

surveillances de l'eau

Retours d'expérience

Les eaux usées protègent la Flotte

Résumé À la suite de l'épidémie observée en 2020 sur le porte-avions Charles de Gaulle, la Marine nationale a décidé de mettre en place une surveillance du SARS-CoV-2 basée sur les eaux usées et développée avec le soutien du consortium de santé publique Obépine (Observatoire épidémiologique dans les eaux usées). Au printemps 2021, nous avons validé le laboratoire et démontré l'efficacité de la mise en œuvre d'un vaccin obligatoire contre l'introduction des variants alpha et bêta du SARS-CoV-2. La deuxième campagne a mis en évidence la capacité de l'outil de surveillance à localiser à bord du navire les marins asymptomatiques infectés, validant ainsi l'objectif de l'enquête épidémiologique. La troisième campagne, au printemps 2022 dans un contexte de circulation du variant Omicron, a été moins concluante, du fait de l'échappement du variant à la vaccination et, potentiellement, d'une moindre excrétion intestinale. Les évolutions futures de ce protocole d'enquête pourraient être une enquête en quasi-temps réel sur la santé des membres d'équipage vis-à-vis d'agents pathogènes excrétés dans les selles, avec une localisation des membres d'équipage malades.

Mots-clés Épidémiologie par les eaux usées, qPCR, SARS-CoV-2, alerte précoce.

Abstract **Waste water protects the Naval Fleet**

Following the outbreak observed in 2020 in its aircraft carrier, the French Navy has decided to implement a wastewater-based SARS-CoV-2 surveillance, developed with the support of the French public health Obépine consortium into the aircraft carrier. In the spring 2021, we validated the lab and demonstrated the efficiency of a mandatory vaccine implementation against SARS-CoV-2 alpha and beta variants introduction. The second campaign highlighted the capacity of the monitoring tool to localize in the ship infected asymptomatic sailors, validating the objective of the epidemiological survey. The third campaign, in Spring 2022 in a context of Omicron variant circulation, was less conclusive, due to the escape of the variant from vaccination, and potentially its evolution of infected tissues. Future outcomes of this survey protocol may be an almost real-time survey of crew members' health when pathogens are excreted in the feces, with some insights on sick crewmember localization.

Keywords Waste water based epidemiology, qPCR, SARS-CoV-2, early warning.

RetEx sur la surveillance épidémiologique COVID à bord du porte-Avions Charles de Gaulle

En avril 2020, une épidémie de COVID a flambé parmi l'équipage du porte-avions nucléaire (PAN) Charles de Gaulle, ce qui a nécessité un retour du navire à son port d'attache, Toulon, interrompant sa mission [1]. La Marine nationale a alors cherché un système pour éviter la répétition d'un tel épisode. Le réseau Obépine (voir page 34), dont l'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA) fait partie, avait dès mars 2020 mis en place un système de détection du virus SARS-CoV2 dans les eaux au niveau des stations de traitement des eaux usées (STEU) [2]. Les premières mesures avaient démontré que l'augmentation de la charge virale dans les eaux usées était corrélée à une augmentation de cas dans les populations desservies par les STEU surveillées, voire précédait l'apparition de signes cliniques [3].

Sollicité par la Marine Nationale, l'IRBA a proposé de reproduire ce système de surveillance, en l'adaptant aux spécificités d'un navire de guerre.

Le challenge à relever était important : plusieurs paramètres diffèrent entre les eaux usées analysées par le réseau Obépine et les « eaux noires » d'un navire de guerre. En premier lieu, il n'y a pas de mélange, sauf avaries ou pannes, entre eaux grises (douches, vaisselle, lavage) et celles issues des WC à bord (eaux noires). Par ailleurs, les WC fonctionnent avec une aspiration par dépression, et donc une chasse d'eau réduite au minimum (comparable aux WC des TGV). Les eaux noires sont donc bien plus concentrées. Le prélèvement est plus

complexe également, les caisses de collecte étant en dépression, et vidangées plus ou moins régulièrement, sur automatisation, dès atteinte du niveau haut.

