



Rapport annuel d'activité, année 2022

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

Benoît 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

En 2022 l'unité de microbiologie des eaux s'est attachée à maintenir et développer ses activités sur le SARS-CoV-2 dans le domaine de la référence tout en conduisant en parallèle des activités de surveillance et de recherche. Les activités déployées par le LNR dans le domaine de la référence s'inscrivent dans un contexte de suivi de la circulation du SARS-CoV-2 dans les eaux usées, en vue de suivre la circulation de ce virus au sein de la population. A terme, la surveillance de ce pathogène sera assurée par des laboratoires compétents et sélectionnés via un appel d'offre, qui participeront au dispositif SUM'eau piloté par la DGS et Santé publique France. Ce travail se fait en cohérence avec la recommandation européenne visant à coordonner la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées. Dans le cadre de ce dispositif SUM'eau, le LNR s'est impliqué en 2022 dans différentes activités qui ont concerné :

- La mise en place d'une étude d'évaluation comparative de différentes méthodes de détection et de quantification du SARS-CoV-2 dans les eaux usées (projet SERAC).
- L'organisation d'un essai interlaboratoires de validation de méthode qui s'est focalisé sur la détection et la quantification du SARS-CoV-2 par biologie moléculaire dans des échantillons d'eaux usées collectés au niveau de stations d'épuration.
- La participation aux travaux de normalisation pris en charge par l'AFNOR Commission T90D sur cette thématique spécifique.
- La participation à la rédaction du Cahier des Clauses Techniques Particulières (CTTP) SUM'eau, qui permettra de sélectionner les futurs laboratoires qui seront impliqués dans ce réseau mi 2023.

Dans le domaine de la surveillance et dans l'attente de la mise en place du réseau de laboratoires SUM'eau mi 2023, le LNR a pris en charge, en 2022, la surveillance du SARS-CoV-2 au niveau de 12 stations d'épuration d'agglomérations représentatives du territoire national de plus de 150 000 équivalent habitants. Les résultats sont restitués à Santé publique France qui les traite et les compare à des données épidémiologiques.

Parallèlement aux activités déployées sur les eaux usées, le LNR a initié un travail sur la détection et la quantification des particules virales génomiques dans les boues de stations d'épuration (Projet BUSCA). Plusieurs procédures ont été recensées fin 2022 et seront testées en 2023 sur différents échantillons qui seront collectés au niveau des stations. Ce travail devrait conduire à proposer un protocole de détection sur les boues activées, pour suivre la circulation du SARS-CoV-2 dans cette matrice, notamment lorsque la concentration diminue dans les eaux usées et passe en dessous de la limite de détection de la méthode la plus sensible à disposition au laboratoire.

Enfin au niveau des activités de recherche, le laboratoire a poursuivi son implication dans le projet de recherche EJP COVRIN et plus particulièrement sur des aspects de survie et de comportement du virus dans les milieux hydriques. Le LNR a acquis dans ce cadre différents résultats qu'il valorisera en 2023. Le LNR est également impliqué dans une évaluation de la capacité de la méthode de séquençage « long read Nanopore » à pouvoir séquencer les génomes de virus de SARS-CoV-2 isolés d'échantillons d'eaux usées. Ce travail, piloté par Santé publique France, fait intervenir une unité CNRS de l'Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire (UMR7275 CNRS/UNS) de Nice, qui a acquis une solide expérience dans ce domaine. Le LHN envoie des extraits génomique d'eaux usées en vue de tests de comparaison.

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

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 (CTTP)

COFRAC : Comité Français d'accréditation

EDCH : Eaux destinées à la consommation humaine

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

LHN : Laboratoire d'hydrologie de Nancy

RT-PCR : Réaction de polymérisation en chaîne avec transcriptase inverse

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

SERAC : Surveillance des eaux résiduaires appliquée au coronavirus

SERCO : Surveillance des eaux résiduaires

SUM'eau : Surveillance microbiologique des eaux usées

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

250 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Ces analyses concernent essentiellement la recherche 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. Les résultats sont restitués à Santé publique France qui les traite et les compare aux données épidémiologiques.

