

Laboratoire NRBCE du Bataillon de Marins-Pompiers de
Marseille

Marseille, le 31/12/2020

Contact : Alexandre Lacoste

Tél. : 06 14 01 30 15

Fax : 04 95 05 40 89

Mél : alexandre.lacoste@bmpm.gouv.fr

Compte-rendu de surveillance épidémiologique par dosage de la COVID-19 dans les eaux usées de l'agglomération de Nice

I. Contexte

La Région Sud est investie au titre de l'article L. 4221-1 du Code général des collectivités territoriales d'une compétence en matière sanitaire. Ce même article habilite les régions à engager des actions complémentaires à celles de l'Etat ou des collectivités territoriales compétentes en la matière.

A ce titre, la Région a sollicité le Bataillon de marins-pompiers de Marseille afin que celui-ci analyse les échantillons prélevés en différents points **l'agglomération de Nice** pour dresser des cartographies opérationnelles de la circulation du virus SARS-COV-2 (coronavirus 2019) sur son territoire.

II. Méthodes

1. Prélèvements :

Douze prélèvements ont été effectués sur le réseau sanitaire de la métropole de Nice le mercredi 29 décembre 2020. Ils concernent les secteurs suivants :

- prélèvements ponctuels du matin : Ariane, Las Planas, Les Moulins, Bon Voyage, Magnan/Madeleine, Port, J.Médecin Est, J.Médecin Ouest, Gambetta, Fabron/Carras, Ouest ville.
- prélèvement moyenné sur 24h à 9h : entrée STEP Haliotis.

Les échantillons prélevés ont été identifiés et conservés à 4°C.

Le transport des échantillons se fait à 4°C jusqu'au laboratoire du Bataillon de marins-pompiers de Marseille situé au 157, boulevard de Plombières, Marseille cedex 3.

Les échantillons ont été réceptionnés à 14h le mercredi 29 décembre et filtrés afin d'être analysés de suite.

2. Analyses :

Le BMPM effectue l'analyse des échantillons selon le processus suivant :

- extraction du virus,
- amplification par RT-PCR,
- quantification par comparaison à un étalon de SARS-COV-2 inactivé.

La droite d'étalonnage est présentée en **annexe 1** de ce rapport

3. Définition des intervalles de concentration:

Afin d'avoir une meilleure lisibilité, pour la cartographie de la contamination sur Marseille, il a été défini 4 niveaux de concentrations permettant de mettre en évidence :

- Des bassins de populations reliées **verts** pour lesquelles le taux de portage reste faible (moins de 0,4 % de la population) correspondant à des concentrations inférieures ou égales à 160 copies/ml
- Des bassins de populations reliées **jaunes** pour lesquelles le taux de portage est modéré (au moins de 0,4 % à 1,2 % de la population) correspondant à des concentrations comprises entre 160 et 480 copies/ml
- Des bassins de populations reliées **orange**s pour lesquelles le taux de portage est élevé (au moins de 1,2 % à 4 % de la population) correspondant à des concentrations comprises entre 480 et 1600 copies/ml
- Des bassins de populations reliées **rouges** pour lesquelles le taux de portage est très élevé (au moins 4 % de la population) correspondant à des concentrations supérieures ou égales à 1600 copies/ml

Nous proposerons donc dans nos résultats l'assimilation du même code couleur que celui établi pour la surveillance de Marseille à des fins d'uniformisation des pratiques.

L'**annexe 2** de ce rapport reprend les éléments qui permettent de rattacher les concentrations en virus dans les eaux usées à un taux de portage estimé de la population reliée au réseau sanitaire de la métropole de Nice.

III. Résultats

Les résultats obtenus ont été traités grâce à des données fournies par la Métropole de Nice afin de les traduire en taux de portage estimatif du virus (annexe 2).

Les résultats des prélèvements ponctuels sont présentés dans le tableau ci-dessous et dans le graphique 1.

Le résultat obtenu sur le prélèvement ponctuel Bon Voyage, seul échantillon commun entre les semaines 52 et 53, est comparé à celui de la semaine 52 (graphique 2).