Il a donc été développé en quelques semaines un protocole permettant la détection de virus dans les eaux noires. Ce protocole permettait la détection simultanée de deux gènes du virus : le gène E et le gène RdRp. En parallèle, il a été mis en place un protocole de prélèvement dans les caisses de collecte. Navire de guerre, le PAN est découpé en « tranches » et chaque tranche héberge une ou plusieurs caisses de collecte, selon la population présente dans la tranche considérée. Le PAN compte 25 caisses de collecte, dont 22 accessibles à la mer. Pour réaliser les mesures, il a été mis en place *ex nihilo* un laboratoire de biologie moléculaire dédié (figure 1), autonome par rapport au laboratoire de biologie médicale du bord, en mesure de réaliser la totalité du traitement et de l'analyse de l'échantillon. Afin d'optimiser l'utilisation de consommables et de réactifs, tout en assurant la meilleure surveillance épidémiologique, un plan d'échantillonnage a été validé, visant à équilibrer les différentes mesures pour qu'une mesure corresponde à un nombre comparable de WC alimentant les caisses prélevées. Ainsi, une dizaine de pools devait être analysés à partir de la vingtaine de caisses prélevées quotidiennement.

Dans un premier temps, le bord a fait réaliser des mesures sur toutes les caisses prélevées, avant de passer petit à petit au plan de prélèvement proposé, puis d'espacer les prélèvements, au vu de la charge de travail et de la consommation importante de réactifs. Le bord est ainsi progressivement

