S European Symposium on Food Safety, Aberdeen (Scotland), 3-5 May 2023.