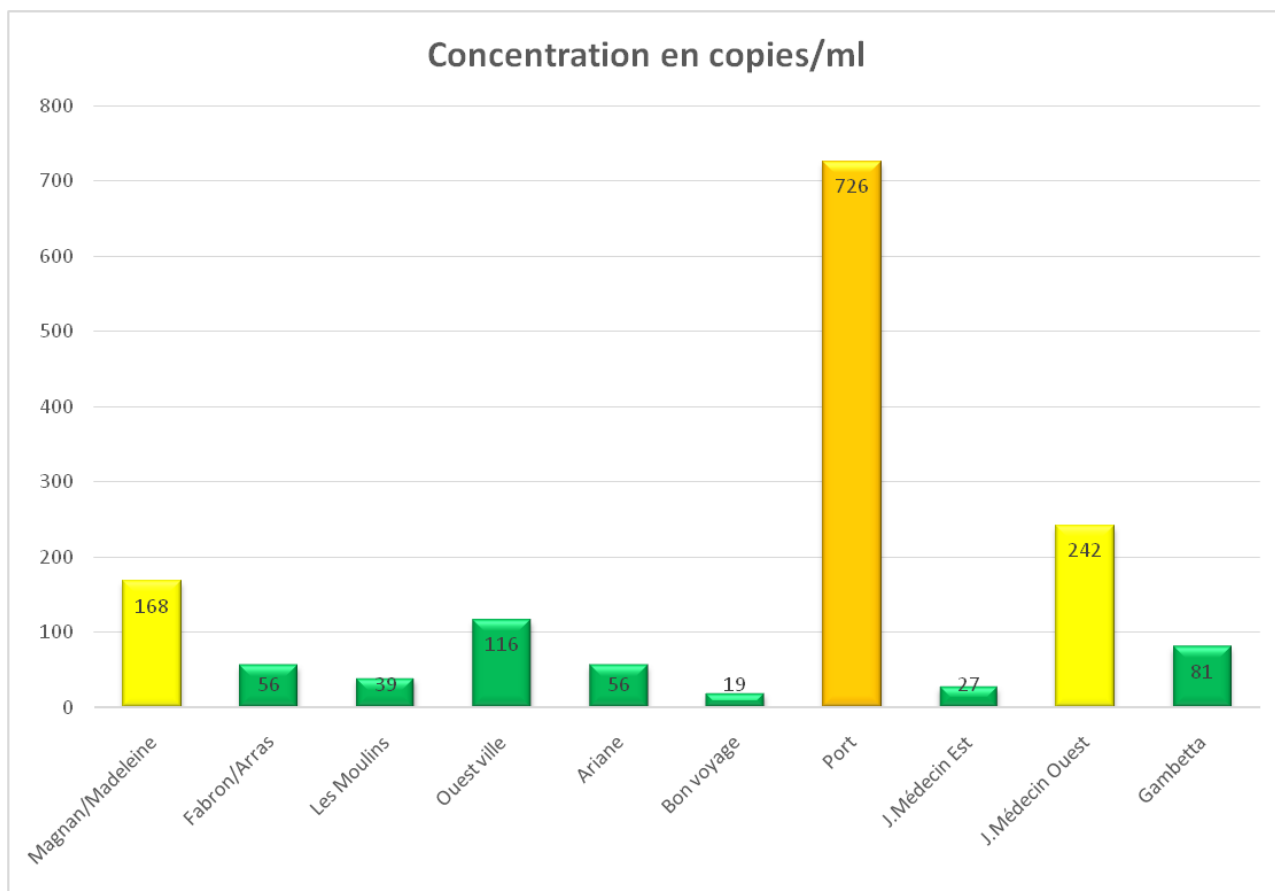
La tendance de l'évolution globale du virus sur Nice est observée au travers des résultats obtenus sur les prélèvements de 24h à l'entrée de **STEP Haliotis** (graphique 3).

Tableau des résultats pour tous les échantillons considérés :

Prélèvement	Date	Concentration en copies/ml	taux de portage estimé
Las Planas	29/12/2020	56	Faible
Magnan/Madeleine	29/12/2020	168	Modéré
Fabron/Arras	29/12/2020	56	Faible
Les Moulins	29/12/2020	39	Faible
Ouest ville	29/12/2020	116	Faible

Ariane	29/12/2020	56	Faible
Bon voyage	29/12/2020	19	Faible
Port	29/12/2020	726	Elevé
J.Médecin Est	29/12/2020	27	Faible
J.Médecin Ouest	29/12/2020	242	Modéré
Gambetta	29/12/2020	81	Faible
Entrée STEP Haliotis 24h	31/12/2020	168	Modéré

Graphique 1 : Echantillons ponctuels.

