



## Rapport annuel d'activité, année 2021

### Laboratoire National de Référence

### Eaux destinées à la consommation humaine, eaux minérales naturelles et eaux de loisirs - 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

**Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Sans objet

**Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Sans objet

## Les faits marquants de l'année

En 2021 l'unité de microbiologie des eaux a poursuivi ses activités sur différents thèmes dans le domaine de la référence, de la surveillance et de la recherche. Concernant les activités de référence, les actions d'animation du réseau de laboratoire agréés et les évaluations sont réalisées en association avec le LNR Eaux destinées à la consommation humaine, eaux minérales naturelles et eaux de loisirs - chimie.

En matière de référence, le LNR s'est impliqué dans l'évaluation de méthodologies alternatives de détection de bactéries indicatrices inscrites dans le cadre de contrôles officiels de la qualité des eaux de consommation, des eaux minérales ou de baignade. Ces évaluations ont concerné essentiellement les entérocoques intestinaux et les légionnelles. Sur ce dernier paramètre plusieurs études initiées fin 2020 ont été poursuivies en collaboration avec le laboratoire d'étude et recherche en environnement et santé de l'EHESP, afin d'évaluer notamment des outils moléculaires de quantification dans les eaux (qPCR) ainsi que des outils d'identification des isolats (MALDI-TOF) obtenus à partir des méthodes de culture basés sur les milieux gélosés usuels (BCYE, GVPC décrits dans la norme NF T90-431). Le LNR participe aux travaux de révision de la norme ISO 9308-1 qui se focalise sur la détection des bactéries coliformes et des *E. coli*, en lien notamment avec les résultats préalablement obtenus par le laboratoire dans le cadre d'une saisine spécifique à ce sujet. D'autres travaux de normalisation sont également en cours et ont impliqué la réalisation d'essais tels que ceux portant sur la quantification des spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices (norme NF EN 26 461-2). En virologie, le LNR s'est intéressé plus particulièrement aux bactériophages. La nouvelle directive européenne-cadre sur l'eau (Directive 2020/2184 du 16/12/2020 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine -EDCH) a introduit la quantification des coliphages somatiques dans les ressources et les eaux de consommation en sortie de production des usines de potabilisation des eaux. Actuellement les méthodes normalisées applicables ne décrivent pas l'étape de concentration dans ces eaux, laquelle s'avère nécessaire pour statuer sur les critères de conformité définis dans la Directive 2020/2184. Au-delà du déploiement de la méthode analytique sur des eaux de surface et des eaux de consommation de réseau public, le LNR a réalisé des essais visant à évaluer différentes solutions techniques relatives à l'étape de concentration. En 2021, les activités de référence du laboratoire ont également consisté en l'animation du réseau Biotox-Eau et en la participation au réseau Piratox-Biotox.

En parallèle, le laboratoire a continué d'exercer des missions transversales à l'échelle de l'Anses, en particulier au travers du pilotage de la plateforme MALDI-TOF.

## 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

ANR : Agence nationale pour la recherche

BIPEA : Bureau interprofessionnel d'études analytiques

BLSE : Bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

COFRAC : Comité Français d'accréditation

CNR : Centre national de référence

ECS : Eau chaude sanitaire  
EDCH : Eaux destinées à la consommation humaine  
EHESP : Ecole des hautes études en santé publique  
LERES : Laboratoire d'études et de recherche en environnement et santé  
LHN : Laboratoire d'hydrologie de Nancy  
LNR : Laboratoire national de référence  
MALDI-TOF : Matrix assisted laser desorption ionization - time of flight  
RT-PCR : Reverse transcriptase - polymerase chain reaction  
SARS-CoV-2 : Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2  
TIAC : Toxi-infection alimentaire collective  
VTEC : Verotoxin producing *Escherichia coli*

## **1. Méthodes développées ou révisées**

**Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre**  
0 méthode(s)

### **Informations complémentaires**

Sans objet

**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 (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)**  
24 analyse(s)

#### **Détail par type d'analyse de première intention**

Différentes analyses ont été réalisées en première intention. Ces analyses sont réalisées dans le cadre de sollicitations ponctuelles provenant des ARS ou de laboratoires. Cette activité apparaît comme stable par rapport aux dernières années et se décompose comme suit : 19 échantillons sur *Legionella* ECS, 4 échantillons biotox sur EDCH, 1 échantillon sur eau minérale naturelle.

