



SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE DES POLIOVIRUS EN BELGIQUE

ETUDE DE FAISABILITÉ



QUI NOUS SOMMES

SCIENSANO, ce sont plus de 700 collaborateurs qui s'engagent chaque jour au service de notre devise « toute une vie en bonne santé ». Comme notre nom l'indique, la science et la santé sont au coeur de notre mission. Sciensano puise sa force et sa spécificité dans une approche holistique et multidisciplinaire de la santé. Plus spécifiquement, nos activités sont guidées par l'interconnexion indissociable de la santé de l'homme, de l'animal et de leur environnement (le concept « One health » ou « Une seule santé »). Dans cette optique, en combinant plusieurs angles de recherche, Sciensano contribue d'une manière unique à la santé de tous.

Issu de la fusion entre l'ancien Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) et l'ex-Institut scientifique de Santé publique (ISP), Sciensano s'appuie sur plus de 100 ans d'expertise scientifique.



Sciensano

Epidémiologie et santé publique

Epidémiologie des maladies infectieuses

Janvier 2020 • Bruxelles • Belgique
Numéro de dépôt : D/2020/14.440/5



Auteur

MARIE LESENFANTS

.

Co-auteurs

CHLOE WYNDHAM-THOMAS

.

SOPHIE QUOILIN

Cette étude a été réalisée et financée par Sciensano

Le service Epidémiologie des maladies infectieuses de Sciensano remercie toutes les personnes ayant contribué à l'élaboration de ce rapport. Un merci particulier aux collègues Adrien Lajot, le Dr. Laura Cornelissen, le Dr. Stéphanie Jacquinet, Tine Grammens, le Dr. Ilse Peeters, Sofieke Klamer, Ledia Jani et Veerle Boonen.

Merci aussi au Dr. Erwin Duizer du RIVM pour sa collaboration et son ouverture, ayant contribué grandement à la qualité de ce rapport. Enfin, merci au CNR Entérovirus, et particulièrement au Dr. Elke Wollants, ainsi qu'au Dr. Bavo Verhaegen du Service des pathogènes alimentaires de Sciensano, pour leur collaboration et leur intérêt dans la présente étude.

Merci de citer cette publication comme suit : Lesenfants M, Quoilin S, Wyndham-Thomas C. Surveillance environnementale des poliovirus en Belgique. Bruxelles, Belgique : Sciensano ; 2020. Numéro de rapport : D/2020/14.440/5.

TABLE DES MATIÈRES

ACRONYMES ET DÉFINITIONS	7
RÉSUMÉ	9
1. CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	11
2. PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE	12
2.1. CONTEXTE GLOBAL DE SURVEILLANCE DE LA POLIOMYÉLITE	12
2.2. FONCTIONNEMENT DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE	13
2.3. VALEUR AJOUTÉE DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE	13
2.4. LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE DANS LE CONTEXTE BELGE.....	14
3. MÉTHODOLOGIE SUIVIE	15
4. EXIGENCES OPÉRATIONNELLES	18
4.1. STRUCTURE GÉNÉRALE DU SYSTÈME DE SURVEILLANCE.....	18
4.2. SENSIBILITÉ DE DÉTECTION DU SYSTÈME DE SURVEILLANCE.....	18
4.3. PRÉLÈVEMENTS EN ÉGOUT ET EN STEP.....	19
4.4. EXIGENCES ANALYTIQUES À LA DÉTECTION DE PV ET NPEV	20
4.5. EXIGENCES ORGANISATIONNELLES POUR UNE SURVEILLANCE DE QUALITÉ	22
5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT	23
5.1. POPULATIONS PRÉSENTANT UN PLUS HAUT RISQUE DE CONTRACTER LE PV.....	23
5.2. SÉLECTION DES SITES DE CATÉGORIE 1 – CIBLANT LES POPULATIONS À PLUS HAUT RISQUE DE CONTRACTER LE PV.....	25
5.3. SÉLECTION DES SITES DE CATÉGORIE 2 – COUVRANT UNE PLUS GRANDE PART DE LA POPULATION	27
5.4. SÉLECTION DES SITES DE CATÉGORIE 3 – ASSOCIÉS AUX POTENTIAL ESSENTIAL FACILITIES	30
5.5. ECHANTILLONNAGE DES SITES	31
6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS	36
6.1. APERÇU GÉNÉRAL DES SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS.....	36
6.2. ACTEURS PROPOSÉS.....	37
6.3. PRÉSENTATION DES DIFFÉRENTS SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS ET ANALYSE BUDGÉTAIRE.....	39
6.4. SYNTHÈSE DE L'ANALYSE BUDGÉTAIRE DES SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS	44
7. PLANIFICATION DE LA MISE EN ŒUVRE DU SYSTÈME	47
7.1. CALENDRIER ET TÂCHES PRINCIPALES DU COORDINATEUR DE PROJET.....	47
7.2. SURVEILLANCE DE ROUTINE, ET SURVEILLANCE RENFORCÉE	49
7.3. FLUX DE COMMUNICATION EN CAS D'ÉCHANTILLON PV-POSITIF	49
8. CONCLUSIONS	51
BIBLIOGRAPHIE	52
ANNEXES	55
ANNEXE 1 – IMPACT DU SCHÉMA VACCINAL SUR L'IMMUNITÉ ET LA TRANSMISSION DU POLIOVIRUS....	55
ANNEXE 2 – LISTE DES PERSONNES CONSULTÉES.....	57
ANNEXE 3 – LISTE DES ENTITÉS CONSULTÉES, PRÉSENTÉE PAR THÉMATIQUE DE RECHERCHE	60

Table des matières

ANNEXE 4 – PROTOCOLE D'ANALYSE DES PV ET NPEV DANS LES ÉCHANTILLONS D'EAUX USÉES – PRÉSENTATION DES ÉTAPES IDENTIFIÉES COMME ESSENTIELLES À LA QUALITÉ DES ANALYSES	61
ANNEXE 5 - EXIGENCES DE SENSIBILITÉ DU SYSTÈME	62
ANNEXE 6 – BUDGET DÉTAILLÉ DE LA PARTIE « LABORATOIRE ET ANALYSES » - SCÉNARIOS 2 ET 3	64

ACRONYMES ET DÉFINITIONS

CGRA:	Commissariat Général aux Réfugiés et Apatrides
CNR (NRC) :	Centre (laboratoire) national de référence (National Reference Center)
cVDPV :	Poliovirus circulant dérivé d'une souche vaccinale (circulating vaccine-derived poliovirus)
Eaux claires :	Eaux pluviales, sources, drains, ...
Eaux usées domestiques :	Ensemble des eaux vannes (toilettes) et des eaux grises (cuisine, sanitaire, machine à laver, ...) provenant des activités domestiques normales des ménages
Eaux usées :	Dénomination générique utilisée dans le rapport pour l'ensemble des eaux du réseau d'assainissement, qu'il s'agisse des eaux des égouts, des collecteurs ou des STEPs
Eaux vannes :	Part des eaux usées domestiques provenant des toilettes
EH :	Unité d'Equivalent-Habitant, utilisée en traitement des eaux usées comme unité de grandeur représentant une charge polluante (volume et concentration) type, fixe. Pour le cas des eaux usées domestiques, 1 EH équivaut à 1 habitant. Pour la présente étude, nous poserons 1 EH = 1 habitant situé dans la zone couverte par le point de collecte.
EV :	Entérovirus, y inclus le Poliovirus (PV)
floculation :	Processus physico-chimique au cours duquel des matières en suspension dans un liquide s'agglomèrent pour former des particules plus grosses, généralement très poreuses, nommées floccs. Les floccs sédimentent généralement beaucoup plus rapidement que les particules primaires dont ils sont formés.
GAPIII :	« Plan d'action mondial de l'OMS (Global Action Plan) visant à réduire au minimum le risque d'exposition au PV associé aux établissements après l'éradication par type des poliovirus sauvages et l'arrêt progressif de l'utilisation du vaccin antipoliomyélitique oral » (WHO, 2015)
GPEI:	Initiative mondiale pour l'éradication de la Poliomyélite (Global Polio Eradication Initiative) – partenariat public-privé mené par les gouvernements nationaux et les cinq partenaires suivants, OMS, Rotary International, les Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies (US Centers for Disease Control and Prevention - CDC), l'UNICEF et la fondation Bill & Melinda Gates.
GPL :	Global Polio Laboratory – laboratoire appartenant au réseau européen des laboratoires Polio régionaux
Guidelines du GAPIII :	Guidelines ayant pour objet de réduire le nombre d'installations qui détiennent le virus de la polio dans le contexte du plan mondial d'éradication de la Poliomyélite de l'OMS
IBSA:	Institut Bruxellois de Statistique de d'Analyse

Acronymes et définitions

InBW :	résultat de la fusion entre l'IBW (Intercommunale du Brabant wallon) et l'IECBW (Intercommunale des Eaux du Centre du Brabant wallon)
IPV :	Vaccin polio inactivé (inactivated poliovirus vaccine)
iVDPV :	Immunodeficiency-related vaccine-derived poliovirus
LCR (CSF) :	Liquide Céphalo-Rachidien (CerebroSpinal Fluid)
LPV:	Poliovirus vivant (Live Poliovirus), i.e., WPV, OPV, ou VDPV (voir définitions)
NCC :	Commission nationale pour la certification de l'éradication de la Poliomyélite (National Certification Committee for Poliomyelitis Eradication)
NPEV :	Entérovirus Non Polio (Non-Polio Entérovirus)
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
VPO (OPV):	Vaccin antipoliomyélitique oral (oral poliovirus)
PEF(s) :	Poliovirus Essential Facilities – installation(s) détenant le virus de la polio, qui, après application des guidelines du GAPIII (voir définition), sont toujours présentes dans le paysage national ; il s'agit en quelque sorte des installations les plus importantes/sensibles, pour lesquelles la détention/production de poliovirus reste incontournable
PFA (AFP) :	Paralyse Flasque Aiguë (Acute Flaccid Paralysis)
pI :	Point Isoélectrique
Polio :	Poliomyélite
PV:	Poliovirus
PV SL :	Souche vivante atténuée issue du vaccin polio oral - VPO (Poliovirus Sabin-Like)
RCC :	Commission régionale pour la certification de l'éradication de la Poliomyélite (European Regional Commission for the Certification of Poliomyelitis Eradication)
RIVM:	Institut National pour la Santé Publique et l'Environnement, des Pays-Bas (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu)
RRL :	Laboratoire régional de référence Polio ; il s'agit d'un GPL (voir définitions) qui est aussi laboratoire de référence Polio, dans le sens où il est accrédité pour réaliser les test de confirmation des échantillons Polio-positifs
Sensibilité du système :	Taille de population maximale pour laquelle le système est capable de détecter une seule personne excrétrice de poliovirus, considérant les paramètres suivants : nature du prélèvement, positionnement du prélèvement sur le réseau d'assainissement, volume de l'échantillon, méthodes de détection analytiques,
STEP:	STation d'EPuration des eaux usées
UF:	UltraFiltration
VAPP :	Poliomyélite associée à l'utilisation du vaccin (vaccine associated paralytic polio)
VDPV:	Poliovirus dérivé d'une souche vaccinale (Vaccine-Derived Poliovirus)
WPV :	Poliovirus sauvage (Wild Poliovirus)

RÉSUMÉ

La présente étude de faisabilité concerne la surveillance environnementale des poliovirus (PV) en Belgique.

La surveillance environnementale des PV est aujourd'hui envisagée en Belgique car, depuis 2016, le pays a été rétrogradé, par la Commission Régionale pour la Certification de l'éradication de la poliomyélite (RCC), à la catégorie de « risque intermédiaire de transmission de la Polio »¹. Les raisons de cette rétrogradation sont (i) la faible qualité de la surveillance actuelle, qui se base principalement sur les cas de Paralysies Flasques Aiguës (PFA)², et (ii) la demande de la Belgique de maintenir plusieurs établissements manipulant le PV, appelés « Poliovirus Essentiel Facilities » (PEF). Dans ce contexte, la surveillance environnementale des PV en Belgique constitue un levier d'amélioration de la surveillance de la Poliomyélite, système complémentaire à la surveillance clinique des entérovirus (EV) et des cas de PFA. La surveillance environnementale joue également un rôle de détection précoce, car elle inclut les personnes porteurs sains mais non malades³, ce que ne permet pas la surveillance clinique.

Le fonctionnement de la surveillance environnementale de la Poliomyélite repose sur le fait qu'une personne infectée par le PV, qu'elle soit porteur sain ou malade, excrète le virus dans ses selles. La circulation du PV dans une population peut de ce fait être surveillée via les eaux des égouts. Un réseau de surveillance environnementale se compose de plusieurs sites de prélèvement d'eaux usées. Ces prélèvements sont analysés en laboratoire afin de suivre la circulation éventuelle de PV dans les populations choisies. Les PV recherchés sont le virus sauvage (WPV) et les poliovirus circulants dérivés d'une souche vaccinale (cVDPV).

Sur base des recommandations de l'OMS pour la surveillance environnementale des PV⁴, deux types de populations devront être couvertes par la surveillance, à savoir des populations identifiées comme plus à risque de Polio et qui feront l'objet d'une surveillance plus sensible, et des populations de plus grande taille, davantage représentatives de la démographie belge. En outre, la surveillance environnementale est élargie à l'ensemble des entérovirus, qui sont indispensables au critère de sensibilité du système, tel que défini par l'OMS (au moins 50% des échantillons doivent être positifs aux entérovirus, sur une période de 6 mois). Enfin, afin de garantir que les prélèvements soient suffisamment sensibles que pour pouvoir détecter le PV en laboratoire, les prélèvements en égout couvriront des populations entre 1 000 et 3 000 habitants, et les prélèvements en station d'épuration des eaux usées (STEP), entre 100 000 et 300 000 habitants.

Ces exigences opérationnelles prises en compte, les principaux résultats de l'étude sont l'identification des zones à surveiller par le réseau de surveillance environnementale belge et les sites des prélèvements y correspondant, l'élaboration de différents scénarios organisationnels pour les analyses des échantillons, et l'évaluation budgétaire du projet.

Les zones à surveiller ont été choisies sur base d'une évaluation du risque de réintroduction du PV. Ceci a mené à l'identification de trois catégories de sites pour les prélèvements des échantillons d'eaux usées : 1. les sites couvrant les populations à plus haut risque de PV ; 2. les sites couvrant une plus grande population ; 3. un établissement « PEF » manipulant le PV.

1. La 1ère catégorie concerne les sites couvrant les populations à plus haut risque en termes de réintroduction de PV. Pour ces zones, les prélèvements d'eaux usées se font en égout et couvrent une taille de population plus restreinte (< 3 000 personnes), ce qui permet au système d'être suffisamment sensible pour détecter l'apparition d'une seule personne infectée au PV. Les zones identifiées comme à plus haut risque sont (i) celles à haute densité de populations étrangères issues d'un pays à risque Polio et (ii) les centres d'accueil hébergeant des demandeurs d'asile issus de pays à risque Polio.

1 European Regional Commission (RCC) for certification of poliomyelitis eradication, May 2019

2 Annual update on Polio eradication activities, 2018, Belgium. Belgian National Certification Committee for the Eradication of Polio (Standardized WHO reporting form)

3 90 à 95% de toutes les infections au poliovirus sont asymptomatiques ; la Poliomyélite paralytique arrive dans moins de 1% des cas d'infection. (ECDC, 2018)

4 WHO, 2003 – Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation

Résumé

2. Les sites de 2e catégorie couvrent une plus grande population et sont davantage représentatifs de la démographie belge. Les STEPs retenues pour cette catégorie 2 ont une taille comprise entre 100 000 et 300 000 habitants. Deux STEPs ont été choisies, l'une à Bruxelles et l'autre à Anvers, en tant que plus grandes villes belges en termes de nombre d'habitants, et avec les plus grandes proportions d'étrangers.

3. L'usine de production de vaccin de poliovirus de la firme GSK, située à Rixensart, a été choisie comme site de 3e catégorie. Il s'agit en réalité du « PEF » le plus critique de Belgique. Ce site ferait l'objet d'une surveillance plus poussée, tenant compte du caractère sensible du site.

La faisabilité technique des prélèvements a été confirmée pour l'ensemble des sites retenus. Un plan d'échantillonnage est également proposé, et prévoit une fréquence de collecte des échantillons d'une fois par 6 semaines. Cette fréquence a été définie de façon à permettre une détection précoce d'un PV au plus tard 50 jours après l'introduction du virus au sein de la population surveillée⁵.

Nous proposons trois scénarios organisationnels pour la réalisation des analyses. Deux laboratoires belges ont été retenus sur base de leur expertise analytique proche de celle exigée pour l'identification des poliovirus dans les échantillons d'eaux usées. C'est à partir de l'analyse des ressources matérielles et humaines de ces laboratoires que les scénarios organisationnels ont été définis, ainsi que leurs budgets respectifs. Les budgets cités prennent en compte toute les étapes du projet :

1. Un 1er scénario propose de sous-traiter directement les analyses microbiologiques au RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu), institut qui compte plus de 20 ans d'expérience en surveillance environnementale et dont le laboratoire international spécialisé Polio (GSL – Global Specialized Laboratory), et accrédité OMS, réalise déjà des analyses pour d'autres pays.

L'estimation budgétaire annuelle est de 166 500 € (soit 666 000 € pour les 4 ans)

2. Un 2e scénario propose de répartir le travail d'analyse entre deux laboratoires : le Service des pathogènes alimentaires de Sciensano pour la réalisation de l'ensemble des analyses, excepté le séquençage des EV, et le Centre national de référence EV (CNR EV) pour le séquençage. Cet ancrage vise à valoriser au mieux l'expertise et les ressources de chaque laboratoire.