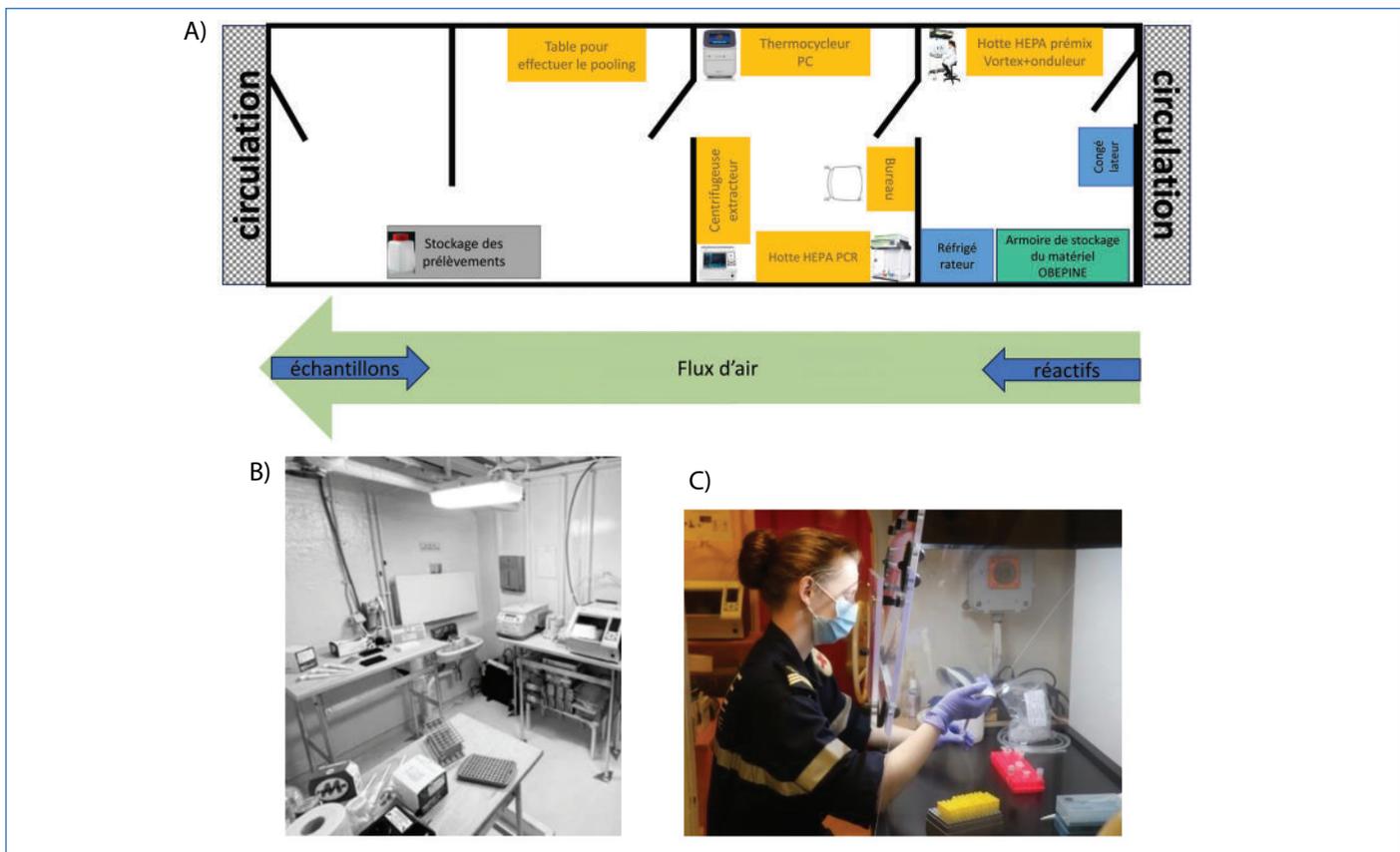


Figure 1 - A) Plan d'organisation du laboratoire Obépine. Le flux d'air va de la zone blanche (où se trouvent la hotte de préparation des mix PCR et le stockage des réactifs) vers la zone jaune (extraction et amplification) et la zone orange (aliquotage et pool des échantillons primaires). B) et C) À bord du porte-avions Charles de Gaulle. © Obépine.

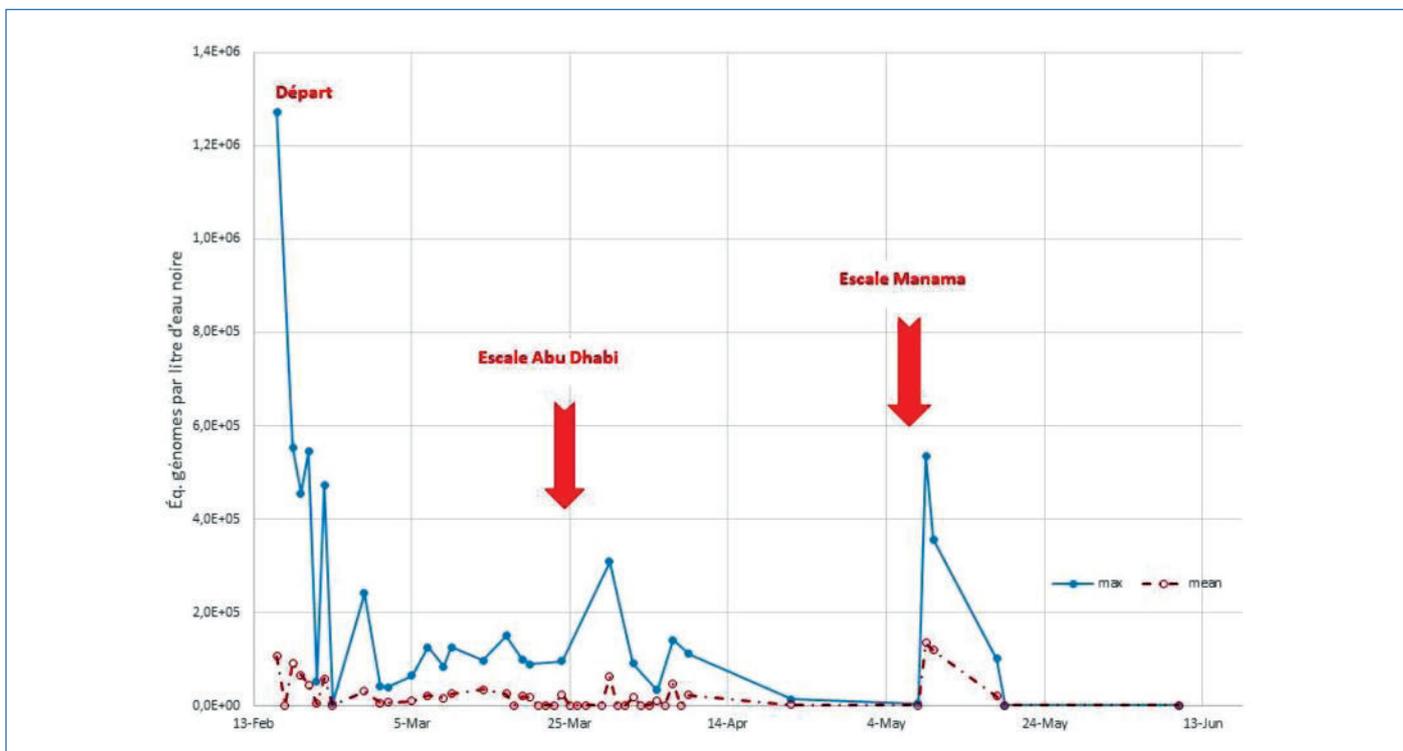


Figure 2 - Valeurs maximales et moyennes quotidiennes des concentrations d'équivalents génome RdRP dans les caisses d'eaux noires [7].

passé de l'analyse quotidienne des 20 caisses à une analyse de 10, puis 7 caisses.

