

Eaux usées et agents de la menace NRBCe

Résumé La menace terroriste, notamment NRBCe, persiste depuis des décennies et nécessite des programmes nationaux et internationaux pour la détection, l'identification des attaques et la protection des populations. L'épidémiologie des eaux usées, au-delà de la simple analyse des agents dans les eaux usées, est devenue un outil performant de suivi de la santé des populations, comme l'a démontré le réseau français Obépine en utilisant la quantification du génome viral pour suivre la pandémie COVID-19. Cette approche novatrice peut également s'étendre à d'autres agents pathogènes, y compris ceux liés aux risques intentionnels même si leur emploi est réglementé. La surveillance des agents chimiques, des substances explosives et radioactives dans les eaux usées offre des perspectives prometteuses pour renforcer la sécurité nationale, bien que des défis subsistent, tels que l'échantillonnage représentatif et la maîtrise des effets liés à la matrice.

Mots-clés **Épidémiologie des eaux usées, risque intentionnel, terrorisme, santé publique, biosurveillance, NRBCe.**

Abstract **Wastewater and CBRNe agents**

The terrorist threat, particularly CBRNe, has persisted for decades, necessitating national and international programs for the detection, identification of attacks, and the protection of populations. Wastewater-based epidemiology, beyond the simple analysis of agents in wastewater, has become an effective tool for monitoring the health of populations, as illustrated by the Obépine network in France, using the quantification of the viral genome to track the COVID-19 pandemic. This innovative approach can also be extended to other pathogens, including those linked to intentional risks, even if their use is regulated. Monitoring chemical agents, explosive substances, and radioactive materials in wastewater offer promising prospects for strengthening national security, although challenges remain, such as representative sampling and control of matrix-related effects.

Keywords **Wastewater-based epidemiology, CBRNe, terrorism, warfare, public health, biomonitoring.**

Depuis des décennies, la menace terroriste demeure constante et s'intègre sur le long terme dans nos sociétés. Le terrorisme NRBCe (pour nucléaire, radiologique, biologique, chimique et explosif) pose ainsi un problème majeur pour les États. En réaction, des programmes nationaux et internationaux de détection, d'identification, de protection, de décontamination des personnes et de l'environnement sont lancés. La recherche duale – à des fins civiles et de défense militaire – a pour ambition de développer des solutions technologiques innovantes pour renforcer la résilience de la nation face à cette menace NRBCe, notamment dans le domaine de la détection et de la quantification [1].

L'analyse des eaux usées a été utilisée depuis longtemps pour détecter ou doser les agents pathogènes, notamment en vue de maîtriser les agents du péril fécal. Le concept d'analyse des eaux usées a ainsi évolué vers le nouveau concept d'épidémiologie des eaux usées, utilisant ces dernières comme un miroir [2], plutôt que de les considérer seulement comme un réservoir d'agents pathogènes ou toxiques pour les hommes et les animaux. Concrètement, la surveillance épidémiologique des eaux usées peut être utilisée comme un indicateur de la santé de la population (par exemple, suivis de la consommation de médicaments, du génome du SARS-COV-2 pour anticiper sur les vagues épidémiques ou l'émergence de variants). En effet, le suivi des dangers biologiques a été rendu possible grâce au développement très rapide et à la performance toujours croissante des techniques de biologie moléculaire. Surmontant les défis



Manipulation d'un échantillon d'eaux usées au laboratoire. © Nicolas Busser, CNRS.

d'extraction et de quantification des virus dans les eaux usées, ces outils reposant sur l'amplification spécifique d'acides nucléiques de n'importe quel micro-organisme (qPCR en temps réel et PCR digitale) permettent un suivi rapide de l'émergence et de l'évolution des maladies infectieuses. Comme les PCR ciblées sur certaines mutations spécifiques, le séquençage génomique permet aussi de suivre les variants de divers agents infectieux [3].

Au-delà du risque lié à la COVID-19, l'intérêt de cette surveillance des eaux usées en vue de détecter ou quantifier chaque type d'agents de la menace mérite d'être exploré.

Surveillance des agents biologiques

La pandémie de COVID-19 a montré la pertinence d'une approche épidémiologique intégrée pour informer en temps réel les pouvoirs publics afin de proposer rapidement d'efficaces contre-mesures [4]. Pour cela, les indicateurs épidémiologiques traditionnels basés sur l'identification des cas cliniques et les tests de masse, se concentrant sur les individus, présentent des limites, notamment en raison de cas peu ou pas symptomatiques, de la réticence de la population à se faire tester régulièrement et de la difficulté en France d'organiser des campagnes de tests individuels basés sur une technique de sondage.