L'estimation budgétaire annuelle est de 143 000 € (573 000 € – 4 ans)

3. Un 3e scénario propose d'investir dans un seul laboratoire, à savoir le CNR Entéro.

L'estimation budgétaire annuelle est de 149 000 € (597 500 € – 4 ans)

Le scénario 1, à savoir la sous-traitance des analyses au RIVM (Pays-Bas) est le plus onéreux. Bien que le plus simple à mettre en œuvre, ce scénario présente le désavantage de ne pas investir dans les institutions belges. Quant aux scénarios 2 et 3, ils présentent chacun leurs propres avantages et inconvénients, présentés dans la présente étude, et demandent des ressources budgétaires proches. Pour les départager, notre avis serait de sélectionner le laboratoire partenaire principal sur base d'une remise de proposition, visant à (i) affiner le budget nécessaire pour l'analyse des échantillons d'eaux usées, sur base de leurs ressources et (ii) à prendre en considération les motivations du laboratoire dans la surveillance environnementale.

En parallèle à ces résultats, deux autres éléments organisationnels clés ont été identifiés pour le succès du projet. Le premier concerne la durée de la surveillance environnementale des PV qui est définie à 4 ans. Ces 4 années permettront de disposer de suffisamment de résultats pour en tirer les conclusions relatives à la circulation éventuelle de PV sur le territoire belge ; après quoi, une nouvelle évaluation du risque de réintroduction du virus devra être réalisée. Deuxièmement, étant donné le caractère nouveau de la surveillance environnementale en Belgique, une place importante devra être accordée à la coordination du système dans son ensemble. Il s'agit pour nous d'un élément indispensable au succès du projet.

5 Benschop, K. S. M., Avoort, H. G. Van Der, Jusic, E., Vennema, H., Binnendijk, R. Van, & Duizer, E. (2017). Polio and Measles Down the Drain : Environmental Enterovirus Surveillance in the Netherlands , 2005 to 2015. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(13), 1–12.

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Depuis 2016, la Belgique a été rétrogradée, par la Commission Régionale pour la Certification de l'éradication de la Poliomyélite (RCC), à la catégorie de « risque intermédiaire de transmission de la polio » (*European Regional Commission (RCC) for certification of poliomyelitis eradication, May 2019*).

Les principales raisons à cette rétrogradation sont :

- ▶ La faible qualité de la surveillance actuelle pour la surveillance des entérovirus (EV) et des cas de Paralysies Flasques Aiguës (PFA) (*Sciensano, 2018a - Annual update on Polio eradication activities. In WHO report*) ;
- ▶ La demande de maintenir plusieurs établissements manipulant le poliovirus (PV), appelés « Poliovirus Essential Facilities » (PEF) dans le contexte du GAP III . Le GAP III étant le Plan d'action mondial de l'OMS visant à réduire au minimum le risque d'exposition au PV associé aux établissements qui détiennent et/ou manipulent le PV

Pour pallier à cette situation, la RCC a émis deux recommandations principales (*European Regional Commission (RCC) for certification of poliomyelitis eradication, May 2019*), à savoir :

1. La maintenance d'une haute couverture vaccinale de la population
2. Augmenter la qualité de la surveillance du PV

Suite à ces recommandations, le cabinet ministériel du SPF Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement, a commandité Sciensano pour la réalisation de la présente étude de faisabilité d'une Surveillance environnementale de la Polio en Belgique (*Lettre cabinet SPF santé 17/08/2018 - concerne Etude de faisabilité Surveillance Environnementale Polio, 2018*). Cette étude s'inscrit dans le 2e point des recommandations émises par la RCC.

L'objectif de la présente étude de faisabilité est d'évaluer et proposer différents scénarios possibles pour la surveillance environnementale des poliovirus en Belgique. Pour chaque scénario, nous dressons les principaux avantages et inconvénients, ainsi qu'une estimation budgétaire.

2. PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

2.1. CONTEXTE GLOBAL DE SURVEILLANCE DE LA POLIOMYÉLITE

La surveillance de la Polio s'inscrit dans l'« Initiative mondiale d'éradication de la Poliomyélite », dont l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) est partenaire. Son objectif est d'une part d'éradiquer les poliovirus (PV) de tous types, et d'autre part de s'assurer que leur confinement est sécurisé.

Le premier objectif d'éradication requiert différentes actions, qui dépendent de la situation propre au pays concerné. Un outil essentiel à l'éradication réside dans la surveillance des PV. Cette surveillance peut être environnementale, via l'analyse d'échantillons d'eaux usées, ou clinique, via l'analyse d'échantillons prélevés sur les patients, ou encore une combinaison des deux.

Quant au second objectif de confinement, il concerne les installations détenant du PV et vise à réduire le risque d'exposition au PV émanant de ces établissements. Pour diminuer ce risque, chaque pays s'est vu demander de réduire à un minimum le nombre de ses installations détenant du PV. Cette demande de réduction des installations constitue un des points importants des guidelines du « Global Action Plan III » - GAPIII (WHO, 2015). Ces guidelines se positionnent dans le contexte d'après éradication des poliovirus sauvages, ainsi que d'arrêt progressif de l'utilisation du vaccin antipoliomyélitique oral (VPO). C'est dans ce contexte que la dénomination de PEFs, pour Poliovirus Essential Facilities, a vu le jour. Les PEFs sont les seuls établissements qui, suite à la réduction effective de leur nombre par le pays en question, sont encore autorisés à détenir des PV.

Le PV est un virus à ARN appartenant au genre des Entérovirus. On distingue les poliovirus sauvages (WPV) et les poliovirus dérivés d'une souche vaccinale (VDPV). Les poliovirus sauvages sont les isolats du virus circulant naturellement, pouvant provoquer la Poliomyélite. Il en existe 3 sérotypes, à savoir les WPV1, 2 ou 3. Les types 2 et 3 ont été déclarés éradiqués, respectivement en 2015 et en 2019, alors que le type 1 est encore en circulation au Pakistan et en Afghanistan⁶. Quant aux poliovirus dérivés d'une souche vaccinale, ils proviennent de mutations touchant les souches contenues dans le vaccin oral (OPV). Parmi les VDPV, un sous-type important, également responsable de la Polio, est le cVDPV. Celui-ci correspond au VDPV redevenu virulent suite à une circulation prolongée (12-18 mois) du virus dans l'environnement. Cela est rendu possible dans les populations sous-immunisées.

Les cVDPV sévissent essentiellement en Afrique, avec un foyer important de cVDPV2 en République Démocratique du Congo (RDC). En août 2019, les pays d'Afrique touchés par le cVDPV2 sont la RDC, le Mozambique, le Niger, le Nigeria, la Somalie, l'Éthiopie, le Ghana, la République centrafricaine, le Bénin, l'Angola. Notons qu'en Asie, la Chine est également encore touchée par le cVDPV2. Le cVDPV1 était présent au Myanmar, en Papouasie Nouvelle Guinée et en Indonésie alors que le cVDPV3 était encore présent en Somalie⁷. Pour la liste officielle et actualisée de ces pays, se référer au site de l'Initiative mondiale pour l'éradication de la Poliomyélite⁸.

Dans l'objectif d'éradication mondiale de la Poliomyélite, les formes de PV visées par la surveillance sont les types sauvages (WPV), ceux dérivés de vaccins (cVDPV), ainsi que les souches Sabin-Like (SL) provenant du vaccin oral atténué (OPV). Les analyses de laboratoire doivent permettre l'identification de ces différents types de poliovirus, ainsi que de leur sérotype (1, 2 ou 3).

Pratiquement, il s'agit de minimiser les risques de réintroduction de WPV ainsi que l'émergence de cVDPV.

6 Le Nigeria est le 3e et dernier pays encore repris dans la liste officielle des pays infectés par le WPV1 mais aucun cas n'y a été déclaré depuis le 27 septembre 2016

7 L'ensemble de ces chiffres date de août 2019

8 <http://polioeradication.org/polio-today/polio-now/this-week/>

2. PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

L'année 2019 a été marquée par une augmentation de la circulation des WPV et cVDPV, avec 19 pays affectés comparés à seulement 6 en 2018 (chiffres décembre 2019). La vigilance de tous les pays reste donc d'actualité, et cela passe notamment par la mise en œuvre d'une surveillance de qualité.

2.2. FONCTIONNEMENT DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

L'atteinte d'un système de surveillance Polio de qualité peut passer par la mise en place d'une surveillance environnementale, complémentaire à la surveillance clinique des EV et des cas de PFA. La surveillance environnementale se justifie d'autant plus pour les pays ayant soit un faible taux de couverture vaccinale, et/ou présentant des zones plus à risque en termes de réintroduction de PV, soit pour les pays dont la surveillance des cas de PFA est insuffisante. Un dernier facteur motivant la mise en place d'une telle surveillance réside dans la présence d'établissements détenant du PV sur le territoire. Ces établissements correspondent aux Poliovirus Essential Facilities – PEFs (voir explications point 2.1.) et leur présence implique un risque d'exposition non nul au PV pour le pays qui les « héberge ».

La surveillance environnementale de la Polio repose sur le fait qu'une personne infectée par le PV, qu'elle soit malade ou porteur sain, excrète le virus dans ses selles.

Les PV excrétés se retrouvent dans les eaux vannes des ménages (part des eaux usées domestiques provenant des toilettes), et suivent ensuite le parcours d'assainissement habituel : égouts, collecteurs, station d'épuration des eaux usées (STEP), et enfin, rejoignent les eaux de surface (rivières). Un réseau de surveillance environnementale regroupe plusieurs sites de prélèvement d'eaux usées. Des prélèvements périodiques sont réalisés au niveau de ces sites, et sont analysés pour la présence de PV. La surveillance environnementale permet donc de surveiller la circulation du PV dans des zones de populations ciblées.

Le prélèvement, ou échantillonnage, peut se faire sur différentes parties du parcours d'assainissement, moyennant des méthodologies de collecte différentes. Chaque point de prélèvement couvre une population définie, de taille plus ou moins importante, selon que l'on se trouve plus en amont ou plus en aval du réseau, depuis les égouts jusqu'à la STEP. Le choix du point de prélèvement définit d'une part la taille de la population surveillée, et d'autre part impacte la sensibilité de la surveillance.

Afin de vérifier que la surveillance environnementale est suffisamment sensible pour la détection des PV, l'OMS recommande d'utiliser l'indicateur suivant:

Le système de surveillance détecte des PV ou NPEV (Entérovirus Non Polio) dans au moins 50% des échantillons collectés, et ce sur une période de 6 mois.

Dans les pays où le PV ne circule plus, dont la Belgique, il est dès lors nécessaire d'étendre la surveillance environnementale du PV à l'ensemble des entérovirus (EV).

2.3. VALEUR AJOUTÉE DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

La Surveillance Environnementale donne un aperçu de la circulation de PV au sein d'une population déterminée.

Ses principales valeurs ajoutées sont :

- Un rôle de détection précoce.

La Poliomyélite, étant une maladie asymptomatique dans 90 à 95% des cas⁹, la surveillance environnementale offre l'avantage de pouvoir détecter des PV excrétés par des personnes infectées mais non malades; ce que ne permet pas la surveillance clinique, qui se base sur le recensement des symptômes et de cas de PFA.

Dans un contexte de surveillance clinique, le temps nécessaire à la détection d'un cas de PFA est d'environ 500 jours après l'introduction du virus dans la population, alors qu'avec la surveillance environnementale, on prétend pouvoir réduire cette durée à environ 50 jours (Benschop et al., 2017).

⁹ 90 à 95% de toutes les infections au poliovirus sont asymptomatiques ; la Poliomyélite paralytique arrive dans moins de 1% des cas d'infection. (ECDC, 2018)

2. PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

- La capacité de surveiller spécifiquement des populations considérées comme étant plus à risque

Le suivi des PV dans les eaux usées permet de cibler des populations sur base de critères prédéfinis, sans avoir à passer par la prise d'échantillons cliniques. Un unique prélèvement d'eaux usées représente une population de taille importante, pouvant aller de 1 000 à 300 000 personnes.

2.4. LA SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE DANS LE CONTEXTE BELGE

En Belgique, la vaccination contre la Polio a été recommandée en 1958 et est devenue obligatoire à partir de 1967. Entre 1963 et 2000, le vaccin antipoliomyélitique oral (OPV) a été utilisé dans les programmes de vaccination. Depuis janvier 2001, l'OPV a été remplacé par le vaccin antipoliomyélitique inactivé (IPV). Concrètement, cela signifie qu'environ 25% de la population (< 20 ans selon les chiffres de 2019) est vaccinée avec l'IPV, tandis que les 75% restants seraient vaccinés avec l'OPV.

La couverture vaccinale est au-dessus de l'objectif fixé pour l'éradication de la Poliomyélite (> 90% de couverture pour trois doses), et ce, depuis 1989, année de la première enquête vaccinale. Cette haute couverture vaccinale rend le risque d'épidémie en Belgique négligeable, puisque la majorité de la population est protégée contre la maladie. Le dernier cas autochtone de Poliomyélite remonte à 1979, et le dernier cas importé à 1989.

Néanmoins, le risque de circulation du poliovirus sur le territoire n'est pas nul. En effet, les personnes vaccinées à l'IPV (~ 25% population belge), bien qu'elles n'aient aucun risque de contracter la maladie, restent excrétrices du virus en cas de contact avec un poliovirus vivant (LPV, i.e. cVDPV, OPV ou WPV)¹⁰ (Tebbens *et al.*, 2013).

Par conséquent, tant que le virus circulera dans le monde, un cas de Poliomyélite pourrait être importé en Belgique et le virus transmis à une ou plusieurs personnes, non ou incomplètement vaccinées.

Un système de surveillance sensible est donc crucial afin de démontrer l'absence de PV circulant et de détecter rapidement toute réintroduction du virus. Comme cité dans le « Contexte et Objectifs de l'étude », la surveillance Polio actuelle, basée essentiellement sur la notification obligatoire des cas de PFA survenant chez les < 15 ans, manque de sensibilité (Sciensano, 2018a - *Annual update on Polio eradication activities. In WHO report*) ; il est donc important d'évaluer la faisabilité d'une surveillance environnementale complémentaire.

10 Cfr Acronymes et définitions

3. MÉTHODOLOGIE SUIVIE

Pour réaliser cette étude, plusieurs approches complémentaires ont été utilisées :

1. *L'étude des recommandations internationales relatives à la surveillance de la poliomyélite :*

Les recommandations de l'OMS relatives à la surveillance environnementale, les règles de biosécurité et le cadre réglementaire du GAPIII ont été étudiés et utilisés pour la réalisation de cette étude (*WHO, 2003 – Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation*).

2. *L'étude des systèmes de surveillance environnementale établis en Europe :*

Les systèmes de surveillance environnementale établis en Europe ont été identifiés. L'expérience des pays voisins, à savoir la France¹¹, le Luxembourg¹² et les Pays-Bas, a été étudiée afin d'en tirer les principales leçons et facteurs de réussite. Nous nous sommes basés sur les publications scientifiques disponibles et la consultation directe des experts impliqués dans leur système de surveillance.

L'expérience des Pays-Bas a été particulièrement étudiée et considérée comme une référence en la matière. La surveillance néerlandaise est coordonnée par le laboratoire international spécialisé Polio du RIVM (Institut National pour la Santé Publique et l'Environnement); laboratoire accrédité OMS et disposant d'une expertise de plus de 20 ans en surveillance environnementale des PV et NPEV.

3. *La consultations d'experts:*

Ce travail s'est appuyé sur une large consultation d'acteurs liés aux thèmes abordés dans la surveillance environnementale des PV et NPEV. Ces consultations ont couvert les thèmes suivants :

- Le cadre institutionnel « Polio »
- La distribution des communautés étrangères de Belgique
- Le secteur de l'eau, et plus particulièrement des eaux usées
- Les eaux de rejet de GSK
- L'expertise de laboratoire requise
- Les PEFs (voir définitions) et le GAPIII
- Les réfugiés et la vaccination
- La surveillance environnementale

Les coordonnées de l'ensemble des experts consultés, et entités associées, sont présentées en Annexe 2 et 3. Les résultats et les décisions découlant de ces consultations sont synthétisées dans un document de travail annexe (*Lesenfants, 2019c – Document de synthèse reprenant les informations relatives à la faisabilité technique des prélèvements et aux choix des sites*). Parmi ces consultations diverses, nous pouvons souligner:

- La rencontre du Dr. Erwin Duizer, responsable du laboratoire international spécialisé Polio (GSL), du RIVM (Institut néerlandais pour la santé publique et l'environnement), pour tirer les enseignements de leur expérience en surveillance environnementale PV et NPEV ;
- La rencontre du Service Biosécurité et Biotechnologie de Sciensano, afin de prendre connaissance du cadre réglementaire concernant les établissements contenant du PV, à savoir les PEFs ;

¹¹ La France a arrêté sa surveillance Environnementale EV en novembre 2018

¹² Le Grand-Duché de Luxembourg réalise quant à lui une surveillance des EV plus sporadique, et n'est pas officiellement repris dans la liste OMS des pays d'Europe disposant d'une surveillance environnementale Polio

3. MÉTHODOLOGIE SUIVIE

- La consultation des entités actives dans le traitement des eaux usées, à savoir, l'InBW, Vivaqua et Aquiris, afin d'identifier les exigences techniques pour les prélèvements d'eaux usées sur le réseau d'assainissement belge ;
- La consultation de laboratoires de microbiologie, afin de dresser l'inventaire de l'expertise belge existante en terme d'analyse virale d'échantillons environnementaux et d'analyse d'échantillons pour l'identification de PV et NPEV ;
- La rencontre du principal établissement manipulant le PV en Belgique (GSK Rixensart) afin d'évaluer la pertinence d'intégrer cet établissement dans le réseau de surveillance environnementale.