Le rythme était de 5 caisses/jour en escale.

Le système de surveillance a été exploité au cours de trois missions, au premier et dernier trimestres 2021, puis au premier trimestre 2022.

Première mission : février à avril 2021

L'excrétion du virus dans les fèces, surveillée par la quantification quotidienne dans les eaux noires des séquences cibles des gènes E (enveloppe) et RdRP (ARN polymérase ARN-dépendante), a été utilisée comme indicateur de la présence du virus. Au cours de la mission (figure 2), des variations

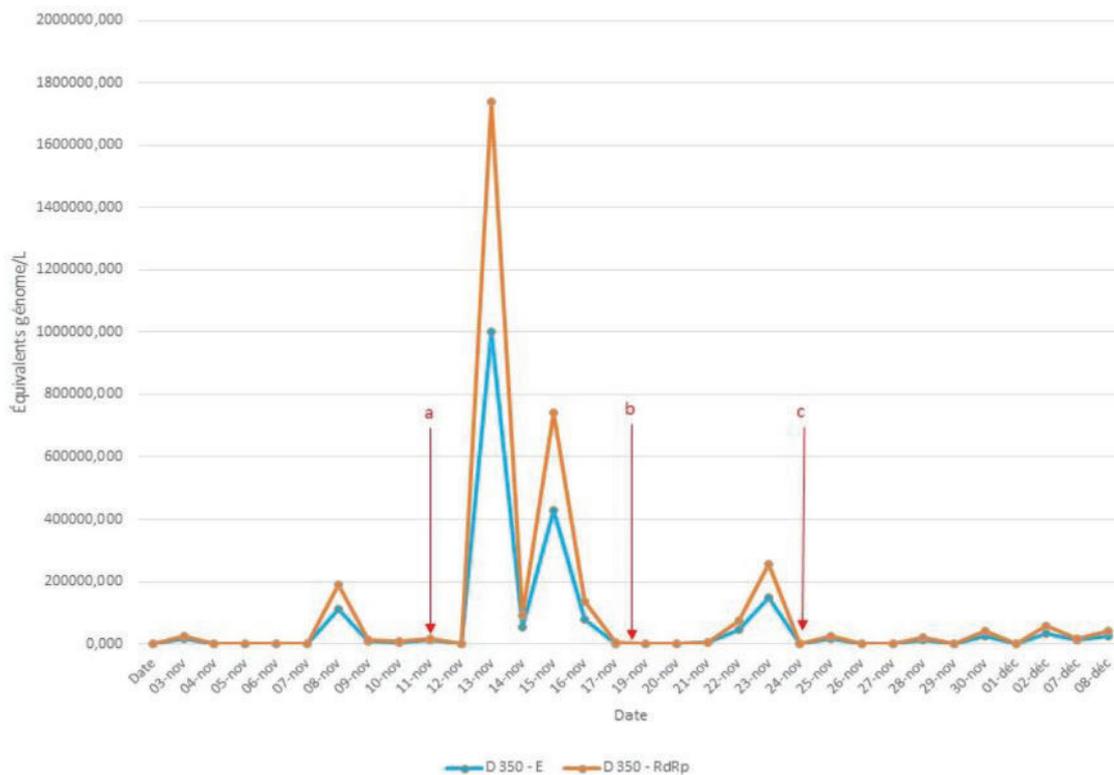


Figure 3 - Suivi de la concentration en équivalents génome/L des gènes RdRP et E. L'élévation de la concentration dans les eaux usées précède l'identification des cas cliniques, et ce d'autant plus que les cas sont nombreux. 11 novembre 2021 : 1 cas positif ; 18 novembre 2021 : 4 cas positifs ; 24 novembre 2021 : 1 cas positif [7].

de concentration du virus ont été observées, avec une décroissance pendant les quatre premières semaines [4], puis une stabilisation à un niveau comparable entre les différents pools, ce qui représenterait une sorte de bruit de fond entre 10 et 100 éq. génome/mL d'eaux noires, ce qui est relativement faible rapporté à l'excrétion par un patient (10^2 à 10^8 éq. génome/g de selles). Par contre, après chaque escale, les concentrations augmentaient puis diminuaient régulièrement. Cette remontée des concentrations de virus a été attribuée à l'arrivée de personnels récemment vaccinés et potentiellement excréteurs de virus. En quelques jours, les concentrations retrouvaient les valeurs de base d'avant escale. Chaque épisode de détection du virus dans les eaux usées était donc transitoire, ce qui suggère un contrôle efficace de la circulation du virus (vaccination obligatoire combinée à de nombreuses autres mesures barrières, telles que la limitation des contacts sociaux pendant les arrêts ou les escales et des interventions non pharmaceutiques renforcées : filtres de ventilation, bionettoyage des surfaces...).