Le virus du SARS-CoV-2, bien qu'affectant principalement les voies respiratoires, est également présent dans le système digestif des personnes infectées. C'est la raison pour laquelle il est retrouvé dans les eaux usées collectées par les stations d'épuration. La quantification du génome viral dans les eaux usées est donc devenue une approche complémentaire, globale, non invasive et économiquement viable pour suivre la dynamique de circulation locale du SARS-CoV-2 dans une population [5].

En France, le réseau Obépine⁽¹⁾ – pour Observatoire épidémiologique dans les eaux usées, un consortium interdisciplinaire regroupant des équipes de l'Ifremer, de Sorbonne Université, de l'Université de Lorraine, du CNRS, d'Eau de Paris et de l'Institut de recherche biomédicale des armées – s'est constitué à partir de mars 2020. Obépine a mis en place un observatoire sentinelle des eaux usées, associant recherche multidisciplinaire et veille sanitaire, pour détecter précocement les fluctuations de l'excrétion virale afin de contribuer à maîtriser l'épidémie et ainsi limiter ses impacts sanitaires, économiques et sociaux. Depuis la publication des recommandations européennes en avril 2021, la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées est officiellement assurée par le dispositif Sum'Eau (Santé publique France-Anses) depuis octobre 2023. L'Institut de recherche biomédicale des armées a adapté cet outil performant au suivi des infections virales sur le porte-avions Charles de Gaulle à la suite d'une première épidémie de COVID-19 à bord en 2020. Cet outil de surveillance a facilité la gestion du risque de contamination virale à bord lors des escales et des entrées de personnels (voir p. 50) [6].

L'épidémiologie des eaux usées offre ainsi une perspective novatrice pour éclairer la gestion de la pandémie au niveau territorial et national, mais aussi pour surveiller d'autres agents pathogènes et leurs variants, comme les marqueurs bactériens d'antibiorésistance ou les agents zoonotiques comme le mpox [7]. Pour ce qui concerne les agents du risque B intentionnel (par exemple pour la peste, le charbon, la brucellose et la tularémie), il ne semble pas y avoir de difficultés techniques majeures à étendre la surveillance à ce type de pathogènes car ils sont déjà étudiés comme contaminants environnementaux depuis 2005 [8]. Malgré tout, ces agents du risque B font partie, pour la plupart d'entre eux, de la liste des microorganismes et toxines (MOT) fixée par l'arrêté du 26 avril 2023 [9]. Cette réglementation a pour objectif la protection de la santé publique, en termes de sûreté biologique (pour prévenir un usage malveillant des MOT) et de sécurité biologique (dissémination involontaire). La mise en place d'une surveillance de ces agents dans les eaux usées ne pourra donc sans doute être mise en œuvre que par les laboratoires du réseau Biotox, sans évolution ou adaptation réglementaire. Un tel suivi nécessite, en outre, un traitement

des données brutes qui sont par nature bruitées (débit des stations, éléments de gestion des réseaux, paramètres chimiques, variabilité des données acquises entre les laboratoires) par des modèles mathématiques pour les rendre plus robustes [10, 11].

Surveillance des agents chimiques

L'analyse des eaux usées fait partie des techniques utilisées pour estimer les consommations médicamenteuses à différentes échelles (villes, pays). Des observatoires européens l'ont utilisée parmi d'autres méthodes pour y quantifier la présence d'antibiotiques et d'anxiolytiques.

Plus récemment, cette démarche a été appliquée, toujours à échelle européenne, pour l'estimation de la consommation de drogues illicites [12-14].

Cette approche novatrice présente des atouts majeurs, comme la capacité à donner une image agrégée des habitudes d'une communauté (et leurs déterminants) avec un nombre limité de prélèvements intégratifs et à très grande échelle. Elle est aussi utilisable dans une logique de conseil sanitaire et de prévention, fondements de l'action des professionnels de santé. En effet, elle permet de préserver l'anonymat des consommateurs/usagers puisque seul leur nombre moyen est évalué, pour peu que l'échantillonnage soit suffisamment intégratif (même si la notion de prélèvements « individuels » permettant trop facilement d'identifier le ou les consommateurs mériterait une approche consensuelle). Toutefois, cette approche possède des limites, en particulier la représentativité de l'échantillonnage ou encore l'incertitude associée à l'hypothèse d'une consommation/excrétion moyenne par consommateur. Cette donnée est complexe à fiabiliser. L'incertitude associée est probablement variable selon la taille de la population échantillonnée : faible à l'échelle de larges populations, mais entachée d'une erreur supérieure lorsque la taille de la population (et donc l'échelle des prélèvements) diminue. À petite échelle, il est sûrement délicat de distinguer l'excrétion d'un très gros consommateur de celle de quelques consommateurs plus modestes. À une échelle importante, l'hypothèse d'une mixité des profils est plus robuste.