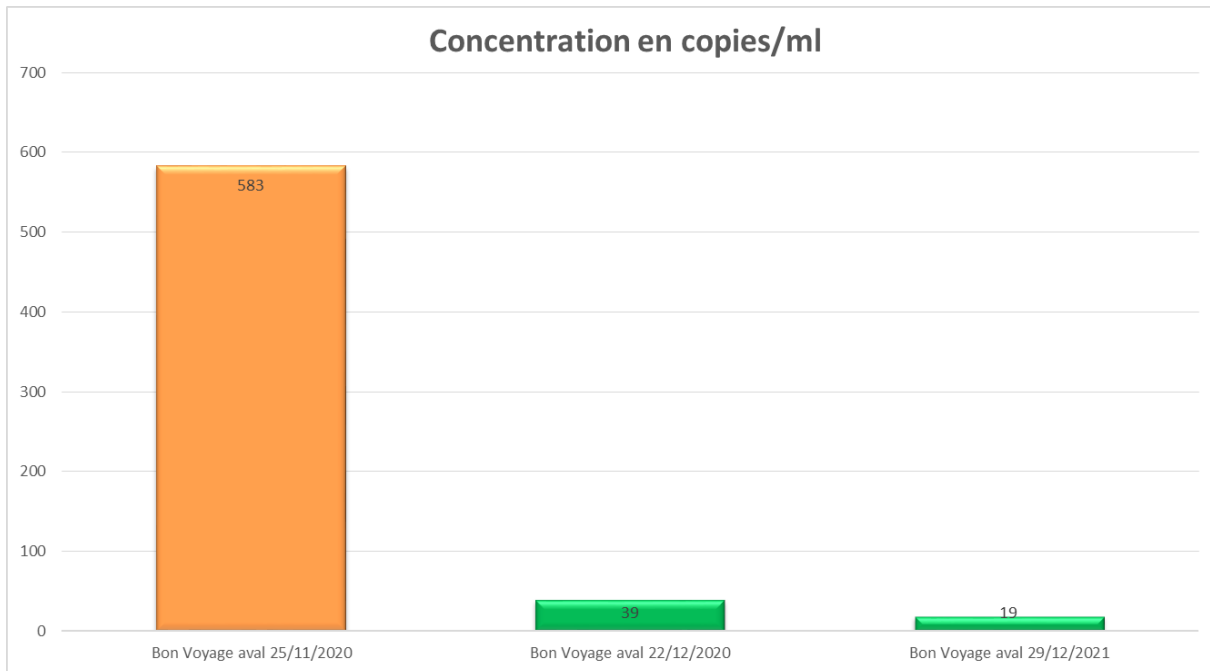


Les secteurs géographiques qui ressortent de cette série sont les suivants :

- Port : niveau élevé correspondant à un taux de portage compris entre 1.2% et 4%.
- Magnan/Madeleine et J.Médecin Ouest : niveau modéré (taux de portage compris entre 0.4% et 1.2).

Le reste des secteurs analysés présente un taux de portage faible.