Seconde mission : novembre et décembre 2021

Cette campagne a appareillé en pleine vague Delta. Considérant la capacité de ce variant à contaminer les sujets même vaccinés, l'observation d'une dynamique différente de la précédente mission était attendue. La vaccination n'a ainsi pas empêché, durant cette mission, la survenue de cas cliniques. Cette mission a permis de valider le versant prédictif du suivi de la charge virale dans les eaux noires, avec des pics observés un à deux jours avant et corrélés avec des sujets diagnostiqués positifs au SARS-CoV-2 (figure 3). La hauteur de pic était également corrélée au nombre de cas. Le challenge a consisté à localiser et identifier les marins contaminés car il est apparu

que l'usage des toilettes se réalisait plus dans l'espace de travail que dans l'espace de vie, ces espaces étant situés dans des zones différentes (tranches) du porte-avions.

Troisième mission : février à avril 2022

Cette mission s'est réalisée dans un contexte de variant Omicron, à forte transmissibilité et faible pouvoir pathogène. De plus, ce variant aurait une excrétion fécale réduite par rapport aux précédents variants [5]. Cela expliquerait une dynamique moins visible par analyse des eaux noires, comme indiqué en figure 4. De plus, ce variant étant susceptible de contaminer des sujets même vaccinés, la transmission était beaucoup plus difficile à maîtriser (plus de réinfection, moins d'effet protecteur du vaccin).

Un outil prometteur

La transposition à la Marine nationale de la recherche de virus par analyse des eaux usées de certaines villes de France réalisée par le réseau Obépine a été rendue possible grâce à la collaboration de l'IRBA, du Laboratoire d'analyses, de surveillance et d'expertise de la Marine (LASEM) de Toulon et de Eau de Paris. Cette transposition a permis au navire d'être totalement autonome en matière de surveillance environnementale avancée.

Les eaux usées constituent un échantillon biologique naturellement complexe susceptible de contenir des agents pathogènes excrétés dans les fèces, l'urine, le sang, les expectorations et les vomissures. Une analyse de ces eaux usées peut donc fournir des informations sur la présence et la fréquence des maladies dans une communauté [6]. Dans un contexte maritime militaire, cet outil innovant peut être réorienté vers