4. Une revue de la littérature :

La revue de littérature réalisée a couvert un nombre important de thèmes comprenant notamment la surveillance environnementale, la microbiologie, l'épidémiologie et l'étude de risque. La liste exhaustive des références utilisées est présentée en fin de rapport. Les références bibliographiques les plus pertinentes pour la réalisation de cette étude se résume aux suivantes :

- Le fonctionnement et la faisabilité d'une surveillance environnementale ; (*Antona et al., 2005; Benschop et al., 2017; Lodder et al., 2012*)
- L'immunité et la transmission du PV – avec étude des concentrations de poliovirus attendues dans les égouts ; (*Tebbens et al., 2013*)
- Les études de risques réalisées sur le déversement accidentel de PV, ou sa circulation dans la population ; (*Cebedeau, 2014; Duizer E, Ruijs WL, van der Weijden CP, 2017; Duizer, Rutjes, Husman, & Schijven, 2016; Unité R&D Aquapôle - ULg, 2014*)
- La gestion du réseau d'assainissement en Belgique – Les facteurs clés et les facteurs limitants à prendre en compte dans le design du réseau de surveillance ; (*Aquawal, 2012; Européennes, 1991; Lesenfants, 2019, 2019b*)
- L'attractivité des poliovirus – attractivité pour les boues résiduaires des STEPs. (*Thomassen, Eikenhorst, Pol, & Bakker, 2013; Vandermeersch, 2006*)

5. L'utilisation de diverses sources de données:

Pour le calcul de sensibilité du réseau d'assainissement :

- Les guidelines de l'OMS pour la surveillance environnementale du PV (*WHO, 2003*) ;
- Une étude sur la faisabilité quantitative de la surveillance environnementale du PV (*Lodder et al., 2012*) ;
- Une revue scientifique traitant de l'immunité et la transmission du PV (*Tebbens et al., 2013*) ;
- Les informations relatives au réseau d'assainissement belge :
 - Guide pratique à l'usage des communes et relatif à l'assainissement (*Aquawal, 2012*);
 - Directive du Conseil du 21 mai 1991 relative au traitement des eaux urbaines résiduaires (91/271/CEE) (*Européennes, 1991*) ;
 - Plan d'assainissement par sous-bassin hydrographique - application WebPASH (*SPGE, n.d.*) ;
 - Renseignements techniques sur le système d'assainissement belge, informations SPGE complétées par l'INASEP (*Lesenfants, 2019, 2019b*).
- L'étude du système de surveillance environnementale EV des Pays-Bas; pour la limite de détection analytique supposée (*Benschop et al., 2017*).

Pour le choix des sites de prélèvement :

- La liste officielle des pays à risque Polio (*GPEI, n.d.-b - Latest weekly information on polio - cases cVDPV and WPV, per country*) ;

3. MÉTHODOLOGIE SUIVIE

- La liste des établissements manipulant du PV (*Sciensano, 2018a – Annual update on polio eradication activities. In WHO report*) ;
- Les statistiques des centres d'accueil pour demandeurs d'asile :
 - Les statistiques d'asile du CGRA - Commissariat Général aux Réfugiés et Apatrides (*cgra/cgvs, 2019*) ;
 - Liste centres accueil demandeurs asile - Partenaire, capacité, et localisation, situation septembre 2019 (*Fedasil 2019a*) ;
 - Petit Château - Capacité et occupation, situation au 31.07.2019 (*Fedasil, 2019b*).
- Les statistiques de distribution des communautés étrangères :
 - Acquisition de la nationalité belge, Top 5 - Chiffres 2018 (*Statbel, 2018*) ;
 - Statistiques de la nationalité afghane (à la naissance), présentées par secteurs statistiques, pour la municipalité d'Anvers, situation au 1/01/2018 – (*STATISTIK VLAANDEREN, 2018*) ;
 - Quartier Matonge, Statistiques de la distribution de la nationalité congolaise à la naissance, chiffres présentés par secteurs statistiques, IBSA & Statbel, Situation au 1er janvier 2016. Brussels. (*IBSA, 2016*) ;
 - Distribution des Communautés étrangères - par Région et Commune Bxl - 1.3.2.4. Nationalités à la naissance - IBSA - 2018 01 01. Bruxelles. (*IBSA, 2018a*) ;
 - Statistiques des nationalités à la naissance à Bruxelles, concerne Afghanistan, RDC, Pakistan. Top 10 des quartiers les plus représentés pour chacune des 3 nationalités. IBSA & SPF Economie - Statistics Belgium (Registre national), 1er janvier 2018. Brussels. (*IBSA, 2018b*) ;
 - Répartition de la communauté étrangère en Belgique, chiffres de 2017 (*statistiekvlaanderen, 2017*).

Pour l'établissement des budgets :

- Pour le prélèvement des échantillons :
 - Estimation du coût pour les prélèvements manuels en égout réalisée par Vivaqua pour Bruxelles (*Sciensano, 2019b, 2019c*)
- Pour le transport des échantillons :
 - Offre de prix « BPL » (*BPL, 2019*) ;
 - Offre de prix « DHL sameday » (*DHL, 2019*) .
- Pour les analyses microbiologiques :
 - Les coûts réels (2013) pour l'analyse des prélèvements de la surveillance environnementale française (*Service Parisien de Santé Environnementale, 2013 – Coût annuel du service de Virologie*)
- Pour la sous-traitance de l'analyse des échantillons environnementaux (eaux usées et boues) par le RIVM :
 - Estimation sur base de consultation d'expert, Dr. Erwin Duizer
- Pour les frais de formation :
 - Estimation réalisée en réunion de travail avec Dr. Erwin Duizer du RIVM

4. EXIGENCES OPÉRATIONNELLES

Les exigences opérationnelles constituent les fondations du système de surveillance environnementale poliovirus (PV) et entérovirus non-polio (NPEV).

Pour ce premier volet de l'étude de faisabilité, les exigences opérationnelles nécessaires à l'implémentation d'une surveillance environnementale de bonne qualité en Belgique sont identifiées:

- Exigences pour la structure générale du système de surveillance
- Exigences en termes de sensibilité du système de surveillance
- Exigences techniques relatives aux prélèvements réalisés en égouts et en STEP
- Exigences analytiques à la détection de PV et NPEV
- Exigences organisationnelles :
 - Exigences quant à la durée de la mise en œuvre de la surveillance environnementale ;
 - Exigences relatives à l'expertise analytique nécessaire à la détection des PV et NPEV dans les échantillons d'eaux usées ;
 - Exigences en termes de besoins matériels et de besoins en ressources humaines du laboratoire.

4.1. STRUCTURE GÉNÉRALE DU SYSTÈME DE SURVEILLANCE

Selon les recommandations générales de l'OMS (*Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. In Vaccine and Biologicals – WHO, 2003*), un système de surveillance environnementale de la poliomyélite doit :

1. Couvrir les populations les plus à risque de Poliomyélite
2. Viser une bonne représentativité géographique et démographique du pays

Les populations à plus grand risque de Poliomyélite étant limitées au sein de la Belgique, ne cibler qu'elles n'offrirait pas une bonne représentativité géographique ou démographique de l'ensemble du pays. Par conséquent, afin de remplir les exigences de l'OMS, la surveillance environnementale en Belgique doit combiner deux approches complémentaires: (1) le prélèvement d'échantillons au niveau de sites du réseau d'assainissement couvrant les populations à plus haut risque de contracter le PV et (2) le prélèvement d'échantillons au niveau de sites couvrant une plus grande part de la population. Par ailleurs, des prélèvements au niveau des sites couvrant les eaux usées issus de PEFs, sites détenant du PV et pouvant être responsables de réintroduction du virus, est indiqué.

Pour cette étude, les sites de prélèvements sélectionnés sont classés en 3 catégories distinctes :

Catégorie 1 – Ciblant les populations à plus haut risque de contracter le PV

Catégorie 2 – Couvrant une plus grande part de la population

Catégorie 3 – Sites associés aux Potential Essential Facilities (PEFs)

4.2. SENSIBILITÉ DE DÉTECTION DU SYSTÈME DE SURVEILLANCE

Tout programme de surveillance environnementale doit avoir une sensibilité de détection suffisante, c'est-à-dire avoir une haute capacité à détecter le PV lorsque celui-ci circule dans la population ciblée. La sensibilité est dite optimale si, dans le cas où une personne, parmi la population couverte, contracte et excrète du PV, l'analyse du prélèvement d'eaux usées en laboratoire permet la détection du PV.

4. EXIGENCES OPÉRATIONNELLES

La sensibilité des différents sites de prélèvements du système de surveillance tient compte de plusieurs paramètres liés à la méthode et à la localisation des prélèvements, ainsi qu'aux méthodes d'analyse utilisées. Parmi ces paramètres, on peut citer la nature du prélèvement (égout vs STEP), la dilution subie, le volume de l'échantillon, le facteur de concentration des eaux usées, ou encore les méthodes de détection analytiques.

La sensibilité visée pour le système peut être résumée comme suit, selon que le prélèvement se fasse en égout ou en STEP :

- **Réseau d'égouttage : 1/ 3000** – Sensibilité de détection d'1 personne sur 3 000 habitants
Afin que le système de surveillance environnementale soit capable de détecter une personne infectée par le PV parmi l'ensemble de la population couverte, nous viserons dès lors des sites de prélèvement en égout couvrant une population entre 1000 et 3000 habitants maximum.
- **STEP : 10/ 100 000** – Sensibilité de détection de 10 personnes sur 100 000 habitants
Pour les sites de prélèvement en STEP, nous viserons une population comprise entre 100 000 et 300 000 habitants, de façon à pouvoir détecter le PV lorsqu'au moins 10 personnes parmi l'ensemble de la population couverte sont excrétrices de PV.

Les chiffres présentés ci-dessus sont appuyés par une série d'hypothèses liées aux exigences du réseau d'assainissement belge (voir Annexe 5), ainsi qu'une étude de faisabilité sur la surveillance environnementale réalisée par les Pays-Bas, qui nous a permis d'approfondir et confirmer nos estimations (Lodder et al., 2012).

On voit que le réseau d'égouttage offre une plus grande sensibilité de détection que la STEP, mais couvre une plus petite population. Les sites de prélèvements sélectionnés en **Catégorie 1** (ciblant les populations à plus haut risque de PV) seront donc choisis sur le réseau d'égouttage, afin de pouvoir cibler des zones délimitées, pertinentes dans l'étude de populations à risque.

A l'inverse, les sites de **Catégorie 2** devront être situés au niveau d'une STEP, ce qui permet de couvrir des zones de populations plus larges, et de représenter davantage la démographie belge.

4.3. PRÉLÈVEMENTS EN ÉGOUT ET EN STEP

Des exigences sont identifiées pour la réalisation des prélèvements en égout et en STEP, et résumées dans le tableau 1 ci-dessous. Les conditions techniques pour le prélèvement en égout doivent être prises en compte dans le choix des sites de prélèvement, afin de garantir une faisabilité technique. Les prélèvements en STEP sont par définition plus simples à réaliser, car il n'y a qu'une localisation de site possible. Les exigences techniques pour les prélèvements en STEP sont relatives à leur nature (eaux usées VS boues).

4. EXIGENCES OPÉRATIONNELLES

Tableau 1. Exigences techniques identifiées pour les prélèvements en égout et en STEP

Prélèvements en égout	
Type de condition	Conditions techniques de prélèvement
Conditions techniques au choix de localisation des sites de prélèvement sur le réseau d'égouttage	<p>Choisir une zone du réseau située en assainissement collectif (~ 10% du réseau est situé en régime autonome)</p> <p>Le réseau d'assainissement belge est un réseau dit unitaire, par opposition à séparatif ; cela signifie que les eaux claires (voir définitions) sont mélangées aux eaux usées des ménages. Toutefois, le réseau présente de plus en plus de portions séparatives, qui sont intéressantes dans le choix des sites car offrent des eaux plus concentrées et augmentent ainsi la sensibilité de détection du PV. Cela est particulièrement intéressant en sortie d'immeuble (ex. centre d'accueil pour Demandeurs d'asile), lorsque les eaux de pluie ne suivent pas le même parcours que les eaux usées brutes.</p> <p>Vérifier l'absence de flux d'eaux claires importants (eaux de source et eaux de drainage), au risque d'une dilution trop importante des eaux usées brutes. Une investigation « infra » préalable à la validation des sites de prélèvement sur le réseau d'égout, et réalisée avec la société d'exploitation concernée, est nécessaire.</p>
Prise en compte du facteur de dilution des eaux usées brutes dans les égouts	Il est conseillé de prélever, dans la mesure du possible, par temps sec, sachant que la dilution peut atteindre un facteur 10 par temps de pluie afin d'éviter une perte de sensibilité de la surveillance
Vérifier l'absence de source inhibitrices des virus	Une fois les sites de prélèvement présélectionnés, vérifier l'absence d'industries émettrices de détergents (et autres inhibiteurs de virus) dans la zone couverte par le prélèvement.
Prélèvements en STEP	
Type de condition	Conditions techniques de prélèvement
Nature des prélèvements	Prélèvement d'eaux usées ET de boues. Arguments pour le choix du prélèvement de boues : 1. L'étude du point isoélectrique du poliovirus (Thomassen, Eikenhorst, Pol, & Bakker, 2013), complétée par une analyse des conditions physico-chimiques relatives aux bassins de traitement d'une STEP, a montré une attractivité théorique du poliovirus pour les boues résiduaires. 2. Le système de surveillance environnementale des PV en France a détecté des souches vaccinales de PV dans des échantillons de boue résiduaire de STEP (Antona et al., 2005).

4.4. EXIGENCES ANALYTIQUES À LA DÉTECTION DE PV ET NPEV

Pour rappel, afin de vérifier que la surveillance environnementale est suffisamment sensible pour la détection des PV, l'OMS recommande d'utiliser l'indicateur suivant:

Le système de surveillance détecte des PV ou NPEV (Entérovirus Non Polio) dans au moins 50% des échantillons collectés, et ce, sur une période de 6 mois

Le travail d'analyse des prélèvements d'eaux usées en laboratoire doit pouvoir :

- Vérifier la présence ou l'absence d'entérovirus dans les échantillons ;
- En présence d'entérovirus, identifier le type (PV ou NPEV) ;
- En présence de PV, réaliser une différenciation intra-typique afin d'identifier le type de PV, à savoir :
 - WPV 1
 - cVDPV1, 2 ou 3
 - SL PV et son type
- La quantification du virus identifié n'est pas indispensable.

4. EXIGENCES OPÉRATIONNELLES

Le laboratoire responsable de ces analyses devra respecter au mieux les standards de laboratoire préconisés par l'OMS pour l'identification de PV (*WHO, 2003, 2004b, (n.d.-a). S1, (n.d.-a). S2*), tant pour les protocoles d'analyse, que pour les exigences de biosécurité, et le cadre réglementaires du GAPIII. Le laboratoire est par ailleurs vivement encouragé à viser l'accréditation OMS pour sa surveillance environnementale au cours de la 1ère ou la 2e année de la mise en œuvre du système¹³. Les documents ressources pour ces standards internationaux sont :

- Les guidelines de l'OMS pour la surveillance environnementale du PV (*WHO, 2003 – Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation*), avec plus particulièrement, les pages 5 à 8 ;
- La 4e édition du Manuel de laboratoire Polio, et ses deux documents complémentaires (*WHO, 2004b, (n.d.-a). S1, (n.d.-a). S2*) :

Ces documents concernent l'identification de PV dans les échantillons cliniques. Cependant, plusieurs chapitres peuvent être directement utilisés et/ou adaptés pour les échantillons environnementaux¹⁴.

- Les règles de Biosécurité, avec la 3e édition du Manuel de laboratoire de l'OMS (*WHO, 2004a*) ;
- Le cadre réglementaire des GAPIII (Global Action Plan III), ayant pour but de minimiser les risques liés aux établissement associés au poliovirus, et qui s'inscrit dans le contexte d'éradication de deux sérotypes de poliovirus sauvages (WPV2 et 3), et de cessation séquentielle de l'utilisation du vaccin oral (OPV) – (*WHO, 2015*).

L'aperçu des étapes clés composant le protocole d'analyse est présenté ci-dessous. La durée totale des analyses, depuis l'étape de concentration des échantillons, jusqu'à l'obtention et l'interprétation des résultats, s'étend de 7 à 14 jours.

1. Etapes pré-analytiques, préparation de l'échantillon :
 - a. Centrifugation de l'échantillon (applicable uniquement aux boues) suivie d'une remise en suspension ;
 - b. Concentration de l'échantillon (Ultrafiltration ou technique des deux phases) – 2 heures à 2 jours ;
 - c. Elution et purification au chloroforme afin de détruire les bactéries présentes
2. Analyses microbiologiques
 - a. Culture cellulaire – 5 jours
 - i. Pour tous les échantillons : étape permettant d'augmenter la sensibilité de détection, essentielle dans le cadre d'échantillons d'eaux usées présentant un degré important d'inhibition¹⁵.
 - b. RNA PCR
 - i. Pour tous les échantillons, que le résultat de la culture soit positif ou négatif aux entérovirus.
3. Séquençage ou Différenciation intratypique – 24h
 - a. Sur les échantillons positifs aux EV (PV et NPEV)

Un résumé plus détaillé de ce protocole, présentant par exemple les différents milieux de culture à utiliser, ainsi que les précautions à prendre pour la sauvegarde des échantillons, est présenté en Annexe 4.

En pratique, une certaine flexibilité est possible par rapport aux protocoles d'analyse standards. En guise d'illustration, les guidelines de l'OMS ne présentent qu'une seule méthode de concentration, celle dites « des deux phases ». Or, le RIVM utilise une autre méthode validée dite d'UltraFiltration (UF). Lors de l'élaboration du protocole interne d'analyse, il est par ailleurs vivement recommandé de consulter le laboratoire accrédité OMS du RIVM, disposant de plus de 20 ans d'expertise en surveillance environnementale des PV et NPEV. Leur protocole d'analyse inclut, entre autres, des étapes de contrôle

¹³ Il n'existe jusqu'à présent pas d'accréditation proprement dite pour l'analyse d'échantillons environnementaux pour le PV (Janvier 2020). Les mêmes check-lists que celles prévues pour les échantillons cliniques sont dès lors de vigueur. Toutefois, un cadre réglementaire et une accréditation spécifique à l'environnement est actuellement en cours de finalisation.