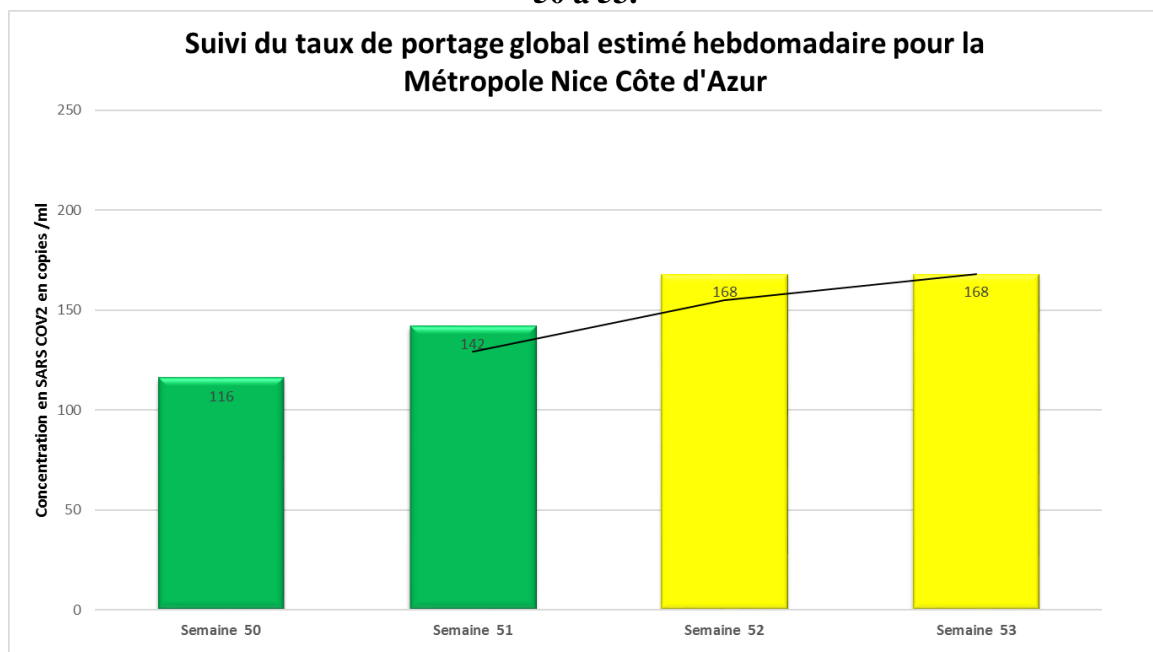
Graphique 2 : Comparatif des échantillons Bon Voyage des semaines 48, 52 et 53.



Le niveau de concentration de virus du secteur Bon Voyage reste à un niveau faible comme en semaine 52.

La livraison annoncée de l'ensemble des 11 secteurs de façon hebdomadaire permettra un comparatif plus représentatif de l'évolution de l'ensemble de ces secteurs.

Graphique 3 : Comparatif des échantillons d'entrée de STEP Haliotis des semaines 50 à 53.



La concentration de virus en entrée de STEP Haliotis se maintient en semaine 53 à un niveau de portage estimé modéré. Cette inversion de tendance mesurée sur 24h semble cohérente avec l'état général des prélèvements ponctuels.

IV. Conclusions

Concernant la circulation du virus sur l'ensemble de la ville de Nice, après une augmentation progressive observée depuis trois semaines, une stabilisation à un niveau modéré est observée en semaine 53.

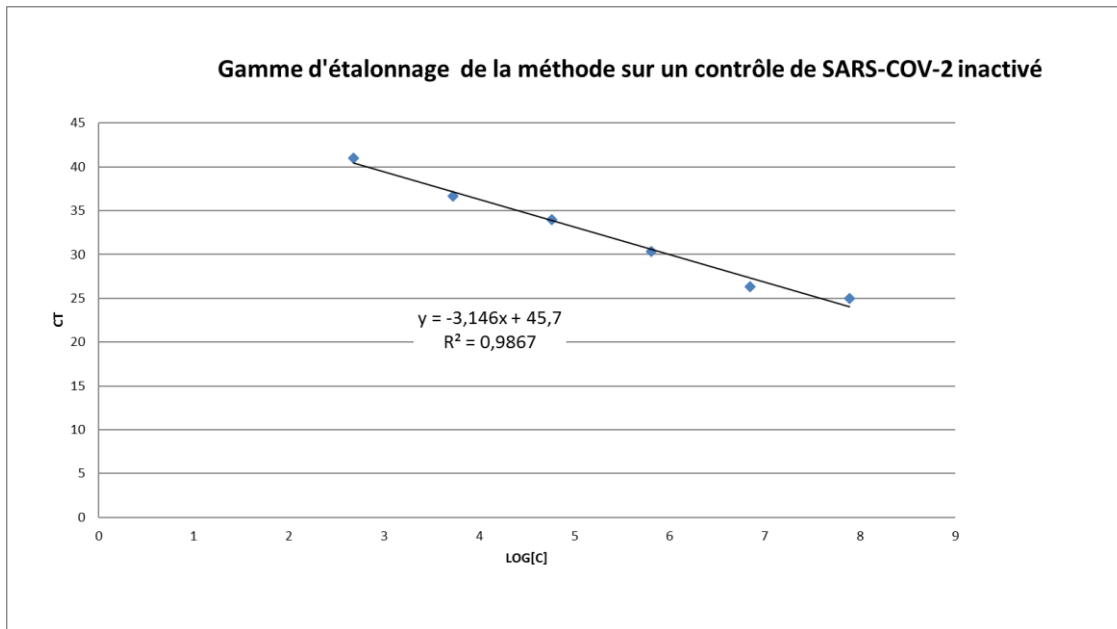
Ces tendances observées sur quatre semaines sont à relier à l'évolution du taux de positivité des tests réalisés qui irait donc vers une stabilisation.