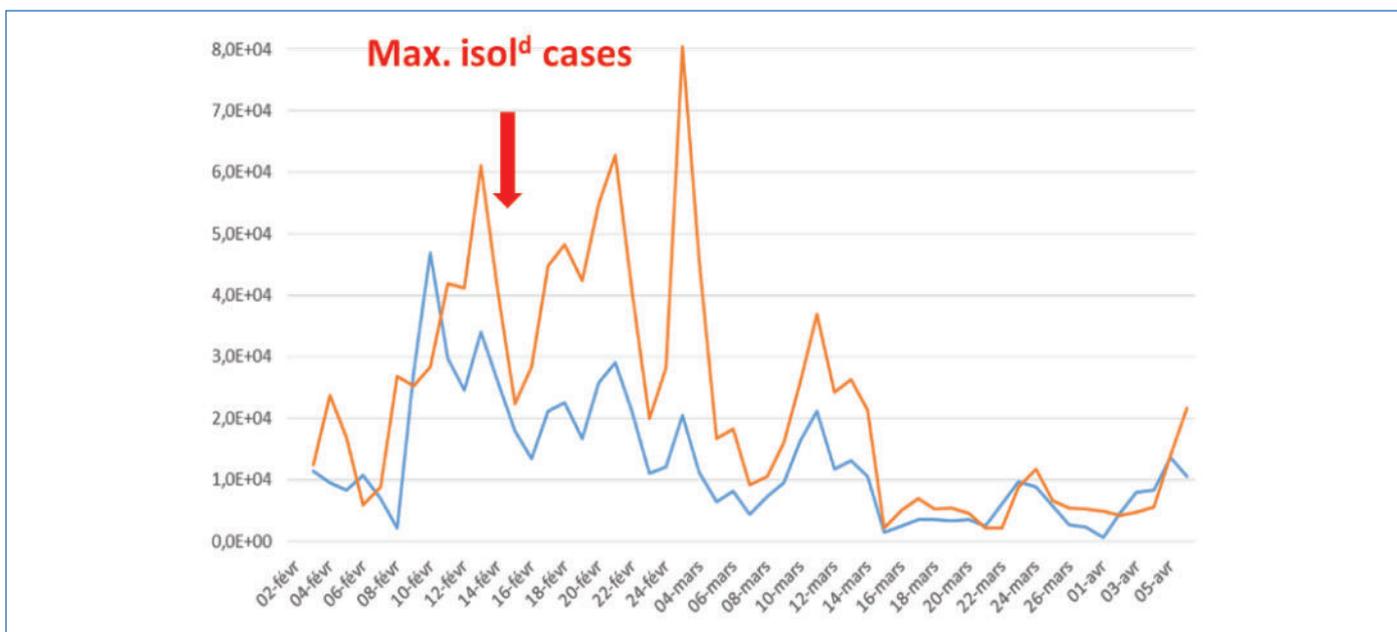


Figure 4 - Suivi de la concentration moyenne en équivalents génome/L des gènes RdRp et E. Les valeurs moyennes indiquant une circulation importante du virus bien identifiée dans les eaux usées et par les tests individuels [7].

Max. isol^d cases : date où le plus grand nombre de personnes a été en isolement. On ne voit plus la corrélation précédemment observée.

la recherche de tout autre agent pathogène dans les eaux noires voire, à terme, permettre d'assurer une surveillance sanitaire d'une emprise militaire, en mer ou à terre, en métropole ou sur une base outre-mer.

[6] M.K. Wolfe, Invited perspective: the promise of wastewater monitoring for infectious disease surveillance, *Env. Health Persp.*, **2022**, 130(5), p. 51302.

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

[1] O. Bylicki, N. Paleiron, F. Janvier, An outbreak of Covid-19 on an aircraft carrier, *N. Engl. J. Med.*, **2021**, 384(10), p. 976.

[2] 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, *Euro Surveill.*, **2020**, 25(50).

[3] G. Medema, L. Heijnen, G. Elsinga, R. Italiaander, A. Brouwer, Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands, *Env. Sc. & Tech. Lett.*, **2020**, 7(7), p. 511-516.

[4] Y. Zhang *et al.*, Prevalence and persistent shedding of fecal SARS-CoV-2 RNA in patients with COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis, *Clin. Transl. Gastroenterol.*, **2021**, 12(4), e00343.

[5] G. Marais *et al.*, Saliva swabs are the preferred sample for Omicron detection, *medRxiv*, **2021**.

Olivier GORGÉ^{1*}, pharmacien, chercheur, **Anne DEPEILLE**¹, technicienne, **Chloé LEMOIGNE**¹, technicienne, **Anne GASTELLIER**¹, technicienne, **Mickaël BONI**¹, vétérinaire en chef, et le **GIS Obépine**².

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

²Groupement d'intérêt scientifique Obépine (Sébastien Wurtzer, Olivier Rohr, Clémentine Vallet, Yvon Maday, Nicolas Boudaud, Soizic le Guyader, Vincent Maréchal, Laurent Moulin, Christophe Gantzer), Paris.

*olivier.gorge@intradef.gouv.fr

GECat 2024

Hendaye (Pays Basque)

14 au 17 mai 2024



Dates clés

- ✓ 22 décembre 2023 : Limite de soumission des résumés en ligne
- ✓ 09 février 2024 : Notification d'acceptation
- ✓ 03 mars 2024 : Tarif préférentiel d'inscription
- ✓ 14 avril 2024 : Limite d'inscription



Thème 1 : Catalyse et Génie Chimique
David EDOUARD (CP2M, Lyon)

Thème 2 : Activation de Petites Molécules
(H₂, N₂, CO_x, NO_x, CH₄)
Philippe SERP (LCC, Toulouse)

Thème 3 : Bioraffinerie et Economie Circulaire
Marion CARRIER (IMT, Mines Albi)

1^{ère} circulaire

<https://gecat2024.sciencesconf.org>