¹⁴ Une nouvelle version de ce manuel est en cours de rédaction et devrait être disponible courant avril 2020.

¹⁵ Le Laboratoire national Polio du RIVM aux Pays Bas, a montré que l'utilisation de la culture cellulaire permet l'augmenter le ratio d'EV positifs de 30 à 70%.

4. EXIGENCES OPÉRATIONNELLES

importantes (ex : Contrôle de l'étape de concentration utilisant la souche vaccinale feline calicivirus F9 ; contrôle de l'extraction RNA/ PCR utilisant le virus equine arteritis virus).

Outre le respects des standards, la formation des techniciens de laboratoire aux protocoles et techniques spécifiques est nécessaire.

4.5. EXIGENCES ORGANISATIONNELLES POUR UNE SURVEILLANCE DE QUALITÉ

Les exigences organisationnelles à prendre en compte pour la bonne qualité de la surveillance environnementale concernent :

1. *La durée minimale de la mise en œuvre de la surveillance environnementale afin d'en tirer des résultats satisfaisants*

La surveillance environnementale des PV et NPEV constitue une expérience pilote en Belgique. Nous estimons qu'une durée de mise en œuvre de 4 ans est un minimum à respecter. Cette période permettrait d'une part de réaliser les adaptations nécessaires au bon fonctionnement du système, et d'autre part de disposer de suffisamment de résultats d'analyse pour évaluer le système dans son ensemble. A titre comparatif, pour la surveillance environnementale de la France (*Antona et al., 2005*) et des Pays-Bas (*Benschop et al., 2017*), les articles cités ont évalué les résultats sur une période de 4 années pour la France, et 10 années pour les Pays-Bas.

Nous préconisons par ailleurs une évaluation annuelle du système après son implémentation, avec la possibilité de réviser certains paramètres tels que la modification des sites de prélèvement, la fréquence de collecte, ou encore les méthodes d'analyse.

2. *L'analyse de l'expertise nécessaire aux laboratoires pour la détection des PV et NPEV dans les échantillons d'eaux usées*

Les laboratoires potentiels pour la réalisation des analyses des échantillons d'eaux usées ont été identifiés et sont présentés dans le point « 6.2 », relatif à l'analyse des différents scénarios retenus.

Ces acteurs ont eu l'occasion, dans le cadre de la présente étude, de visiter le laboratoire international spécialisé Polio du RIVM. Cette visite, qui s'est déroulée en novembre 2019, avait pour objectif la prise de connaissance des protocoles d'analyse Polio réalisés pour la surveillance environnementale PV et NPEV des Pays-Bas.

Nous considérons la réalisation de cette visite comme un facteur de réussite complémentaire, ayant permis une meilleure compréhension des enjeux analytiques de la surveillance environnementale par les laboratoires belges.

3. *L'analyse des besoins du laboratoire d'analyse, afin de garantir leur capacité humaine et matérielle à détecter les PV et NPEV présents dans les échantillons d'eaux usées*

L'analyse de ces besoins est présentée dans le chapitre 6, relatif aux différents scénarios retenus. Un financement adapté aux besoins identifiés est considéré comme facteur clé.

4. *La nécessité de disposer d'un coordinateur de la surveillance environnementale, comme c'est le cas pour la surveillance clinique actuellement réalisée en Belgique.*

Le coordinateur de projet est dans un premier temps en charge de la mise en œuvre de la surveillance environnementale, conformément aux résultats et recommandations de la présente étude. Après quoi, il veillera à la bonne coordination du système, en centralisant l'ensemble des données et résultats d'analyse. Il assure aussi au quotidien la bonne collaboration entre les différents acteurs de la surveillance environnementale. Dans ce sens, il est responsable de l'analyse épidémiologique des résultats émanant de la surveillance. C'est aussi lui qui contrôle, de par sa présence sur site, la qualité de l'échantillonnage des eaux usées pour l'ensemble des sites de prélèvements.

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Pour rappel, les exigences opérationnelles identifiées (voir point 4.) ont mené à la définition de la structure globale du système. Trois catégories de site à surveiller ont été retenus, combinant des prélèvements en égout et en STEP, et présentant des sensibilités propres à respecter. Pour répondre aux exigences de sensibilité, les critères suivants ont été définis pour le choix des sites de prélèvement:

- Égouts : couvrir une population comprise entre 1 000 et 3 000 habitants
- STEP : couvrir une population comprise entre 100 000 et 300 000 habitants

De plus, une série de précautions techniques relatives aux prélèvements et à considérer dans le choix des sites ont également été identifiées : localisation du site sur le réseau d'égout, conditions idéales d'échantillonnage, ou encore nature des prélèvements en STEP. Ces précautions ont été définies dans le tableau 1 (voir point 4.3).

Dans ce nouveau chapitre, nous définissons les sites de prélèvements à inclure dans la surveillance environnementale.

Avant de présenter les sites retenus pour chacune des trois catégories retenues, nous identifions d'abord les groupes de populations à plus haut risque de contracter le PV en Belgique. La distribution spatiale de ces populations au sein du pays conditionne le choix des zones à surveiller. Cela est principalement d'application pour les sites de catégorie 1, à savoir les sites couvrant des populations à plus haut risque de contracter le PV, prélevés au niveau du réseau d'égoutage.

5.1. POPULATIONS PRÉSENTANT UN PLUS HAUT RISQUE DE CONTRACTER LE PV

Pour la définition des populations les plus à risque de contracter le PV, deux grands groupes sont ciblés, à savoir (1) les populations étrangères identifiées comme à plus haut risque et (2) les demandeurs d'asile issus de pays où circule le PV.

1. *Population étrangères à plus haut risque de contracter le PV et répartition géographique au sein de la Belgique:*

Le point de départ de la sélection de populations étrangères à plus haut risque a été de sélectionner les populations d'origines étrangères les plus représentées en Belgique, qui de surcroît sont issues d'un pays à risque Polio.

Pratiquement, sur base des statistiques régionales de nationalités à la naissance (*IBSA, 2018a*)¹⁶, nous avons retenu les nationalités d'origine d'un pays à risque Polio (*WHO, 2019b*)¹⁷ qui représentent plus de 0,01% de la population. Ces nationalités, retenues comme populations étrangères les plus à risque de contracter le PV en Belgique, sont :

- Bruxelles-Capitale : Afghanistan, RDC (République Démocratique du Congo), Pakistan¹⁸
- Flandre : Afghanistan
- Wallonie : Nul (aucune nationalité n'atteint 0,01% de la population)

¹⁶ Chiffres de nationalités à la naissance en date du 2018-01-01 - Institut Bruxellois de Statistique et d'Analyse.

¹⁷ Mise à jour 3/10/2019 ; « Statement » et liste officielle des pays à risque Polio mise à jour tous les 4 mois environ.

¹⁸ La nationalité à la naissance pakistanaise représente moins de 0,01% de la population totale en région de Bruxelles-Capitale. Néanmoins, étant donné (i) qu'il s'agit d'un des deux derniers pays endémiques pour le poliovirus sauvage (WPV), et (ii) que la proportion de la nationalité pakistanaise (à la naissance) atteint toutefois > 0,01% à l'échelle communale, nous avons fait le choix d'inclure le Pakistan parmi les populations étrangères les plus à risque à Bruxelles.

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Note : 21 pays sont identifiés par l'OMS comme étant à risque de PV. Parmi ceux-ci, 5 ne sont plus infectés mais restent vulnérables à une réinfection ; sur les 16 pays restants, si l'on ne compte pas les 3 nationalités retenues (Afghanistan, RDC et Pakistan), les autres pays étant représentés parmi la population (statistiques régionales – IBSA, 2018a) en Belgique sont l'Angola, la Chine, le Niger, et le Nigeria. Toutefois, ces dernières origines à risque sont < 0,01% de la population régionale ; nous ne les considérerons dès lors pas dans notre stratégie de sélection des zones les plus à risque.

Un peu plus de 7 résidents sur 10 sont d'origine étrangère en région de Bruxelles-Capitale contre +/- 3 sur 10 en Région wallonne (Statistics Belgium, chiffres 2017)¹⁹.

En Flandre, si seulement 2 résidents sur 10 sont d'origine étrangère (Statistics Belgium, chiffres 2017), les personnes d'origine extracommunautaire (hors EU) vivent principalement à Anvers, Gand et dans les centres-villes. Anvers arrive au 1er rang avec 49,2 % de personnes d'origine étrangère (statistiekvlaanderen, 2017). Dans la municipalité d'Anvers, parmi les nationalités identifiées comme à risque, c'est la population afghane la mieux représentée, avec un pourcentage pouvant atteindre jusqu'à 4% des résidents dans certains quartier.

Sur base de ces résultats, les villes sélectionnées pour la surveillance environnementale de la Poliomyélite sont :

- Bruxelles
- Anvers

Pour la sélection des sites de prélèvements au niveau de ces 2 villes, nous avons réalisé une analyse spatiale plus détaillée, à l'échelle des quartiers statistiques, afin de sélectionner les zones de Bruxelles et Anvers présentant une part importante des populations étrangères les plus à risque. Cette analyse est présentée dans la partie du rapport relative à la sélection des sites de catégorie 1 et 2 (points 5.2 et 5.3)

2. Communauté des demandeurs d'asile – Pertinence d'inclure la communauté dans la surveillance & Sélection des origines les plus à risque:

Un nombre significatif de demandeurs d'asile ressortant de pays où circule le PV entre chaque année en Belgique. Le risque d'introduction du PV lors de leur entrée sur le territoire est limité étant donné la longueur de leur parcours de migration, pouvant aller de plusieurs mois à plusieurs années. Le risque qu'ont ces demandeurs d'asile de contracter le PV repose davantage sur les contacts privilégiés de cette communauté avec d'autres personnes originaires de leur pays, et ce, complété par une risque de vaccination incomplète.

Depuis le 15 février 2016, les demandeurs d'asile de plus de 6 ans originaires d'un pays où la Polio est en circulation (WHO, 2019b - Liste officielle des pays à risque Polio de l'OMS) et sans preuve de vaccination antipoliomyélique à jour, se voient offrir une vaccination gratuite à leur arrivée, directement après l'enregistrement de leur demande d'asile et avant leur entrée en centre d'accueil. Pour les adultes de >18ans, seuls ceux sur le territoire belge depuis moins de 3 mois sont ciblés. Quant aux enfants de < 6ans, ceux-ci sont vaccinés en centre d'accueil par les services de soins par Kind & Gezin et l' Office national de la Naissance et de l'Enfance (ONE)²⁰. On notera que les données de couverture vaccinale des demandeurs d'asiles de < 6ans ne sont pas disponibles.

Bien que la vaccination des demandeurs d'asile ne présente pas un caractère obligatoire, Fedasil estime qu'en 2018, seuls ~ 2 % avaient refusé la vaccination (153 sur 6250 demandeurs d'asile de >6ans). Néanmoins, seule une dose d'IPV est assurée. Or, la vaccination avec l'IPV, en particulier avec un schéma vaccinal incomplet (nombre de doses insuffisant), pourra protéger contre l'infection mais n'entravera pas l'excrétion dans les selles en cas d'exposition au virus (Tebbens et al., 2013 – voir Annexe 1).

Par conséquent, inclure les demandeurs d'asile à haut risque de Polio parmi les populations ciblées dans la surveillance environnementale est pertinent et utile.

19 Distribution de la population étrangère par région. Retrieved from https://statbel.fgov.be/sites/default/files/files/documents/FR_kerncijfers_2017_web.pdf

20 Cela ne se fait toutefois pas de façon systématique car les services de soin ne se déplacent que dans les plus grands centres

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Parmi les 10 pays d'origine les plus fréquentes des demandeurs d'asile en Belgique (Les statistiques d'Asile du CGRA - Commissariat Général aux Réfugiés et Apatrides – *cgra/cgvs.*, 2019), on retrouve 3 pays où le poliovirus est en circulation:

- l'Afghanistan
- la RDC
- la Somalie

5.2. SÉLECTION DES SITES DE CATÉGORIE 1 – CIBLANT LES POPULATIONS À PLUS HAUT RISQUE DE CONTRACTER LE PV

Résultat de la sélection des sites de catégorie 1 – populations à plus haut risque de contracter le PV:

1. Centre d'accueil pour demandeurs d'asile du « Petit Château » (Bruxelles)
2. Quartier congolais « Matonge » (Bruxelles)

► Prélèvements en égout

Pour la sélection des sites de prélèvement de catégorie 1, nous avons cherché à représenter les deux types de populations à risque de Polio présentées (voir point 5.1.).

Concrètement, nous avons sélectionné un centre d'accueil de demandeurs d'asile (le Petit Château), et un quartier avec une forte représentativité d'une des trois nationalités à la naissance considérées comme les plus à risque de contracter le PV (le quartier Matonge). Nous présentons ci-dessous les critères de choix spécifiques à chacun des sites retenus, et les résultats de faisabilité technique.

Nous avons fait le choix de sélectionner l'ensemble des sites de cette 1ère catégorie au sein d'une même région, à savoir Bruxelles-Capitale.

Un avantage à cela est que le travail de prélèvement sera géré par un seul des trois acteurs régionaux pour la gestion du réseau d'égouttage. Les prélèvements en égout sont les plus difficiles à mettre en œuvre pratiquement, et travailler avec un seul acteur technique facilitera la logistique des prélèvements. Le choix de Bruxelles-Capitale, plutôt que la ville d'Anvers, s'est fait pour deux raisons. La première est que Bruxelles compte une plus grande proportion d'étrangers (7 personnes sur 10). Deuxièmement, les trois nationalités à plus haut risque y sont fortement représentées, alors qu'Anvers compte uniquement la nationalité afghane en nombre significatif.

CENTRE D'ACCUEIL « PETIT CHÂTEAU » COMME SITE DE PRÉLÈVEMENT COUVRANT LES DEMANDEURS D'ASILE À HAUT RISQUE DE POLIOMYÉLITE

1. Critères de choix

- Présente une bonne représentativité des demandeurs d'asile à haut risque Polio : Le centre du « Petit Château » est un des plus grands centres, avec une capacité d'accueil > 500 lits (au 31/07/2019) et accueille des personnes provenant de 12 des pays où circule, ou bien, où a circulé, le PV depuis les 12 derniers mois (*GPEI, n.d.-a²¹*). En particulier, les ressortissants d'Afghanistan se positionnent au 4e rang des origines les plus représentées du centre. De surcroît, le « Petit Château » accueille des enfants, qui sont plus à risque de Polio (*Fedasil, 2019b*).
- Site de prélèvement offrant une sensibilité de détection importante : la capacité d'accueil du centre ne dépasse pas les 3000 personnes couvertes, et offre une sensibilité permettant l'identification d'une seule personne infectée parmi l'ensemble des demandeurs d'asile du centre.

21 Interactive map showing Polio cases within desired timeframe. Retrieved from <http://polioeradication.org/polio-today/polio-now/> (site web consulté en date du 3-4/12/2019)

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Sur l'ensemble des centres d'accueil (tous partenaires d'accueil confondus – Croix-Rouge, Fedasil, ...), 6 ont une capacité d'accueil supérieure à 600 lits, dont le « Petit Château » (Fedasil, 2019a).

2. Faisabilité technique

La faisabilité technique de prélever au niveau de ce site a été confirmée ; le détail se trouve dans un document de travail annexe (*Lesenfants, 2019c* – Synthèse de l'ensemble des informations relatives à la faisabilité technique des prélèvements, ainsi qu'aux choix sites).

La méthode de collecte des échantillons d'eaux usées recommandée est le prélèvement d'un échantillon composite au niveau des différentes chambres de visite accessibles sur le terrain du bâtiment. Les avantages de cette méthode sont un coût moindre que pour un prélèvement au niveau de l'égout, ainsi que des échantillons d'eaux usées davantage concentrés (*Régie des bâtiments, 2019²²*).

Quartier Matonge en tant que site de prélèvement couvrant un quartier avec une forte représentativité d'une des trois nationalités à la naissance considérées comme les plus à risque de contracter le PV.

Note de rappel : L'OMS, dans ses recommandations internationales (Statement of the 22nd IHR emergency committee – WHO, 2019b), distingue trois catégories de pays: 1. les pays infectés par le WPV1, cVDPV1, cVDPV3 avec risque potentiel de propagation internationale, 2. les pays infectés par le cVDPV2 à risque potentiel et démontré de propagation internationale, et 3. les pays qui ne sont plus infectés par la Polio mais qui restent vulnérables à une réinfection.

1. Critères de choix

- Parmi les 3 communautés étrangères sélectionnées comme étant les plus à risque de contracter le PV, la communauté congolaise semble présenter un facteur de risque supplémentaire de par le caractère non obligatoire de la vaccination Polio des voyageurs.

L'obligation d'une vaccination anti-poliomyélite complète pour les personnes qui voyagent, est d'application pour les pays de catégorie 1, parmi lesquels l'Afghanistan. Pour les pays de catégorie 2, dont la RDC, une telle vaccination est recommandée mais non obligatoire. Une plus faible couverture vaccinale récente des voyageurs revenant de RDC est donc supposée, en raison de l'absence de contrôle du carnet vaccinal pour la vaccination antipolio à ses frontières.