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

393 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le LNR a organisé une étude d'évaluation comparative de différentes méthodes de détection et quantifications du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées (étude SERAC). L'objectif était de comparer trois grands principes analytiques représentatifs de l'ensemble des processus employés par les laboratoires impliqués dans ce domaine particulier. L'étude a permis de comparer les résultats de 10 laboratoires (dont ceux du LNR) sur les mêmes eaux usées collectées au niveau de 12 stations d'épuration pendant 11 semaines consécutives et ceci de manière à tester chaque principe sur une évolution dynamique au cours du temps de la concentration en SARS-CoV-2 dans les échantillons. Au cours de cette étude le LNR a déployé 3 processus analytiques distincts.

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

Sans objet

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 d'une part dans le cadre de la Commission Afnor T90D (groupe sur la détection et la quantification du SARS-CoV-2 dans les eaux usées) et d'autre part dans le cadre du groupe d'experts ISO/TC147/ SC4/WG26 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).

Par ailleurs le LNR a participé à la deuxième partie de l'expertise collective d'urgence Anses « Monkeypox (MPX) » portant sur « des recommandations relatives à la réduction du risque de diffusion du virus Monkeypox aux animaux en France ». Le laboratoire a participé à plusieurs réunions sur le sujet et a contribué à une analyse bibliographique en lien avec la circulation de ce virus dans les eaux usées.

De même le laboratoire a participé aux travaux de l'ANRS MIE qui visent à définir une stratégie commune de recherche des poliovirus (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. Proposition d'un plan d'action national 2022 pour la surveillance de résurgence du poliovirus type 2 associé au vaccin (VDPV2).

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. Dans ce cadre, un appui technique sur l'élaboration des lignes directrices du CCTP SUM'eau a été réalisé de sorte à définir certains aspects techniques et méthodologiques relatifs aux prélèvements, aux méthodes d'analyse et à l'expression des résultats.

D'une manière générale, les activités d'appui s'effectuent dans le cadre de sollicitations du bureau de l'eau EA4 ou 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 temps consacré à la participation à ces différentes activités correspond à un équivalent temps plein de 25 jours.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Non

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...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Sans objet

6.4 Formation, organisation d'ateliers

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

0 journée(s)

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

1 EILV

Nom de l'EILV et détail du nombre de laboratoires ayant participé pour chaque EILV

Le LNR a organisé un essai interlaboratoires de validation de méthode avec 30 laboratoires participants. Cet essai s'est focalisé sur la détection et la quantification du SARS-CoV-2 par biologie moléculaire dans des échantillons d'eaux usées collectés au niveau de stations d'épuration. Tous les laboratoires ont réceptionné deux échantillons d'eaux usées distincts et un échantillon contenant une séquence génomique cible à quantifier. Le LNR finalise l'exploitation des données.

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

Non

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
SARS-CoV-2 WATER (WHO R&D Blueprint)	Viral persistence under different environmental conditions including packing and shipment modalities for food	terminé
COVRIN OH EJP project	SARS-COV-2 : emergence, risk assessment and preparedness	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 des virus à transmission respiratoire (dont la grippe)

Organisme porteur du CNR

- Institut Pasteur, Paris
- Laboratoires associés : CHU Lyon, Institut Pasteur de Guyane

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

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

ANNEXES

Liste des publications et communications 2022 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.

Communications nationales

Gassilloud, B. et F. Jourdain. 2022. "Surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées : Mise en œuvre du dispositif SUM'EAU." Rencontres de Santé Publique France, Paris, France, 16 au 17 juin 2022.

Gassilloud, B. et P. Le Hong. 2022. "Etat des lieux et perspectives du Covid19 dans les eaux usées Session One-Health." Rencontres Nationales de Santé Publique Vétérinaire, Bourges, France, 13 au 14 octobre 2022.

Roman, V., A. Wilhelm, A. Manele, J. S. Py, A. Atoui, T. Chesnot et B. Gassilloud. 2022. "Surveillance de la COVID-19 dans les eaux usées. Estimation de la variabilité de mesure dans la quantification du génome de SARS-CoV-2." 17ème congrès national de la Société Française de Microbiologie, Montpellier, France, 3 au 5 octobre 2022.

Atoui, A., T. Chesnot et B. Gassilloud. 2022. "A national survey for the evaluation of the French laboratories capacity to detect SARS-CoV-2 in wastewater." Poster 17ème congrès national de la Société Française de Microbiologie, Montpellier, France, 3 au 5 octobre 2022.