Pour les agents C (chimiques), la détection concernerait en fait plutôt les substances elles-mêmes ou leurs sous-produits plutôt que les métabolites humains, ceux-ci n'étant pas toujours bien connus. Cela ressemblerait plus à une analyse environnementale [15] qu'à de l'épidémiologie des eaux usées qui, pour être pertinente, nécessiterait d'être automatisée pour alerter en temps réel et limiter les contaminations humaines.

Surveillance des substances explosives

Il existe quelques travaux exploratoires démontrant la faisabilité d'une détection de substances explosives dans les eaux usées, notamment les peroxydes, dont l'instabilité est souvent synonyme de confection « locale », rendant pertinent ce mode de détection [16]. Ces travaux relativement fondamentaux ne semblent pas avoir fait l'objet de mesures réelles en situation inconnue, mais ils constituent une intéressante preuve de concept suggérée par un laboratoire spécialisé de la police britannique. Comme pour d'autres substances, les difficultés à définir une stratégie d'échantillonnage pertinente (puisque, par définition, le mode de contamination n'est ni décrit ni reproductible) pourraient bénéficier de la mise en place de stratégies élaborées de prélèvements *in situ*, c'est-à-dire des

prélèvements semi-continus miniaturisés ou des prélèvements passifs sur support fonctionnalisé.

La mise en place de systèmes de collecte ou de réseaux de mesure à des fins épidémiologiques permet d'obtenir des échantillons réguliers autorisant l'emploi de tels outils.

Surveillance des substances radioactives

La surveillance aujourd'hui décrite concerne essentiellement le risque radiologique, l'explosion nucléaire étant par nature plus détectable que les contaminations radioactives qui en résultent [17].

L'intérêt du public pour la radioactivité et la présence de radionucléides dans l'environnement reste important en raison de leur toxicité, de leurs effets sur la santé et des impacts environnementaux associés. Des surveillances, y compris en ligne, des rejets des structures industrielles ou hospitalières sont donc déjà en place avec un corpus réglementaire bien établi [18].

Le risque radiologique industriel est ainsi revenu sur le devant de la scène en 2011. La côte Est du Japon a en effet été frappée par un tremblement de terre et un tsunami qui ont provoqué l'arrêt des pompes de refroidissement de trois réacteurs de la centrale nucléaire de Fukushima Daiichi, suivi de leur entrée en fusion. Cela a entraîné le rejet incontrôlé d'importantes quantités de matières radioactives dans les terres environnantes et dans l'océan Pacifique. Une surveillance locale a été mise en place pour quantifier les rejets du site industriel dans l'environnement. Celle-ci n'a pas posé de problème technique majeur et a même pu être automatisée rapidement. Les systèmes de surveillance en ligne des eaux usées radioactives sont conçus pour discriminer la nature et quantifier l'activité des radionucléides détectés dans l'environnement. Toutefois, les radionucléides ne sont pas uniformément répartis dans les eaux usées ou les boues de station d'épuration.

Des radionucléides tels que le ^{40}K , le ^{210}Pb total, le ^{137}Cs , le ^{226}Ra , le ^{228}Ra , le ^{238}U et le ^{235}U auraient tendance à se partitionner sur les boues et les biosolides plutôt que d'être rejetés dans les effluents liquides. À l'inverse, l'iode 131 aurait plus de chances de rester dans l'effluent liquide que d'être retenue dans les boues [19-20].

La surveillance des eaux usées ne pose donc pas de problème technologique majeur et peut être utilisée pour détecter précocement des activités illicites.

Pertinence et polyvalence

La surveillance des eaux usées fait partie des nouveaux moyens de détection et de quantification des divers agents de la menace, notamment biologique, chimique, liée aux explosifs, aux substances radioactives. Intégrant des technologies de pointe, elle contribue déjà à la résilience nationale.

Dans le domaine biologique, des initiatives telles celles proposées par le réseau Obépine en France et de nombreuses équipes dans le monde ont démontré son potentiel pour anticiper et appuyer la gestion des épidémies à l'échelle nationale ou européenne.

Cependant, des défis persistent, notamment en matière d'échantillonnage représentatif, de facilité de mise en œuvre, de fiabilisation des données et d'utilisation éthique.

Les avancées prometteuses dans la détection de substances explosives ou radioactives dans les eaux usées soulignent la pertinence de cette approche pour la sécurité nationale.

Même si elle nécessite encore des travaux de recherche, elle peut venir compléter l'arsenal des outils dédiés à la prévention d'actes illicites. La surveillance des eaux usées, ayant déjà démontré sa pertinence épidémiologique et sécuritaire, émerge ainsi comme un outil polyvalent qui pourrait être puissant dans la gestion des menaces complexes d'aujourd'hui bien qu'elle n'ait pas été encore suffisamment testée.

(1) www.reseau-obepine.fr

[1] E. Billon-Denis, L. Hairault, M.-T. Ménager. Répondre aux menaces : explosifs, déminage et management de crises, *L'Act. Chim.*, **2022**, 472, p. 7-8.