- Cible la communauté congolaise, préférentiellement à la communauté afghane (toutes deux identifiées comme nationalités à risque de PV), pour les raisons suivantes :
 - La nationalité afghane est mieux représentée parmi les demandeurs d'asile que la nationalité congolaise. Elle est en effet dans le top 3 des pays d'origine demandant l'asile en Belgique. Le choix est fait de cibler une autre des nationalités à risque au travers d'un quartier.
 - La communauté congolaise semble présenter un risque de PV plus élevé de par le caractère non obligatoire de la vaccination dans un contexte de voyage en RDC (voir paragraphe d'introduction ici-haut)
- Le quartier Matonge est le quartier congolais le plus populaire de Bruxelles.
- Le quartier Matonge représente aussi une zone commerciale importante pour la population congolaise. Or, d'après les guidelines de l'OMS pour la surveillance environnementale (*WHO, 2003*), un facteur de risque complémentaire à considérer dans le choix des zones concerne le panel d'activités commerciales qui y sont développées (fret, import-export, commerces, alimentaire, coiffeurs, restaurants, ...). Le quartier Matonge est très actif en termes de commerce et de vente de produits congolais, qu'ils soient alimentaires ou autre, et également de fret et import/export. Ces activités mènent à l'importante fréquentation du quartier par des personnes d'origine congolaise, et impliquent également des voyages réguliers de personnes entre Bruxelles et la RDC.

22 Un plan d'accès au chambre de visite est disponible au sein de Sciensano

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

- Varia : Le quartier Matonge est géré par la même société de gestion des eaux usées que le réseau d'égouttage du « Petit Château », à savoir Vivaqua. Travailler avec un acteur unique pour les prélèvements en égouts permet de minimiser les coûts logistiques.

2. Faisabilité technique

La faisabilité de prélever des échantillons d'eaux usées dans le réseau d'égouts du quartier Matonge a été vérifiée avec Vivaqua (*Sciensano, 2019b*²³).

Le type de prélèvement « manuel » est retenu pour Matonge. En effet, l'échantillonnage automatique n'est envisageable que pour les collecteurs de taille importante, avec « banquette d'accès ». En outre, ce type d'échantillonnage présente plusieurs désavantages, tel qu' un coût beaucoup plus conséquent, et des populations couvertes de taille trop importantes par rapport à la couverture recommandée (1000 à 3000 personnes) (*Sciensano, 2019b*).

La collecte manuelle présente également une facilité de mise en œuvre, et peut être réalisée à n'importe quel endroit du réseau d'égouttage, par opposition aux prélèvements automatiques.

Bien que la zone à couvrir a été définie, la localisation précise du site de prélèvement devra encore être décidée sur base de plusieurs paramètres tels que : l'absence d'industrie émettrice de détergent, l'absence de débit important d'eaux de ruissellement et/ou de drainage, le type de voirie et d'accès à l'égout, ainsi qu'une sélection prioritaire des rues (secteurs statistiques) statistiquement les plus représentées par la population congolaise. En outre, l'artère commerciale principale de Matonge, à savoir la chaussée de Wavre, devra être couverte par le prélèvement.

5.3. SÉLECTION DES SITES DE CATÉGORIE 2 – COUVRANT UNE PLUS GRANDE PART DE LA POPULATION

Résultat de la sélection des sites de catégorie 2 – populations de plus grande représentativité:

1. la station d'épuration des eaux usées (STEP) de « Bruxelles-Sud » (Bruxelles)
2. la STEP de « Deurne », à Anvers

► Prélèvements en STEP

1. Critères de choix

Les critères spécifiques et informations utilisés pour le choix de chacun des deux sites retenus pour la 2e catégorie (populations de plus grande représentativité) sont résumés ci-dessous. Des informations plus détaillées sont disponibles dans un document de travail annexe (*Lesenfants, 2019c*²⁴).

Les sites de prélèvement retenus répondent aux exigences techniques identifiées pour la structure globale du système, à savoir les recommandations OMS et les exigences de sensibilité (voir points 4.1 et 4.2). En plus de ces exigences, la sélection des sites a également tenu compte des populations étrangères identifiées comme les plus à risque de contracter le PV.

Ci-dessous un résumé des critères de sélection utilisés dans le choix de ces deux sites de prélèvement :

- La sélection des villes d'Anvers et Bruxelles se base principalement sur deux caractéristiques²⁵ :
 - Il s'agit des deux villes les plus importantes de Belgique en termes de taille de population, offrant donc une bonne représentativité démographique

²³ Compte-rendu de réunion avec Ir Karl Mot de Vivaqua - Informations diverses relatives à la faisabilité technique de prélever dans les égouts à Bruxelles; éléments de coût (19/08/2019)

²⁴ Synthèse de l'ensemble des informations relatives à la faisabilité technique des prélèvements, ainsi qu'aux choix des sites

²⁵ Ces deux villes ont été présélectionnées plus haut comme villes à inclure dans la surveillance environnementale de la Poliomyélite (voir point « 5.1. Populations présentant un plus haut risque de contracter le PV »)

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

- Ces villes sont également celles qui présentent la plus grande proportion de communautés étrangères
- Le choix de chacune des stations de traitement (STEPS) retenues à Bruxelles et à Anvers, se base sur les critères suivants :
 - Les STEPs ont été choisies de façon à respecter au mieux le critère de sensibilité défini au point 4.2, à savoir couvrir les eaux usées d'une population comprise entre 100 000 et 300 000 habitants
 - Outre ce critère de taille de population couverte, nous avons sélectionné les STEPs couvrant également un maximum de populations étrangères définies comme à plus haut risque. Dans ce sens, nous avons réalisé une analyse spatiale croisant les données de localisation des STEPs avec les statistiques des populations étrangères les plus à risque de contracter le PV, définies plus haut comme :
 - * Les populations d'Afghanistan, pour la municipalité d'Anvers
 - * Les populations d'Afghanistan, de la RDC, et du Pakistan, pour Bruxelles

Résultat de l'analyse spatiale des données appuyant le choix de la STEP de Deurne, à Anvers

- La taille de la population couverte par la STEP de Deurne est de 193 500 EH (Equivalents-Habitants – voir Acronymes et définitions), ce qui répond bien à la recommandation de couvrir entre 100 000 à 300 000 habitants ;
- Parmi les deux STEPs localisées à Anvers, la STEP choisie est celle qui semble couvrir le mieux la communauté afghane, de par sa proximité avec les quartiers pour lesquels la population afghane²⁶ représente plus de 4% de la population totale²⁷ (voir figure 1 ci-dessous).

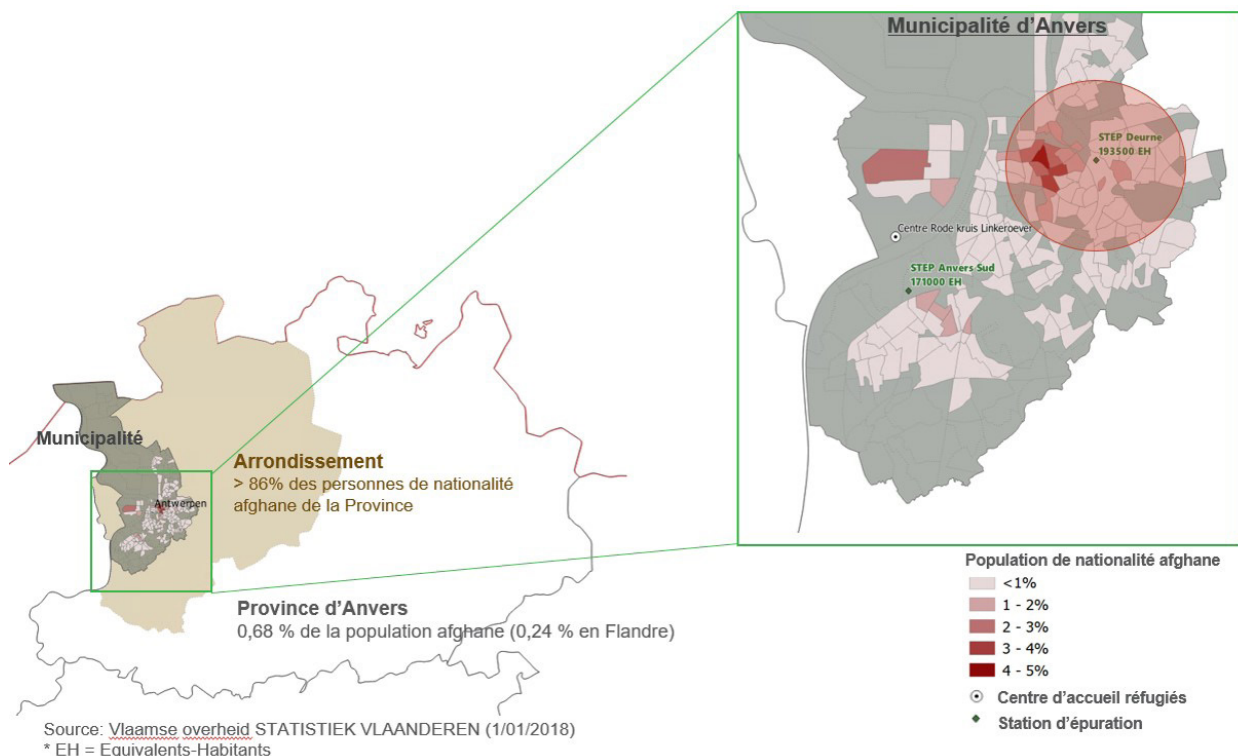


Figure 1. Analyse spatiale appuyant le choix de la Station d'Épuration des eaux usées (STEP) de Deurne. Données de distribution de la nationalité afghane (à la naissance), par secteur statistique, pour la Municipalité d'Anvers (STATISTIEK VLAANDEREN, chiffres au 1er janvier 2018), et localisation des STEPs (Aquafin, 2019).

26 Nationalité à la naissance.

27 La couverture des quartiers de haute représentativité afghane devra être confirmée lors de la phase de mise en œuvre du système, sur base des plans détaillés du réseau d'assainissement.

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Résultat de l'analyse spatiale des données appuyant le choix de la STEP de Bruxelles-Sud, à Bruxelles

- Parmi les deux STEP présentes à Bruxelles, il s'agit de celle qui se rapproche le plus du critère de couverture d'une population comprise entre 100 000 et 300 000 habitants, avec 360 000 EH ;
- Nous avons également voulu valoriser la couverture des quartiers les plus représentés par les populations étrangères à plus haut risque de contracter le PV. La figure 2 ci-dessous illustre la localisation des 2 STEP bruxelloises ainsi que le top 6 des quartiers considérés comme à plus haut risque de contracter le PV²⁸. On observe que la majorité de ces quartiers ne sont pas couverts par la STEP de Bruxelles-Sud. Malgré cela, nous excluons la 2e STEP de Bruxelles-Nord, car elle couvre une population de taille beaucoup trop importante par rapport à la taille recommandée (1 100 000 EH).

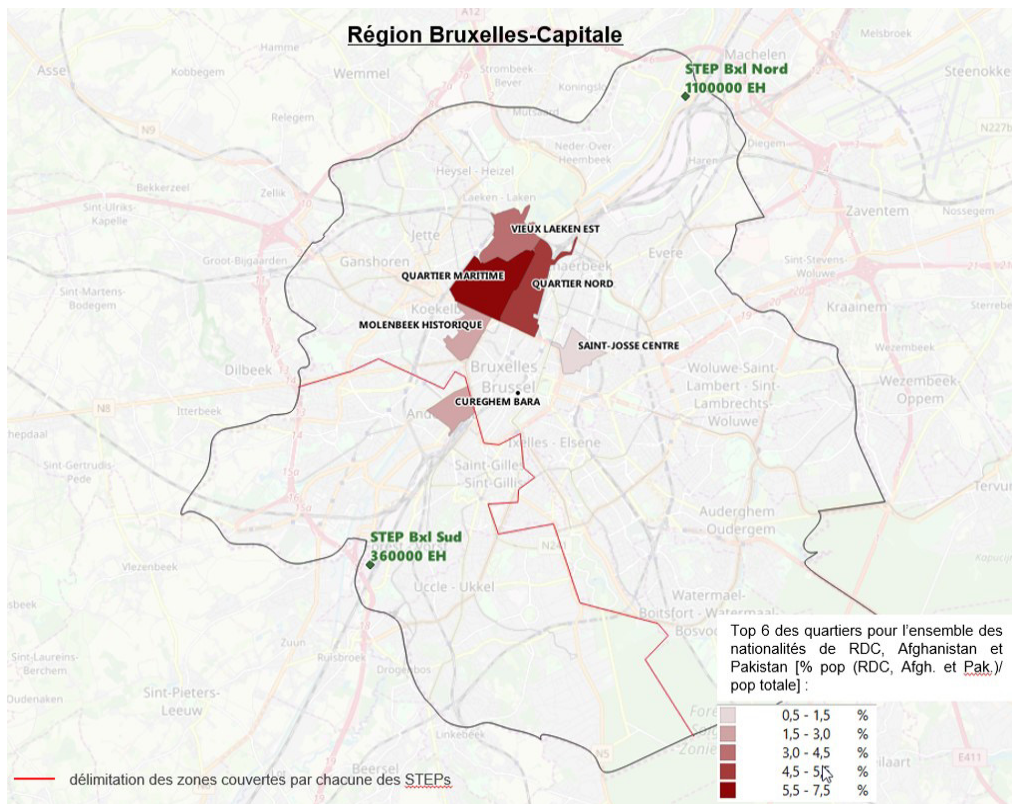


Figure 2. Analyse spatiale appuyant le choix de la station d'épuration des eaux usées (STEP) de Bruxelles-Sud. Données de distribution des nationalités afghane, congolaises et pakistanaïses (à la naissance), par quartier en Région de Bruxelles-Capitale (IBSA, 2018b), et localisation des STEP.

2. Faisabilité technique

De façon générale, prélever des échantillons en STEP est beaucoup plus aisé que sur le réseau d'égouttage et ne demande pas de logistique particulière. Le gestionnaire de la STEP réalise lui-même des prélèvements de façon régulière. La faisabilité technique des prélèvements est donc confirmée.

Il a été décidé de prélever deux types d'échantillons au niveau de chacune des deux STEP retenues, à savoir :

- Des boues résiduelles
- Des eaux usées

²⁸ Quartiers sélectionnés sur base de la plus grande proportion des 3 nationalités définies comme les plus à risque de contracter le PV à Bruxelles (somme des personnes issues d'une des 3 nationalités à risque rapportée à la population totale du quartier)

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Les arguments soutenant ce choix ont été présentés dans le tableau 1 du point 4.3., au niveau des exigences opérationnelles du système.

Les modalités de prélèvement sont quant à elles présentées plus loin dans le rapport, au niveau du point relatif à l'échantillonnage des sites.

5.4. SÉLECTION DES SITES DE CATÉGORIE 3 – ASSOCIÉS AUX POTENTIAL ESSENTIAL FACILITIES (PEFS)

Résultat de la sélection des sites de catégorie 3 – Potential Essential Facilities (PEFs):

1. GSK Rixensart, en tant que « would-be-PEF » le plus critique (« potential critical PEF »), Wallonie

► Prélèvements en STEP et en égout

1. Critères de choix

Le site retenu pour la catégorie 3 correspond au site de production de vaccin de PV de la société GSK, situé à Rixensart. Il s'agit en réalité du PEF le plus critique en Belgique, et après nos recherches, nous avons jugé pertinent de l'intégrer dans la surveillance.

Les critères spécifiques et informations utilisés pour le choix du site retenu (catégorie 3 – GSK) sont résumés ci-dessous. Les informations plus détaillées sont disponibles dans un document de travail annexe (*Lesenfants, 2019c*²⁹).

- Nous avons analysé la liste des PEFs identifiés en Belgique, ainsi que leur niveau de risque attribué (*Annual update on Polio eradication activities. In WHO report. – Sciensano, 2018a*). Les 3 PEFs existant en Belgique étaient :

- GSK Rixensart – classé en tant que « potential critical »

Ce site correspond au bâtiment de production du vaccin Polio IPV, localisé à Rixensart (bâtiment « RIX 39 »). La production du vaccin implique la manipulation de WPV sur le site même. Le vaccin OPV n'est quant à lui plus produit sur le site depuis 2017.

Note : Dans un futur proche, il est prévu de déplacer la production sur le site GSK Wavre. Pour le moment, cette migration est planifiée pour fin 2020. A noter que le futur bâtiment a été conçu de manière à être en accord au cadre réglementaire du « GAPIII »

- Fri-pharma (GSK) – classé en tant que « potential low critical »
- Univercells : récemment retiré de la liste des « PEF » (septembre 2019)

Sur base de cette liste, on peut conclure que GSK Rixensart correspond au PEF le plus critique en Belgique.

- Nous avons jugé pertinent de renforcer le contrôle de l'absence de PV dans les eaux de rejet de GSK. Cette décision s'est faite sur base des éléments suivant :
- Après consultation directe de GSK (voir Annexe 2 pour la liste des personnes rencontrées), ainsi que de la littérature relative au déversement accidentel de WPV ayant eu lieu en 2014 (*Cebedeau, 2014 ; Duizer et al., 2016 ; Unité R&D Aquapôle - ULg., 2014*), nous avons évalué le risque de déversement accidentel de PV dans l'environnement comme faible, mais toutefois existant. En effet, il est faible de par les précautions nouvelles prises par GSK (post incident 2014), notamment en termes d'amélioration du système de prétraitement de leurs eaux industrielles, mais reste non nul.
- En outre, GSK ne réalise pas de contrôle de la qualité virale des eaux rejetées. Dès lors, cela renforce l'intérêt d'intégrer leur site dans la surveillance environnementale.

29 Synthèse de l'ensemble des informations relatives à la faisabilité technique des prélèvements, ainsi qu'aux choix des sites

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

2. Faisabilité technique

Les prélèvements seront réalisés à deux endroits distincts, à savoir :

1. Le point de rejet des eaux usées de GSK Rixensart. Il s'agit d'une canalisation privée située sur le site de GSK et connectée au réseau d'égout public.
2. La STEP de Rosières située en aval, à quelques kilomètres du site de production de vaccin. La STEP brasse les eaux usées de GSK, mais également celles des ménages alentours.

Le choix de ces deux localisations complémentaires s'explique de par la nature complexe du PEF, et par l'intention de multiplier les chances de détection de PV, en cas de déversement accidentel.

La faisabilité technique des prélèvements est confirmée pour les deux endroits prédéfinis. Nous avons notamment vérifié, avec l'InBW (Intercommunale du Brabant Wallon), l'absence de quantité importante de détergent dans les eaux entrantes.