Il est à noter que l'estimation de la semaine 53 n'a été effectuée que sur une mesure sur 24h. Une deuxième mesure aurait permis de totalement fidéliser cette tendance.

Concernant la répartition géographique, le secteur du Port se distingue par le niveau de concentration le plus élevé de cette série (taux de portage entre 1.2 et 4%). Les secteurs Magnan/Madeleine et J.Médecin Ouest sont quant à eux en niveau modéré (taux de portage de 0.4 à 1.2% de la population).

Une analyse complémentaire à test multiple par RT-PCR a permis d'identifier la présence d'Adénovirus et d'Entérovirus/Rhinovirus sur le réseau d'assainissement de la métropole de Nice.

Annexe 1 : Droite d'étalonnage de la méthode de quantification du SARS-COV-2 dans les eaux usées

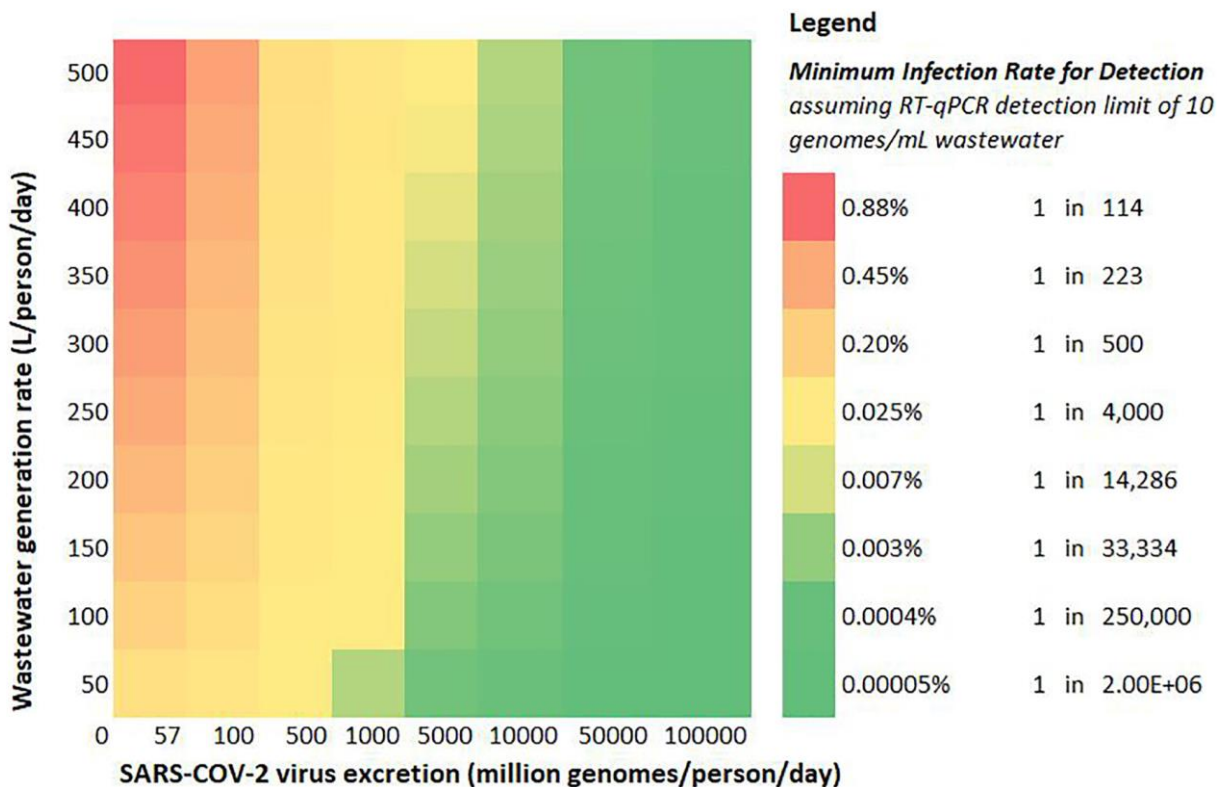


Annexe 2 : détermination du taux de population associé à la concentration en COVID19