[2] Bivins *et al.*, Wastewater-based epidemiology: global collaborative to maximize contributions in the fight against COVID-19, *Environ. Sci. Technol.*, **2020**, 54, 13, p. 7754-57.

[3] M.D. Parkins *et al.*, Wastewater-based surveillance as a tool for public health action: SARS-CoV-2 and beyond, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2023**.

[4] A.C. Singer *et al.*, A world of wastewater-based epidemiology, *Nat. Water*, **2023**, 1, p. 408-415.

[5] S. Wurtzer *et al.*, Evaluation of lockdown effect on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in waste water, Greater Paris, France, 5 March to 23 April 2020, *Eurosurveill.*, **2020**, 25(50).

[6] M. Boni *et al.*, L'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA) et l'épidémiologie des eaux usées : intérêt pour les forces armées, *Bul. Acad. Nat. Méd.*, **2022**, 206(8), p. 1011-21.

[7] S. Wurtzer *et al.*, First detection of monkeypox virus genome in sewersheds in France: the potential of wastewater-based epidemiology for monitoring emerging disease, *Environ. Sci. Technol. Lett.*, **2022**, 9(11), p. 991-996.

[8] L. Song, S. Ahn, D.R. Walt, Detecting biological warfare agents. *Emerg. Infect. Dis.*, **2005**, 11(10), p. 1629-32.

[9] Arrêté du 26 avril 2023 fixant la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L. 5139-1 du Code de la Santé publique, NOR : SPRP2311658A, *JORF* n°123, 28/5/23.

www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2023/4/26/SPRP2311658A/jo/texte

[10] N. Cluzel *et al.*, Obépine consortium. A nationwide indicator to smooth and normalize heterogeneous SARS-CoV2 RNA data in wastewater, *Environ. Int.*, **2022**, 158.

[11] S. Wurtzer *et al.*, Obepine Sig, Laurent Moulin. From Alpha to Omicron BA.2: New digital RT-PCR approach and challenges for SARS-CoV-2 VOC monitoring and normalization of variant dynamics in wastewater, *Sc. Tot. Env.*, **2022**, 848, 157740.

[12] A. Sue-Ching Löve, V. Ásgrímsson, K. Ólafsdóttir, Illicit drug use in Reykjavik by wastewater-based epidemiology, *Sc. Tot. Env.*, **2022**, 803, 149795.

[13] R.Z. Hahn, C.A. do Nascimento, R. Linden, Evaluation of illicit drug consumption by wastewater analysis using polar organic chemical integrative sampler as a monitoring tool, *Front. Chem.*, **2021**, 9, 596875.

[14] A. Bannwarth *et al.*, The use of wastewater analysis in forensic intelligence: drug consumption comparison between Sydney and different European cities, *For. Sc. Res.*, **2019**, 4(2), p. 141-151.

[15] P. Haishan *et al.*, Analysis of VX nerve agent hydrolysis products in wastewater effluents by ion chromatography with amperometric and conductivity detection, *J. Chr. A*, **2005**, 1089(1,2), p. 65-71.

[16] H. Rapp-Wright *et al.*, Suspect screening and quantification of trace organic explosives in wastewater using solid phase extraction and liquid chromatography-high resolution accurate mass spectrometry, *J. Haz. Mat.*, **2017**, 329, p. 11-21.

[17] J.E. Martin, F.D. Fenner, Radioactivity in municipal sewage and sludge, *Pub. Health Rep.*, **1997**, 112(4), p. 308-316.

[18] Q. Guoxiu *et al.*, Design of an on-line monitoring system for radioactive wastewater, *J. Rad. Nucl. Chem.*, **2017**, 314, p. 215-220.

[19] J. Smith *et al.*, The risks of radioactive wastewater release, *Science*, **2023**, 382, p. 31-33.

[20] M.E. Ahmed *et al.*, The presence and distribution of radioactivity and radionuclides in Kuwait wastewater treatment plants, *Arab. J. Sci. Eng.*, **2019**, 44, p. 8779-86.

Mickaël BONI^{1,2*}, vétérinaire en chef, **Fanny MAGISSON**¹, vétérinaire en chef, **Olivier GORGÉ**¹, pharmacien en chef, **GIS Obépine**² et **Jean-Ulrich MULLOT**³, pharmacien en chef.

¹ Institut de recherche biomédicale des armées, Brétigny-sur-Orge.

² Groupement d'intérêt scientifique Obépine (S. Wurtzer, O. Rohr, C. Vallet, Y. Maday, N. Boudaud, S. Le Guyader, C. Gantzer, L. Moulin, V. Maréchal), Paris.

³ Direction centrale du service de santé des armées, Paris.

*vbboni@gmail.com