Nous présentons ci-dessous les éléments à prendre en compte afin d'assurer cette faisabilité, ainsi que la pertinence des prélèvements :

- Les conditions techniques relatives aux deux endroits de prélèvements retenus :
 - Pour le prélèvement en bordure du site GSK : un 2^e échantillonneur automatique sera installé. Celui-ci sera géré de façon indépendante à l'échantillonneur automatique déjà sur place et dont GSK est propriétaire.
Un échantillonneur automatique présente l'avantage d'offrir des échantillons composites représentatifs des eaux rejetées sur une période de 24h. De cette façon, et en cas de déversement accidentel, on aura plus de chance de prélever les eaux usées « au bon moment ».
 - Pour les prélèvements au niveau de la STEP de Rosières, il y aura aussi différents endroits (bassins) et modalités de collecte :
 - * En entrée de la STEP : il est recommandé d'installer un 2^e échantillonneur automatique, pour la même raison que ci-dessus
 - * Pour l'ensemble des autres prélèvements au niveau de la STEP, l'installation d'échantillonneur automatique n'est pas nécessaire
- Nous avons également défini les conditions particulières pour le prélèvement des boues :
 - Il s'agit de prélever des échantillons de boues brutes. Cela se réalise avant l'étape d'ajout de chaux ou de polymères afin d'éviter la détérioration des EV. Pratiquement, il s'agit de prélever avant la table d'égouttage.
Note : La STEP purge les boues résiduelles presque quotidiennement; une simple coordination avec les opérateurs présents sur la STEP suffira pour disposer de prélèvements adaptés
 - Il est vivement conseillé de prélever les boues issues de la ligne de traitement sans UltraFiltration (UF). En effet, la taille de la membrane d'UF étant dans la gamme de la taille des PV et NPEV, nous ne pouvons pas garantir avec certitude si les virus sont ou non retenus dans les boues après UF. La ligne sans UF offre dès lors la garantie de ne pas perdre de PV.

5.5. ECHANTILLONNAGE DES SITES

Cette section relative à l'échantillonnage des sites est organisée en deux parties. Dans un premier temps, nous présentons le plan global d'échantillonnage, résumant la répartition et le nombre de sites de prélèvement retenus, et présentant un calendrier de collecte. Dans un second temps, et sur base du plan d'échantillonnage, nous réalisons l'analyse budgétaire du prélèvements des sites.

5.5.1. Plan global d'échantillonnage

Fréquence de collecte

La fréquence de collecte choisie pour les prélèvements équivaut à 1 fois par 6 semaines. Ce choix se base sur la littérature et l'expérience des Pays-Bas (*Benschop et al., 2017*).

Avec cette fréquence de 1/ 6 semaines, on prétend pouvoir détecter l'introduction d'un poliovirus au plus tard 50 jours après son introduction (*Benschop et al., 2017*).

Les 3 catégories de sites retenues pour la surveillance environnementale ont chacune une méthodologie de collecte d'échantillons qui leur est propre. Nous recommandons dès lors d'organiser les prélèvements par catégorie. De plus, sachant que les analyses microbiologiques sont idéalement réalisées le jour du prélèvement, il est serait logistiquement difficile de prélever les échantillons des différentes catégories le même jour.

Comme illustré dans la figure 3 ci-dessous, nous proposons de réaliser les campagnes de prélèvement avec deux semaines d'intervalle, d'une catégorie de site à l'autre. Cet intervalle de 15 jours permettra aussi au laboratoire de clôturer les analyses, avant de démarrer celles d'une nouvelle catégorie de sites.

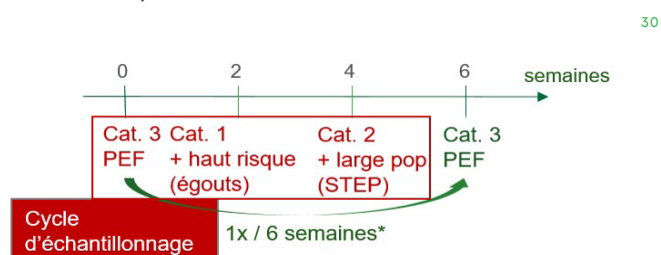


Figure 3. Cycle d'échantillonnage illustré en pratique. Prélèvements chaque 2 semaines d'une catégorie de sites ; la fréquence de collecte d'un même site équivaut à 1 x chaque 6 semaines.

Le tableau 2 ci-dessous résume le nombre d'échantillons (1 échantillon = 1 flacon d'1L d'eaux usées, conditionné à 4°C) prélevés par site ; ce nombre est présenté par catégorie.

Tableau 2. Synthèse du nombre d'échantillons prélevés par site, et présenté par catégorie (1 échantillon = 1 flacon d'1L d'eaux usées, conditionné à 4°C)

Nombre d'échantillons d'1L à prélever	Catégorie 1 Sites à plus haut risque (égouts Bruxelles)	Catégorie 2 Sites de plus grande représentativité (STEP)	Catégorie 3 PEF (GSK Rixensart)
Total	4	6	6
Détail	2 au quartier de Matonge 2 au centre d'accueil du « Petit Château »	3 à la STEP de Bruxelles-Sud 3 à la STEP de Deurne	1 sur le site de GSK 5 à la STEP de Rosières (aval GSK), dont 1 de boues

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Précautions générales pour les prélèvements

La présence du coordinateur de projet est nécessaire lors de chaque prélèvement, toutes catégories de site confondues, afin :

- De garantir la bonne qualité du prélèvement (rôle de contrôle)
- D'organiser le transport des échantillons (conditionnés à 4°C), dans les meilleurs délais, vers le laboratoire d'analyse

Aucun des prélèvements n'est réalisé en double. Toutefois, dans le souci de disposer d'un échantillon en back-up pour les analyses, après l'étape de concentration en laboratoire, 2 ml d'échantillon seront conservés durant 2 semaines, jusqu'à obtention des résultats d'analyse (voir Annexe 4).

Pour les prélèvements en STEP, les précautions suivantes sont de vigueur :

- Les modalités d'échantillonnage des boues (voir document de travail – *Lesenfants, 2019c* – Synthèse de l'ensemble des informations relatives à la faisabilité technique des prélèvements, ainsi qu'aux choix des sites)
- Chaque bassin est échantillonné sous forme d'échantillon composite, lui-même réalisé à partir d'un mélange d'échantillons prélevés à 3 positions distinctes, ou, dans le cas des boues, à 15 min d'intervalle. Cet échantillon composite offre une meilleure représentativité.
- Dans la mesure du possible, il est vivement encouragé de ne pas prélever d'eaux usées par temps de pluie. En effet, ceci réduirait la sensibilité de la détection, de par la dilution des eaux usées avec les eaux de pluie. Dans tous les cas, il est recommandé de tenir un « Cahier de prélèvements », renseignant diverses observations relatives à la collecte, avec notamment l'estimation des précipitations le jour J (ex. : météo très pluvieuse)

Détail des échantillons à prélever

- Sites de catégorie 1
 - 4 prélèvements au total, collectés manuellement
 - 2 échantillons d'1L sont prélevés pour chaque site, Matonge et Petit Château, à 15 minutes d'intervalle afin qu'ils puissent apporter des informations complémentaires
 - Collecte manuelle
- Sites de catégorie 2
 - 6 prélèvements au total, collectés manuellement (i.e. pas d'échantillonneur automatique à placer)
 - 3 Prélèvements, pour chaque STEP, aux localisations suivantes :
 - * Eaux usées entrantes – Bassin décantation primaire
 - * Eaux usées – Bassin boues en activées
 - * Boues
- Sites de catégorie 3
 - 5 prélèvements au total
 - 4 prélèvements – STEP Rosières :
 - * Automatique – Eaux usées entrantes
Echantillon composite représentatif de 24h (via échantillonneur automatique)
 - * Manuel – Bassin décantation primaire (eaux usées)
 - * Manuel – Bassin boues en activées (eaux usées)
 - * Manuel – Boues
 - 1 prélèvement – Site GSK Rixensart :
 - * Automatique – Eaux usées brutes de GSK
Echantillon composite représentatif de 24h (via échantillonneur automatique)

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

5.5.2. Analyse budgétaire des prélèvements des sites composant le réseau de surveillance environnementale

Estimation budgétaire pour chaque type de méthode d'échantillonnage

Le budget lié à chacune des méthodes d'échantillonnage suivantes a été évalué et estimé :

- Échantillonnage manuel en égout
- Échantillonnage manuel en STEP³¹
- Échantillonnage automatique en STEP
- Échantillonnage automatique site GSK Rixensart (égout)

Pour le budget de collecte, il faut compter 9 prélèvements par an pour chaque site, sur base de la fréquence d'échantillonnage retenue de 1 fois par 6 semaines.

Les résultats sont présentés dans le tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3. Estimation budgétaire de chaque méthode d'échantillonnage. Manuelle en STEP ou égout. Automatique en STEP ou sur le site de GSK Rixensart.

Méthode d'échantillonnage		Poste budgétaire			
		/ an		/ 4 ans	
Échantillonnage manuel en STEP	Collecte	270 € (30 €/jour de collecte * 9 jours de collecte/an)		1 080 €	
	Transport	Bruxelles 270 €	Anvers 720 €	Bruxelles 1 080 €	Anvers 2 880 €
	Total	540 €	990 €	2 160 €	3 960 €
Échantillonnage manuel en égout	Collecte	2 250 € (250 €/jour de collecte) ³²		9 000 €	
	Transport	135 €		540 €	
	Total	2 385 €		9 540 €	
Échantillonnage automatique en STEP	Collecte	540 € (60 €/jour de collecte)		2 160 €	
	Pose et retrait échantillonnage auto	300 € répartis par an (2* 600€ au total pour la pose et le retrait)		1 200 €	
	Interventions diverses	150 €		600 €	
	Transport	270 €		1 080 €	
	Total	1 260 €		5 040 €	
Échantillonnage automatique site GSK (égout)	Collecte (récupération échantillon moyen sur 24h)	2 250 € (250€/jour de collecte)		9 000 €	
	Pose et retrait échantillonnage auto	1 000 € répartis par an (2* 1 000€ au total pour la pose et le retrait)		4 000 €	
	Interventions diverses	300 €		1 200 €	
	Transport	270 €		1 080 €	
	Total	3 820 €		15 280 €	

32

31 Par manuel, on entend prélevé manuellement à un instant « t », ou bien, qui n'est pas lié à l'installation indépendante d'un échantillonneur automatique ; le prélèvement « manuel » peut dès lors également provenir d'un système d'échantillonnage automatique propre à la STEP elle-même

32 Estimation renseignée par Vivaqua, applicable si endroit praticable (Echanges d'e-mail avec Mr Chauveheid Eric de Vivaqua - Estimation du budget relatif aux prélèvements manuel en égout à Bruxelles - 6/09/2019 - Sciensano, 2019c)

5. SÉLECTION DES SITES DE PRÉLÈVEMENT

Estimation budgétaire des prélèvements liés à chaque catégorie de site

En utilisant les éléments de budget du tableau ci-dessus, l'estimation budgétaire relative à l'échantillonnage des différents sites de prélèvement a été calculée et est présentée dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4. Estimation budgétaire relative à l'échantillonnage des différents sites de prélèvement. Budget annuel et Budget sur 4 ans (durée retenue pour le 1er cycle de surveillance environnementale).

	Localisation du prélèvement	Poste de coût (voir tableau ci-dessus)	/an	/4 ans
Catégorie 1 – Sites de population à plus haut risque	Matonge	1 Échantillonnage manuel en égout	2 385 €	9 540 €
	« Petit Château »	1 Échantillonnage manuel en égout	2 250 € ³³	9 000 €
	Total		4 635 €	18 540 €
Catégorie 2 – Sites de population plus larges	STEP Bruxelles-Sud	1 Échantillonnage manuel en STEP	540 €	2 160 €
	STEP Deurne (Anvers)	1 Échantillonnage manuel en STEP	990 €	3 960 €
	Total		1 530 €	6 120 €
Catégorie 3 – PEF (GSK)	Site GSK Rixensart (égout)	1 Échantillonnage automatique site GSK (égout)	3 820 €	15 280 €
	STEP Rosières	1 Échantillonnage manuel en STEP	270 € ³⁴	1 080 €
		1 Échantillonnage automatique en STEP	990 € ³⁵	3 960 €
	Total		5 080 €	20 320 €
Budget global pour l'ensemble des sites de prélèvement			11 245 €	44 980 €

33 34 35

33 Un déplacement Aller-Retour enlevé car les deux prélèvements sont situés à Bruxelles

34 Un déplacement Aller-Retour enlevé car les deux prélèvements sont situés à Rixensart

35 Un déplacement Aller-Retour enlevé car les deux prélèvements sont situés à Rixensart

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Ce chapitre est consacré à la proposition de scénarios pour la mise en œuvre de la Surveillance environnementale Polio et entérovirus, ainsi qu'aux budgets associés.

Les différents scénarios possibles pour la surveillance environnementale sont des variantes à la réalisation du travail de laboratoire, impliquant des acteurs et méthodologies distincts. Seule cette partie « Laboratoire » est déclinée en scénarios, dès lors les propositions relatives aux prélèvements et à la coordination du système restent, elles, inchangées. Il s'agit ici d'identifier les partenaires possibles pour la réalisation des analyses, et de proposer une organisation de travail qui réponde aux exigences analytiques et organisationnelles préalablement identifiées (points 4.4 et 4.5). Parmi ces exigences organisationnelles pré-identifiées, rappelons :

- La nécessité de respecter une première période de mise en œuvre de minimum 4 ans ;
- L'identification de l'expertise analytique requise pour la détection des PV et NPEV dans les échantillons d'eaux usées.

Ce chapitre présente d'abord un aperçu des différents scénarios organisationnels, estimation budgétaire à l'appui. Après quoi, nous présentons plus en détail les laboratoires retenus pour les différents scénarios. Nous analysons ensuite chacun des scénarios, en présentant leurs avantages et inconvénients. Nous terminons par une analyse budgétaire des différents scénarios.

6.1. APERÇU GÉNÉRAL DES SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Trois scénarios distincts sont proposés.

Chaque scénario est associé à un ou plusieurs partenaires de laboratoire qui lui est propre. Dans le scénario 1, ce partenaire est l'Institut néerlandais pour la Santé Publique et l'Environnement (RIVM). Il s'agit de l'option la plus onéreuse. Le scénario 2 propose quant à lui de travailler avec deux partenaires distincts, en combinant au mieux les expertises respectives. En termes de coût, ce scénario est le plus avantageux, mais se rapproche fort du scénario 3. Enfin, le dernier scénario propose d'investir dans un seul laboratoire.

Un aperçu global des scénarios proposés est présenté dans le tableau ci-dessous. Les déclinaisons spécifiques aux différents scénarios correspondent au poste budgétaire des « Analyses de laboratoire », en vert dans le tableau. Il s'agit d'estimations budgétaires annuelles.

Tableau 5. Aperçu des 3 scénarios organisationnels proposés pour la surveillance environnementale

Postes budgétaires	Scénarios organisationnels		
	Scénario 1	Scénario 2	Scénario 3
Échantillonnage:	1. catégorie de sites à plus haut risque, réseau d'égout	Quartier Matonge Centre d'accueil Fedasil « Le petit château » ~ 4 600 €	
	2. catégorie de sites à plus large population, STEPs	STEP Bruxelles-Sud STEP Deurne (Anvers) ~ 1 500 €	
	3. catégorie des sites PEF (GSK)	GSK Rixensart (production de Polio vaccins) ~ 5 000 €	
Analyses de laboratoire	~ 107 000 € Sous-traitance du travail de laboratoire aux Pays-Bas	~ 84 000 € Combinaison de l'expertise présente au sein de deux laboratoires	~ 90 500 € Investissement dans un laboratoire unique
Coordination	~ 48 000 €		

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Le poste budgétaire « Echantillonnage » a été détaillé dans le chapitre 5 relatif à la sélection des sites de prélèvement, au niveau du point 5.5.2.

Le poste budgétaire « Coordination » correspond quant à lui au coût d'un scientifique engagé à mi-temps comme coordinateur de projet. La nécessité de disposer d'un coordinateur de projet a été définie comme une exigence opérationnelle pour la bonne qualité de la surveillance environnementale. Ses principaux rôles sont présentés au niveau du point 4.5.

Le poste budgétaire « Analyses de laboratoire », associé aux scénarios organisationnels, représente la plus grande part du budget de la Surveillance environnementale.

Dans la suite du présent chapitre, nous présentons les différents acteurs impliqués (point 6.2), avant de passer en revue chaque scénario et son budget (point 6.3).

6.2. ACTEURS PROPOSÉS

6.2.1. RIVM – Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu³⁶

Le RIVM, Institut néerlandais pour la Santé Publique et l'Environnement, héberge le laboratoire de référence pour la Poliomyélite (National Poliovirus Laboratory – NPL), au niveau de son Centre pour le Contrôle des Maladies Infectieuses.

Le NPL est notamment responsable de la surveillance environnementale des entérovirus (PV et NPEV) aux Pays-Bas, depuis plus de 20 ans. Le laboratoire national Polio des Pays-Bas a le statut de laboratoire international spécialisé pour la Polio (GSL – Global Specialized Laboratory for Polio, ou GPL – Global Polio Laboratory ; voir Acronymes et définitions), et est dès lors laboratoire de référence pour d'autres pays du monde. En pratique, cela se traduit notamment par la réalisation d'analyses d'échantillons environnementaux pour d'autres pays.

Le laboratoire international spécialisé Polio (GSL) du RIVM est accrédité OMS, et a aussi le titre de PEF. En tant que PEF, il suit les normes du GAPIII associées aux établissements PEF pour les analyses Polio (WHO, 2015). Parmi ces normes, les guidelines du GAPIII exigent notamment de travailler dans un environnement de biosécurité BSL3.