### **3.2 Analyses officielles de confirmation**

**Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)**  
1 analyse(s).

#### **Détail par type d'analyse de confirmation**

Le LNR a été sollicité pour une levée de doute concernant la présence d'*Aspergillus niger* dans une eau minérale naturelle gazeuse embouteillée.

### **3.3 Autres analyses**

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

343 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) : 96

- Analyses par méthodes alternatives sur échantillons hydriques (bactéries coliformes, entérocoques intestinaux, *Pseudomonas aeruginosa*, bactéries sulfito-réductrices) : 130

- Analyses par biologie moléculaire (RT-PCR et PCR) sur échantillons hydriques dans le cadre de projets de recherche (indicateurs de contamination fécale, virus entériques) : 92 échantillons PCR VTEC et 25 échantillons de virus entérique.

Le nombre d'analyse est en légère augmentation par rapport à l'année 2020 dont l'activité a été impactée par la crise sanitaire liée au COVID 19. Les analyses par méthodes conventionnelles et par méthodes alternatives ont été essentiellement conduites dans un contexte de comparaison et d'acquisition de retours d'expériences pour ces nouvelles méthodes dont certaines font l'objet de projet de normalisation. Ces retours d'expériences sont utiles au LNR dans le cadre des échanges techniques auxquels il participe régulièrement (normalisation, journées techniques).

### **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**

Participation à 9 EILA nationaux répartis sur 4 programmes organisés par 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**

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, etc...) 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...).**

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 (Ecotoxicologie aquatique), U47E (Santé animale).

Des membres du LNR assurent le pilotage de groupes d'experts visant à rédiger des projets de normes, en particulier dans le cadre :

- de la T90D : groupe sur la détection et la quantification du SARS -CooV-2 dans les eaux usées et notamment sur la partie en lien avec la normalisation des résultats (projet XP T90-804, participation du LNR en amont de la désignation du LNR SARS-Cov-2),
- de la 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).
- de l'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 temps qui a été consacré en 2021 à la participation à ces différentes instances de normalisation, groupes d'expertise et au pilotage de groupes d'experts correspond à 37 jours.

### **5.3 Dossiers de demande d'agrément**

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

5 dossier(s)

#### **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 1<sup>er</sup> 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'analyses mises en œuvre...). 5 sollicitations en 2021 concernant des expertises techniques « cyanobactéries » dans le cadre de demandes d'agrément de laboratoire.

## **5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels**

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 ou de laboratoires. 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.

Ainsi par exemple ci-dessous 5 types de sollicitations représentatives des sollicitations reçues :

- Appui technique au bureau EA4 de la DGS pour la rédaction des aspects techniques contenus dans les textes réglementaires concernant la révision de la directive eaux de baignade (Directive (EU) 2006/7/CE, et la transposition de la directive EDCH (Directive (EU) 2020/2184),
- Accompagnement des laboratoires agréés dans le déploiement de l'instruction eaux de baignade de 2021 (DGS/EA4/EA3/2021/76), concernant les modalités de gestion à mettre en œuvre et les recommandations sanitaires en cas de prolifération de cyanobactéries dans les eaux douces de baignade et de pêche récréative,
- Appui technique (ARS et laboratoires agréés) dans le cadre d'une contamination récurrentes d'une eau minérale embouteillée,
- Appui technique (ARS et laboratoires agréés) concernant la mise en évidence de bactéries potentiellement interférentes pour le dénombrement des entérocoques intestinaux par les méthodes miniaturisées basées sur le Nombre le Plus Probable.
- Appuis techniques aux laboratoires agréés pour la bonne application du référentiel de contrôle sanitaire