Le WBE (Waterwaste based epidemiology) est un outil potentiellement robuste pour le suivi épidémiologique du SARS-CoV-2 / COVID-19 (4).

En effet, le suivi épidémiologique des eaux usées peut permettre d'assurer :

- une anticipation des épidémies de la COVID19 de 5 à 6 jours,
- une estimation de la population impactée par l'épidémie **en comptabilisant même les cas asymptomatiques**,
- une possibilité de localiser géographiquement des foyers d'infection.



Le cycle viral de la COVID19 admet une phase entérique qui aboutit à la libération de virus dans les selles (Wölfel et al., 2020).

L'élimination du SRAS-CoV-2 a été étudiée dans un groupe de 9 cas et était de 10^7 copies d'ARN / g de matières fécales une semaine après le début des symptômes et a diminué à 10^3 copies d'ARN / g trois semaines après l'apparition des symptômes.

Pour l'interprétation des données fournies nous prendrons une valeur de **10^7 copies d'ARN / g** puisque nous surveillons une reprise d'épidémie.

La société Nationale Française de Colo-Proctologie (SNFCP) évalue à 150 g /jour le poids moyen en scelle rejetée par un individu.

Nous sommes donc sur une **abscisse de 1000 pour le tableau fourni**.

Annexe 3 : description des points de prélèvement des quartiers de Nice reliés au réseau d'assainissement

Les débits moyens journaliers et les estimations de population reliée au réseau permettent de nous situer sur des ordonnées comprises entre 150 et 250 l/habitant/j.

Identification correcte pour le rapport d'analyses	Estimation du nombre d'habitants	Volume moyen journalier estimatif (m ³ /j)
Ariane	12 300	1 900
Las Planas	6 500	NC
Les Moulins	8 000	NC
Bon Voyage Aval	16 500	2 900
Magnan/Madeleine	23 000	5 000
Port	47 000	5 200
J. Médecin Est	53 000	9 700
Jean Médecin Ouest	57 100	7 700
Gambetta	59 300	13 500
Fabron/Carras	27 400	1 300
Ouest Ville	52 300	7 600
Haliotis	490 000	94 429

Dans ces conditions, le seuil de détection de notre méthode (50 copies/ml) est donc de **0,125 %** de la population atteinte par le SARS COV2 même de façon asymptomatique.

Bibliographie :

- (1) Chen Y, Chen L, Deng Q, et al. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. *JMedVirol*. 2020;92:833-840. <https://doi.org/10.1002/jmv.25825>
- (2) Zhang, N., Gong, Y., Meng, F., Bi, Y., Yang, P., Wang, F., 2020e. Virus Shedding Patterns in Nasopharyngeal and Fecal Specimens of COVID-19 Patients.
- (3) Gundy, P.M., Gerba, C.P., Pepper, I.L., 2009. Survival of coronaviruses in water and wastewater. *Food and Environmental Virology* 1 (1), 10.
- (4) Olga E. Hart., Rolf U., 2020. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. *Halden Science of the total environment* 730.
- (5) Peccia J., Zulli A., et al., 2020. SARS-CoV-2 RNA concentrations in primary municipal sewage sludge as a leading indicator of COVID-19 outbreak dynamics. Preprint version <https://doi.org/10.1101/2020.05.19.20105999>
- (6) Woelfel R, Corman V, et al., 2020. Clinical presentation and virological assessment of hospitalized cases of coronavirus disease 2019 in a travel-associated transmission cluster. *MedRxiv* 2020.03.05.20030502; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.05.20030502>
- (7) Wurtzer S., Marecha V., Mouche JM., et al., 2020. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters his version posted May 6, 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>