Le GSL du RIVM est également accrédité pour réaliser les tests de confirmation des échantillons Polio-positifs dans le cas où il s'agit d'un PV de type 2. En effet, pour les positifs de type 2, la confirmation doit être faite par un laboratoire RRL³⁷ (voir Acronymes et définitions) ; alors que les types 1 et 3 peuvent être confirmés par tout laboratoire Polio qui dispose de l'accréditation OMS.

En termes de ressources humaines, le laboratoire Polio se compose de six personnes, à savoir le Responsable du laboratoire, le Dr. Erwin Duizer, un Post-Doctorant en surveillance clinique, et 4 techniciens de laboratoire.

La charge analytique relative à la surveillance environnementale PV et NPEV des Pays-Bas est d'environ 120 échantillons d'eaux usées à analyser par an.

Le RIVM a étendu sa surveillance environnementale non seulement à l'ensemble des EV, mais aussi au Norovirus, Rotavirus, Sapovirus (SaV) et Adénovirus (AdV). L'ensemble du travail de collecte et de traitement des échantillons d'eaux usées pour la surveillance environnementale de la Polio est par conséquent valorisé dans la surveillance d'autres virus. Le Norovirus offre également l'avantage d'être un bon contrôle qualité, car une large proportion d'échantillons lui sont positifs, ce qui contribue à démontrer la bonne sensibilité du système de surveillance.

6.2.2. Sciensano – Service des Pathogènes alimentaires

Le service des Pathogènes alimentaires de Sciensano, l'Institut de santé publique belge, fait partie de la Direction des Maladies infectieuses humaines. Il a été sélectionné suite à un travail d'identification

³⁶ Institut néerlandais pour la Santé Publique et l'Environnement (traduction FR).

³⁷ Un GSL est dit RRL lorsqu'il est accrédité pour réaliser les tests de confirmation des échantillons Polio-positifs, via son titre de PEF.

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

des laboratoires belges disposant d'une expertise analytique en virologie et en analyse d'échantillons environnementaux. D'après nos recherches, ce service est le seul disposant à la fois d'une expertise importante en virologie, avec notamment la réalisation de PCR quantitatives, et d'une expertise dans la manipulation d'échantillons environnementaux, tels que des échantillons d'eau.

En termes de ressources humaines, le laboratoire compte 12 techniciens, 3 pour la partie virus et 9 pour la partie bactéries. Son responsable de laboratoire est le Dr. Koenraad Van Hoorde.

La charge analytique du laboratoire est importante, avec environ 220 échantillons à analyser par semaine, soit plus de 800 échantillons par mois.

En termes d'environnement de biosécurité, ce Service dispose de locaux BSL2 et 3.

Le laboratoire est aussi Centre National de Référence pour le Norovirus.

Dans la suite du rapport, nous appellerons cet acteur « Laboratoire Sciensano », pour faciliter la lisibilité.

6.2.3. Centre National de Référence (CNR) des Entérovirus, UZ Leuven

Le Centre National de Référence pour les Entérovirus (CNR EV) est situé au sein du Laboratoire de virologie clinique et épidémiologique du Département de microbiologie et immunologie du Rega Institute³⁸. Le Rega Institute fait partie de l'hôpital universitaire de l'UZ Leuven.

Le Laboratoire est Centre de Référence National pour les trois virus suivants :

- Entérovirus, y inclus le Poliovirus et le Parechovirus ;
- Hantavirus ;
- Rotavirus.

Le laboratoire est donc actuellement laboratoire de référence pour l'analyse des EV dans les échantillons cliniques. En tant que CNR EV (y inclus le Poliovirus et le Parechovirus), il a notamment pour rôle de vérifier l'absence de poliovirus dans les échantillons cliniques suspects. En outre, il identifie les type d'entérovirus en présence, de façon non systématique.

En termes de ressources humaines, le CNR EV est composé du responsable de laboratoire, le Dr. Elke Wollants, et d'un technicien de laboratoire, lui-même réparti entre les 3 CNR, Entérovirus, Hantavirus et Rotavirus.

En termes de charge analytique, à titre illustratif, en 2018, 167 échantillons ont été reçus par le CNR Entérovirus pour génotypage.

Concernant l'environnement de biosécurité, le CNR EV dispose de locaux BSL2.

Etant donné le peu de ressources humaines du CNR Entérovirus en tant que tel, à savoir un seul technicien de laboratoire, partagé entre les 3 CNR cités plus haut, il est préconisé de mobiliser les ressources d'autres unités de recherche de l'institut. Les groupes de recherche sélectionnés dans ce sens, avec lesquelles le CNR Entérovirus entretient des contacts étroits, sont :

- Le Groupe de Virologie clinique ;
Ce groupe appartient au même service que celui du CNR Entérovirus ; service piloté par le Prof. Marc Van Ranst ;
- L'Unité des maladies infectieuses zoonotiques ;
Cette unité a de l'expérience en culture cellulaire et est pilotée par le Prof. Dr. Piet Maes

Dans la suite du rapport, lorsque nous parlerons de CNR EV, il s'agira en réalité du CNR, mais aussi des deux groupes de recherche présentés ici.

³⁸ Le Rega Institute (Gasthuisberg) est l'un des cinq campus de l'hôpital universitaire UZ Leuven, lui-même associé à l'université KU Leuven

6.3. PRÉSENTATION DES DIFFÉRENTS SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS ET ANALYSE BUDGÉTAIRE

6.3.1. Scénario 1 – Sous-traitance au RIVM

Le premier scénario propose de sous-traiter l'ensemble des analyses au Laboratoire international spécialisé pour la Polio (GSL) du RIVM.

Cette option se justifie par sa longue expérience (> 20 ans) et son expertise dans la surveillance environnementale de la Polio, ainsi que de par son rôle de GSL et RRL. En tant que GSL, il joue déjà le rôle de sous-traitant dans la réalisation des analyses Polio d'échantillons environnementaux pour d'autres pays. Quant à son statut de RRL (voir Acronymes et définitions), il lui confère le rôle de confirmation d'échantillons Polio-positifs, pour d'autres pays également.

Le tableau ci-dessous résume les principaux avantages et inconvénients de ce scénario.

Tableau 6. Avantages et inconvénients du scénario 1 (RIVM)

Avantages	Inconvénients
Garantie de la bonne exécution des analyses, de par le statut de laboratoire accrédité OMS pour la Polio, et de par ses titres de GSL et RRL (voir Acronymes et définitions)	Un peu plus coûteux
Une plus grande facilité de mise en œuvre de la surveillance environnementale, avec notamment la possibilité d'un démarrage plus rapide (protocoles d'analyse préexistants; pas de formation nécessaire)	Ne renforce pas les capacités de nos instituts et laboratoires nationaux, dans le domaine de la surveillance environnementale

Mise en pratique

Le coordinateur de projet assure la bonne exécution des prélèvements ainsi que leur acheminement par un organisme indépendant vers le laboratoire GSL du RIVM. L'envoi se fait en mode express et comprend, selon la catégorie de site, entre 4 et 6 échantillons d'1L réfrigérés à 4°C. La durée de l'envoi, depuis Bruxelles jusqu'à Bilthoven (RIVM), est estimée entre 2h30 et 4h.

Les échantillons sont, dans la mesure du possible, prélevés le matin, afin que le laboratoire Polio puisse démarrer l'UltraFiltration (UF) la même journée.

Le RIVM, via son laboratoire Polio GSL, réalise l'ensemble des analyses, sur base des mêmes protocoles que les leurs, depuis l'UF jusqu'à l'analyse des résultats.

Les résultats détaillés sont envoyés au coordinateur de projet au plus tard deux semaines après réception des échantillons.

Analyse budgétaire

Concernant le coût d'envoi des prélèvements, plusieurs devis ont été demandés (BPL et DHL). Sur base de ces devis, nous estimons les frais d'envoi à environ 280 euros. Pour rappel, une catégorie de site fait l'objet de prélèvement toutes les deux semaines, ce qui correspond à 26 envois par an au total, avec un envoi toutes les 2 semaines.

Sur cette base, on estime le budget annuel pour l'envoi des échantillons au RIVM à environ ~ 7 235 euros.

Concernant les analyses des échantillons, le RIVM nous a remis une première offre estimative correspondant à ~ 100 000 euros par an. Ce budget tient compte de la fréquence d'analyse (toutes les deux semaines), et par conséquent, des 26 réceptions d'échantillons à analyser par an.

Le tableau 7 suivant résume le budget relatif au poste des « Analyses de laboratoire » relatif au 1er scénario organisationnel.

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Tableau 7. Budget lié aux analyses de laboratoire (1 an et 4 ans) – scénario 1 (sous-traitance au RIVM)

Scénario 1		
Labo (sous-traitance RIVM)	Transport	7.235
	Analyses	100.000
Sous-total Labo (RIVM)		EUR 107.235
Total Budget Labo – 4 ans surveillance		EUR 428.940

Tenant compte des frais d’envoi des échantillons et des analyses de laboratoire, le scénario 1 demande un budget total annuel d’environ 107 000 euros, soit ~ 428 000 euros pour la période de surveillance de 4 ans.

6.3.2. Scénario 2 – Laboratoire Sciensano & CNR Entérovirus

Le scénario 2 propose de distribuer le travail de laboratoire entre le Service des Pathogènes alimentaires de Sciensano, et le CNR Entérovirus de l’UZ Leuven, en tentant de valoriser au mieux l’expertise et les ressources de chacun.

Dans ce scénario, le rôle du CNR EV respecte celui de son mandat actuel de CNR Entérovirus. Pour rappel, son rôle en tant que CNR EV est d’identifier ou confirmer les échantillons cliniques positifs aux entérovirus, d’exclure la présence de PV par PCR, et enfin, pour une partie d’entre eux, de réaliser un séquençage afin d’identifier le ou les types d’entérovirus présents.

Concrètement, ce scénario propose que le laboratoire Sciensano prenne en charge l’ensemble du protocole d’analyse Polio des échantillons environnementaux, à l’exception du séquençage. Le protocole mis en œuvre par le Laboratoire Sciensano respectera les préconisations de l’OMS présentées au niveau du point 4.4 de ce rapport (exigences analytiques identifiées). Le séquençage est, quant à lui, réalisé par le CNR EV.

Le tableau 8 résume les principaux avantages et inconvénients du présent scénario.

Tableau 8. Avantages et Inconvénients du scénario 2 (Laboratoire Sciensano & CNR Entérovirus)

Avantages	Inconvénients
Option financière la plus intéressante ; reste néanmoins proche de celle du scénario 3	Demande un temps de démarrage plus long pour que le laboratoire mette en œuvre les protocoles d’analyses, et forme ses techniciens
Bonne valorisation des ressources existantes	L’ensemble des analyses n’est pas centralisé au sein d’un même laboratoire
En tant que CNR Norovirus, possibilité d’utiliser le norovirus comme contrôle qualité supplémentaire. L’expérience des Pays-Bas, qui utilisent le norovirus comme contrôle qualité complémentaire aux EV, a montré qu’il y a une plus grande proportion de noro-positifs dans les échantillons d’eaux usées, que d’EV-positifs.	

Mise en pratique

Le coordinateur de projet assure la bonne exécution des prélèvements ainsi que leur acheminement vers le laboratoire Sciensano.

Les échantillons sont, dans la mesure du possible, prélevés le matin, afin que le laboratoire puisse démarrer l’UltraFiltration (UF) la même journée.

Les étapes d’analyses en charge du Laboratoire Sciensano sont le traitement environnemental des échantillons (UF), la culture cellulaire, suivie des RT-PCR. Les échantillons entéro-positifs sont ensuite envoyés au CNR EV pour séquençage.

Dans le cas d’échantillons polio-positifs, c’est le Laboratoire Sciensano qui réalise le séquençage intratypique. Un fois le sérotype du PV connu, il y a deux cas de figure. S’il s’agit d’un type 1 ou 3 et sous

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

condition que le Laboratoire Sciensano possède l'accréditation OMS, la confirmation du résultat positif d'analyse peut se faire par le laboratoire lui-même. Dans le cas contraire, ou dès lors qu'il s'agit d'une type 2, l'échantillon est envoyé au RIVM pour confirmation.

L'ensemble des analyses est mis en œuvre dans le respect du protocole Polio préconisé par l'OMS pour les échantillons environnementaux, depuis la concentration des échantillons (UF ou autre technique) jusqu'au séquençage.

Les résultats détaillés sont envoyés au coordinateur de projet au plus tard deux semaines après la réception des échantillons.

Analyse budgétaire

Nous considérons les trois catégories de poste budgétaire suivantes :

- Matériel labo – ensemble du matériel et des équipements nécessaires au laboratoire ;
- Séquençage – travail de séquençage réalisé par le CNR Entérovirus ;
- RH – besoins en ressources humaines supplémentaires.

L'analyse budgétaire du tableau 9 ci-dessous présente le budget selon ces 3 postes.

Concernant le poste budgétaire relatif au matériel de laboratoire (et équipements divers), notre estimation se base sur :

- Les coûts réels (2013) pour l'analyse des prélèvements de la surveillance environnementale française (*Service Parisien de Santé Environnementale, 2013 – Coût annuel du service de Virologie*) ;
- Une consultation du RIVM pour confirmer que notre budget se situe de la même gamme de valeurs que le leur ;
- Une analyse des ressources disponibles au sein du Laboratoire Sciensano, que nous avons réalisée via consultation du Service³⁹.

Concernant le poste budgétaire relatif au séquençage (à réaliser par le CNR EV), les éléments suivants ont été pris en compte :

- Nous estimons à 50% le nombre d'échantillons positifs aux EV, pour lesquels un séquençage sera réalisé ;
- Nous posons un coût estimatif d'environ 100 euros par échantillon à séquencer.

Concernant les ressources humaines, les éléments suivants ont été pris en compte :

- Nous utilisons les barèmes de Sciensano, comme référence de calcul pour l'engagement du personnel ;
- Nous prévoyons l'engagement d'un technicien supplémentaire pour le laboratoire Sciensano, à temps plein. Ce technicien répond à la charge de travail émanant des ~ 144 échantillons à analyser par an. Il est toutefois nécessaire de former et mettre à disposition 3 techniciens pour ce poste, pour des raisons de support, en cas d'absence du personnel, ou encore de surcharge d'échantillons (raisons externes). Ces techniciens en support sont désignés parmi le personnel du laboratoire ;
- Une formation des futurs techniciens aux protocoles OMS est également nécessaire. L'estimation budgétaire a été réalisée en réunion de travail avec le Dr. Erwin Duizer du RIVM⁴⁰, et comprend les sujets suivants :
 - La concentration – via méthode d'UF ou dite « des deux phases » ;
 - L'isolation de Virus – estimée à ~3 jours ;
 - Le séquençage ou ITD (Différenciation intratypique), et interprétation des données – estimée à plusieurs jours.

39 Notre proposition budgétaire leur a été présentée, suite à quoi nous avons reçu une appréciation positive du budget, à partir de l'estimation faite de leurs besoins.

40 De la même manière que pour l'ensemble de l'analyse budgétaire, il s'agit ici d'une estimation.

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Tableau 9. Budget lié aux analyses de laboratoire (1 an et 4 ans) – scénario 2 (Laboratoire Sciensano & CNR Entérovirus)

Scénario 2				
Poste budgétaire	Sous-poste budgétaire	Budget annuel [€]	Commentaire	Investissement à réaliser la 1ère année [€]
Matériel labo	Total	19.405		32.320
	UF	4.975	Détails Annexe 6	8.350
	Consommables	10.000		''
	Equipements divers	3.180		12.720
	Consommables non-renouvelables	250	Basé sur données système surveillance français	''
	Maintenance	1.000		''
CNR séquençage	Total	9.000	144 éch./an dont ~ 50 % à séquencer, soit 70 éch./an ; coût estimatif séquençage ~ 100 eur/éch.	''
RH labo	Total	55.500		''
	1 ETP – technicien de laboratoire	54.000	Barèmes Sciensano	''
	Formation de 3 techniciens de labo	1.500	Estimation faite supposant formation au RIVM, budget étalé sur 4 ans ; Former 3 techniciens pour en avoir 2 en back-up	6.000
Sous-total Labo (annuel)		83.905 € ⁴¹		101.320 €
Sous-total Labo (4 ans)		335.620 €		

41

Le scénario 2 nécessite un budget annuel total d'environ 84 000 euros, soit 336 000 euros pour la période de surveillance de 4 ans.

Sur ce budget total, 9 000 euros sont prévus annuellement pour le CNR Entérovirus (séquençage), tandis que le reste contribue aux besoins du Laboratoire Sciensano, et concerne l'équipement et matériel, l'engagement d'un technicien en plus, et la formation de 3 techniciens.

L'Annexe 6 reprend ce budget avec davantage de détails.

Aperçu du travail de laboratoire demandé

Cet aperçu est également valable pour le scénario 3, moyennement quelques adaptations.

Concrètement, le Laboratoire Sciensano dispose de 7 jours (10 jours maximum) pour identifier les échantillons polio et entéro-positifs, et pour les envoyer au CNR EV.

En termes de durée des analyses, l'UF peut durer entre 2h et 48h selon la turbidité de l'échantillon. Dans le cas où l'échantillon est trop trouble, il est recommandé de le traiter comme un échantillon de boues.

En termes de charge analytique, Sciensano recevra entre 4 et 6 prélèvements à analyser chaque deux semaines, ce qui correspond à environ 144 prélèvements par an. Sur ces 144 échantillons, on s'attend à ce que la moitié au moins soit entérovirus-positifs. Par conséquent, le travail de séquençage du CNR EV concerne quant à lui environ 70 à 90 prélèvements par an, soit ~ 3 prélèvements à analyser toutes les 2 semaines.

En accord avec les protocoles d'analyse Polio de l'OMS, le laboratoire de Sciensano a déjà opéré, avant envoi au CNR EV, à l'exclusion du Poliovirus.