Pour l'année 2021, le laboratoire a traité au total 37 sollicitations. En terme de charge de travail pour les agents du LNR, cette activité représente globalement 20 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 circuits EILA concernant différents paramètres et matrices sont exploités par le LNR

**Nom de l'EILA organisé par un tiers**

Circuits Eaux propres et Eaux superficielles

**Nom des organisateurs**

AGLAE et BIPEA

**Les EILA sont-ils réalisés sous accréditation "17043"?**

Non

**Nombre de laboratoires agréés participants**

84 laboratoires inscrits et participants pour AGLAE

54 laboratoires inscrits et participants pour BIPEA

**Le LNR a-t-il participé aux EILA?**

Oui

**Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément**

3 laboratoires ont initié une démarche d'agrément

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

1 laboratoire a présenté des résultats non satisfaisants concernant les EILA de microbiologie.

**Nature des écarts**

Il s'agit majoritairement de mesures anormalement faibles ou élevées au regard des valeurs attendues de manière récurrente sur plusieurs essais consécutifs (Z-score > 3 de façon récurrente).

**Gestion des écarts : actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives**

Suivi des actions correctives dès lors que plusieurs résultats non conformes consécutifs sont obtenus.

**Suivi de décisions sur l'agrément**

En cas de performances non satisfaisantes aux EILA ou de signalement par le COFRAC, les actions suivantes sont engagées :

- mise sous surveillance renforcée
- demandes de preuves d'actions correctives
- visites techniques de vérification sur site si cela est jugé nécessaire

(\*\*) Au sens de la norme 17043

## **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**

Réponses aux questions techniques des laboratoires et aux sollicitations des ARS face à des résultats atypiques.

## **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 35 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

Non

### **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 du réseau ; 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 ; 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)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

1 fiche(s)

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

Acronyme	Titre	Statut
Thèse au laboratoire	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	en cours
CARAVANE	Etude des bactéries <i>E. coli</i> BLSE dans les eaux d'un bassin versant	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

Oui (téléphonique avec le CNR *Legionella*)

### Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Des échanges en lien avec l'utilisation des méthodes d'identification par MALDI-TOF sont intervenus pendant l'année 2021.

### Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Non

**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 2021 dans le cadre du mandat de LNR pour les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH), les eaux minérales naturelles et les eaux de loisirs

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

#### **Publications scientifiques nationales et internationales** ('journal article', classement « RCL »)

Brauge, T., S. Trigueros, A. Briet, S. Debuiche, G. Leleu, B. Gassilloud, A. Wilhelm, J. S. Py et G. Midelet. 2021. "MALDI-TOF Mass Spectrometry Fingerprinting Performance Versus 16S rDNA Sequencing to Identify Bacterial Microflora From Seafood Products and Sea Water Samples." *Frontiers in Marine Science* 8 (341). <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmars.2021.650116>.

#### **Communications nationales** ('conference proceedings ou 'conference paper')

Etienne, S., E. Rion, A. Wilhelm, L. Mathieu et B. Gassilloud. 2021. "Occurrence et dissémination des *E. coli* STEC dans les eaux de surface : exemple de la Moselle et de l'Orne." Microbes 2021, Société Française de Microbiologie, Nantes, 22-24 septembre 2021.

Py, J. S., B. Nagard, V. Rose, L. Couturier, C. Mathieu, B. Gassilloud et M. Denis. 2021. "Capacité du Maldi-Tof à identifier l'origine d'une contamination par campylobacter." Journée d'Informations et d'Echanges sur Campylobacter, LNR & CNR *Campylobacter*, en collaboration avec la Société Française de Microbiologie 12 octobre 2021.

Wilhelm, A., L. Couturier et B. Gassilloud. 2021. "Impact du procédé de dépôt et des produits chimiques employés en spectrométrie de masse MALDI-TOF sur l'inactivation de différents germes tests." (Poster) Microbes 2021, Société Française de Microbiologie, Nantes, 22-24 septembre 2021.

/