41 Il s'agit du budget moyen annuel, pour lequel on a amorti certains investissements sur la période de 4 ans. Les dépenses réelles comptent 17 415 euros de plus, pour la première année uniquement (à déduire des 3 années suivantes). Il s'agit des équipements de labo divers, du système d'UF, et de la formation des techniciens.

6.3.3. Scénario 3 – CNR Entérovirus

Le scénario 3 propose de centraliser l'ensemble des analyses au sein d'un même laboratoire.

Le choix du laboratoire d'analyse s'est porté sur le CNR Entérovirus, déjà familier avec la détection, ou plutôt la confirmation d'absence, de poliovirus dans les échantillons cliniques.

Le tableau 10 ci-dessous résume les principaux avantages et inconvénients de ce scénario.

Tableau 10. Avantages et inconvénients du scénario 3 (CNR Entérovirus)

Avantages	Inconvénients
Option financière intéressante, bien que légèrement plus onéreuse que le scénario 2	Demande un temps de démarrage plus long pour que le laboratoire mette en œuvre les protocoles d'analyse, et forme ses techniciens
Investissement dans un seul laboratoire, avec l'avantage d'avoir l'ensemble des analyses centralisées au même endroit (efficacité)	Absence d'expertise en traitement d'échantillons environnementaux
	Le CNR Entérovirus est choisi pour un mandat de 5 années. Dans le cas où le mandat était attribué à un autre laboratoire en cours de route, des questions quant à l'impact potentiel d'un tel changement devront être prises en considération

Mise en pratique

Le coordinateur de projet (Sciensano) assure la bonne exécution des prélèvements ainsi que leur acheminement vers le Laboratoire Sciensano.

Les échantillons sont, dans la mesure du possible, prélevés le matin, afin que le laboratoire puisse démarrer l'UF la même journée.

Le protocole mis en œuvre par le CNR EV respectera les préconisations de l'OMS présentées au niveau du point 4.4 de ce rapport.

Dans le cas d'un résultat PV positif, s'il s'agit d'un type 1 ou 3 et sous condition que le laboratoire possède l'accréditation OMS, la confirmation du résultat d'analyse positif peut se faire par le laboratoire lui-même. Dans le cas contraire, ou dès lors qu'il s'agit d'une type 2, le laboratoire envoie l'échantillon au RIVM pour confirmation.

Les résultats détaillés sont envoyés au coordinateur de projet au plus tard deux semaines après réception des échantillons.

Analyse budgétaire

L'analyse budgétaire réalisée pour le scénario 3 est illustrée par le tableau 12 ci-dessous.

En termes de ressources humaines, tout comme dans le scénario 2, nous prévoyons la formation de 3 techniciens. Un seul technicien est inclus dans le budget (temps plein), de la même façon que pour le scénario 2. Le CNR EV⁴², élargi aux deux autres groupes de recherche (présentés dans le point 6.2) dispose des ressources humaines suffisantes pour pouvoir former et mobiliser deux de ses techniciens, sur ressources humaines propres.

Etant donné les similitudes entre les scénarios 2 et 3, nous ne reprenons ici-bas que les points de différence budgétaire. Pour le reste, le budget du scénario 2 est d'application.

Ces différences budgétaires concernent uniquement le matériel de laboratoire (voir tableau 11 ci-dessous). Pratiquement, nous avons fait l'analyse des besoins matériels basée sur nos connaissances

⁴² CNR EV élargi, c'est-à-dire incluant les deux autres groupes de recherche présentés en point 6.2.3

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

des ressources disponibles au sein du CNR EV. A partir de notre estimation, le CNR a proposé plusieurs adaptations, que nous avons intégrées dans notre budget et qui se résument par:

- Pour l'équipement de labo : le besoin du CNR EV de disposer d'un flux laminaire BSL2 ;
- Pour les consommables non renouvelables : l'estimation budgétaire réalisée par le CNR EV est légèrement plus élevée que celle arrêtée pour le scénario 2

Tableau 11. Budget lié aux analyses de laboratoire (1 an et 4 ans) – scénario 3 (CNR Entérovirus)

Scénario 3				
Poste budgétaire	Sous-poste budgétaire	Budget annuel [€]	Commentaire	Investissement à réaliser la 1ère année [€]
Matériel labo	Total	25.905		50.070
	UF	4.975	Détails Annexe 6	8.350
	Consommables	10.000		"
	Total Equipement	6.930	Flux lumineaire BSL2 & divers	27.720
	Consommables non-renouvelables	3.000	Estimation faite par le CNR Entérovirus, basée sur l'analyse de leurs besoins	"
	Maintenance	1.000		"
CNR séquençage	Total	9.000	144 éch./an dont ~ 50 % à séquencer, soit 70 éch./an ; coût estimatif séquençage ~ 100 eur/éch	"
RH labo	Total	55.500		"
	1 ETP – technicien de laboratoire	54.000	Barèmes Sciensano	"
	Formation de 3 techniciens de labo	1.500	Estimation faite supposant formation au RIVM , budget étalé sur 4 ans ; Former 3 techniciens pour en avoir 2 en back-up	6.000
Sous-total Labo (annuel)		90.405 € ⁴³		119.070 €
Sous-total Labo (4 ans)		361.620 €		

43

L'Annexe 6 reprend ce budget avec davantage de détails.

6.4. SYNTHÈSE DE L'ANALYSE BUDGÉTAIRE DES SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Le tableau ci-dessous synthétise le budget global de la surveillance environnementale, et compare les 3 scénarios organisationnels.

Il s'agit d'un budget indicatif offrant une base de discussion quant au choix du scénario organisationnel. Dans la phase de mise en œuvre du système (voir point 7.), il sera prévu d'approfondir l'estimation du budget nécessaire au laboratoire, sur base d'une analyse détaillée de ses ressources propres.

43 Il s'agit du budget moyen annuel, pour lequel on a amorti certains investissements sur la période de 4 ans. Les dépenses réelles comptent 28 665 euros de plus, pour la première année uniquement (à déduire des 3 années suivantes). Il s'agit des équipements de labo divers, d'un flux laminaire BSL2, du système d'UF, et de la formation des techniciens

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Tableau 13. Budget global détaillé des 3 scénarios organisationnels

		Scénario 1 (RIVM)	Scénario 2 (Sciensano & CNR)	Scénario 3 (CNR)	
Prélèvements	Sites catégorie 1 – populations à plus haut risque (égouts)		4.635		
	Sites catégorie 2 – populations plus larges (STEPs)		1.530		
	Sites catégorie 3 – PEF (GSK)		5.080		
	Total Prélèvements		EUR 11.290		
Labo	Equipement	UF	4.975	4.975	
		Equipement divers	3.180	3.180	
		Flux laminaire BSL2	/	3.750	
		Consommables	10.000	10.000	
		Consommables non-renouvelables	250	3.000	
		Maintenance	1.000	1.000	
		Sous-total Equipement	/	EUR 19.405	EUR 25.905
	CNR séquençage	Sous-total CNR séquençage	/	EUR 9.000	EUR 9.000
		Transport	7.235		
	RIVM (sous-traitance)	Analyses	100.000		
		Sous-total RIVM	EUR 107.235	/	/
		Formation		1.500	1.500
	RH	Technicien de labo (1 ETP)		54.000	54.000
		Sous-total RH	/	EUR 55.500	EUR 55.500
Total Labo		EUR 107.235	EUR 83.905	EUR 90.405	
Coordination	Total Coordination (1/2 ETP Scientifique)		EUR 48.000		
Budget total annuel		EUR 166.525	EUR 143.195	EUR 149.370	
Budget total cycle 4 ans		EUR 666.100	EUR 572.780	EUR 597.480	

Le budget global pour la période de surveillance de 4 ans est estimé à :

- ~ 670 000 euros pour le scénario 1 (sous-traitance au RIVM)
- ~ 570 000 euros pour le scénario 2 (Laboratoire Sciensano et CNR EV)
- ~ 600 000 euros pour le scénario 3 (CNR EV)

Analyse du budget des scénarios 2 et 3

Les ressources humaines représentent environ 70% du budget total des scénarios 2 et 3. Nous incluons dans les ressources humaines : le technicien de laboratoire (temps plein), la formation de 3 techniciens aux protocoles OMS, ainsi que le coordinateur de projet (mi-temps). Cela représente un montant de 103 500 euros annuels, soit 414 000 euros pour la période de 4 années.

Sur base de notre évaluation, le budget nécessaire au laboratoire d'analyse, ressources humaines exclues (55 500 euros annuels, soit 222 000 euros pour 4 ans), est estimé à :

- ~ 113 620 euros pour la période de surveillance de 4 ans (28 405 euros annuels), pour le scénario 2 ;
Soit environ 20% du budget global
- ~ 139 620 euros pour la période de surveillance de 4 ans (34 905 euros annuels), pour le scénario 3 ;
Soit environ 23% du budget global

Le budget relatif aux prélèvements ne représente quant à lui que 7 à 8% du budget global.

6. SCÉNARIOS ORGANISATIONNELS

Analyse du budget du scénario 1 (sous-traitance au RIVM)

Pour le scénario de sous-traitance des analyse au RIVM, les deux postes principaux sont le transport et les analyses microbiologiques des échantillons d'eaux usées. Le budget nécessaire au transport des échantillons (7 235 euros annuels, soit 28 940 euros pour 4 ans) est raisonnable lorsqu'on le compare au budget propre aux analyses (100 000 euros annuels, soit 400 000 euros pour 4 ans).

Discussion générale

Sur la période de surveillance de 4 ans, on estime à environ 100 000 euros la différence budgétaire entre le scénario 1 et le 2.

Le scénario 2, combinant l'expertise du laboratoire Sciensano avec celle du CNR EV, est le plus avantageux financièrement. Toutefois, les scénarios 2 et 3 restent proches, et ne présentent qu'une différence de budget d'environ 25 000 euros sur 4 ans.

Pour plus de détails sur le budget des prélèvements, se référer au tableau 4.

Quant au budget de la partie Labo, qui concerne les scénarios 2 et 3, certaines informations complémentaires sont présentées en Annexe 6.

7. PLANIFICATION DE LA MISE EN ŒUVRE DU SYSTÈME

7.1. CALENDRIER ET TÂCHES PRINCIPALES DU COORDINATEUR DE PROJET

En accord avec les exigences opérationnelles du système, identifiées au point 4.5, la première période de surveillance environnementale est de 4 années. Après ces 4 années, une évaluation des résultats du système est réalisée et interprétée en tenant compte des besoins de santé publique afin de décider si la surveillance est ou non reconduite.

Cette durée minimale de 4 ans a été choisie afin de pouvoir en tirer des conclusions suffisamment argumentées quant au risque de circulation de poliovirus en Belgique. C'est ce risque de circulation, ainsi que la qualité suffisante de la surveillance, qui pèsera dans la décision de reconduction du système.

La bonne coordination du système représente un facteur de réussite important de la surveillance environnementale des PV et NPEV. Elle a d'ailleurs été identifiée comme une exigence opérationnelle au succès du projet, au même titre que la période de 4 ans.

Nous recommandons que le coordinateur de projet soit une personne externe au(x) laboratoire(s) d'analyses. Nous proposons d'ancrer la coordination au sein de Sciensano, l'Institut de santé publique belge, et plus précisément au niveau du Service Epidémiologie des maladies infectieuses car ce service coordonne déjà la concertation des partenaires en matière d'identification des actions visant à atteindre l'objectif d'éradication et la réalisation de la surveillance clinique Polio. L'ensemble des données de surveillance Polio seront donc centralisées au même endroit, afin de permettre une analyse épidémiologique optimale.

Le calendrier global de la surveillance peut être résumé par la figure 4 ci-dessous, et présente plusieurs moments clés, à savoir :

- La mise en œuvre du système, avec deux phases principales :
 - Une phase de démarrage estimée à 2-3 mois; ■■■
 - Une période d'implémentation du système évaluée à 6 mois, ■■■
qui comprend principalement la rédaction des protocoles et des méthodes de travail propres au laboratoire d'analyse.
- Des périodes de révision annuelle du système ■■■



Figure 4. Calendrier global de la surveillance environnementale, et moments clés

A noter que le scénario 1, à savoir la sous-traitance des analyses au RIVM, n'est pas concerné par la première phase de mise en œuvre du système, puisque le laboratoire est déjà complètement opérationnel.

Calendrier global de la surveillance environnementale mis en pratique

L'étape préalable à la mise en œuvre de la surveillance environnementale est le recrutement d'un scientifique engagé à mi-temps pour la coordination du projet (gestionnaire de projet). C'est au coordinateur de projet que revient la tâche d'implémentation du système, qu'il réalisera en tenant compte de l'ensemble des résultats de la présente étude de faisabilité.

La première période de 3 mois (phase de démarrage) comprend plusieurs tâches importantes et prioritaires. Ces tâches s'appliquent aux scénarios organisationnels 2 et 3, et concernent principalement:

- La validation des exigences techniques relatives aux prélèvements ;
- L'ajustement budgétaire selon le scénario opérationnel retenu, sur base d'une analyse détaillée des besoins du laboratoire sélectionné ;
- La formation des techniciens de laboratoire aux protocoles OMS (voir point 6.3.2. – Présentation scénario organisationnel 2) ;
- Le démarrage de la procédure de demande d'accréditation OMS (voir détail point 4.4. – Exigences analytiques à la détection de PV et NPEV).

La première tâche du coordinateur de projet est la validation des exigences techniques relatives aux prélèvements. Cette validation couvre trois éléments principaux. Premièrement, il s'agit de valider la localisation précise du site de Matonge avec l'aide de Vivaqua. Pour cela, les critères prédéfinis devront être pris en compte (voir point 5.2. – Sélection des sites de catégorie 1 ; paragraphe sur la faisabilité technique). En second lieu, le choix de la STEP de Deurne (Anvers), par rapport à la STEP d'Anvers-Sud, est validée avec l'aide d'Aquiris. Il s'agit de confirmer, sur base des plans du réseau d'assainissement, que la STEP de Deurne couvre bien les quartiers identifiés comme étant les plus à risque (voir figure 1). Enfin, le coordinateur de projet s'assurera du respect des exigences techniques quant aux prélèvements en STEP et en égouts, dans leur ensemble (voir point 4.3.).

Il s'agit aussi de préciser les modalités de collecte avec les différents acteurs techniques concernés, à savoir : Vivaqua (quartier Matonge) et la Régie des bâtiments (centre d'accueil « Petit Château ») pour les sites de catégorie 1 ; les gestionnaires des STEP de Bruxelles-Sud (SBGE) et d'Anvers (Aquiris) pour les sites de catégorie 2 ; et le gestionnaire de la STEP de Rosières (InBW) et GSK pour le prélèvement à réaliser sur leur site propre.

Enfin, le coordinateur de projet a pour tâche le suivi du processus d'accréditation environnementale OMS du laboratoire⁴⁴. L'accréditation OMS est fortement recommandée car elle offre une garantie de qualité des résultats, ces protocoles ayant déjà fait leurs preuves en application à la surveillance environnementale, comme l'expérience des Pays-Bas peut notamment en témoigner. En outre, il s'agit d'utiliser un protocole standardisé, permettant d'obtenir des résultats comparables à ceux des pays voisins accrédités OMS.

Après ces 3 premiers mois de démarrage, et jusqu'à 6 mois après la mise en œuvre, le coordinateur de projet veillera à la bonne implémentation du système de surveillance.

Cela comprend notamment le contrôle de la bonne conformité des protocoles de laboratoire avec les standards en vigueur (point 4.4.), à savoir :

- les Guidelines de l'OMS pour la surveillance environnementale de la circulation du PV (WHO, 2003) ;
- le Manuel de laboratoire Polio (WHO, 2004b, (n.d.-a). S1, (n.d.-a). S2) ;
- les règles de Biosécurité (WHO, 2004a) ;
- le cadre réglementaire des GAPIII (Global Action Plan III – WHO, 2015).

⁴⁴ Il n'existe jusqu'à présent pas d'accréditation proprement dite pour la surveillance environnementale des PV (info datant de janvier 2020). Un cadre réglementaire et une accréditation spécifique à l'environnement est actuellement en cours de finalisation. Dans l'attente, les mêmes check-lists que celles prévues pour les échantillons cliniques sont recommandées.

7. PLANIFICATION DE LA MISE EN ŒUVRE DU SYSTÈME

Cela comprend aussi la précision du rôle et des tâches de chaque acteur, avec la mise en place de procédures et documents divers, pour une bonne gestion du système dans son ensemble.

Une évaluation du système de surveillance environnementale est prévue tous les ans, étant donné la nature de cette première expérience pilote à l'échelle belge. Cette révision annuelle comprend :

- La révision du choix des sites de prélèvements du réseau de surveillance ;
- L'adaptation éventuelle des protocoles de laboratoire ;
- Toute autre amélioration du système.

Dans le cas où les sites de prélèvements sont adaptés lors de ces révisions annuelles, nous suggérons de maintenir le nombre total d'échantillons collectés à ~ 150 par an. Il s'agit de ce fait de garantir un nombre raisonnable d'analyses, qui soit stable au cours du temps.

7.2. SURVEILLANCE DE ROUTINE, ET SURVEILLANCE RENFORCÉE

La surveillance environnementale proposée dans cette étude se veut principalement être une surveillance de routine ; chaque site de prélèvement du réseau faisant l'objet d'analyses d'eaux usées à intervalles réguliers.

Toutefois, en cas de besoin spécifique, le réseau de surveillance de routine pourrait être renforcé par des prélèvements supplémentaires. Un de ces besoins pourrait être la survenue d'un incident « Polio ». Nous pensons notamment à toute suspicion de déversement accidentel de PV dans l'environnement, dont la source serait un établissement manipulant le virus (p.ex. le déversement accidentel de PV dans la Lasne en 2014 à partir du site GSK Rixensart - *Cebedeau, 2014 ; Duizer et al., 2016 ; Unité R&D Aquapôle - ULg, 2014*). Un autre besoin pourrait résulter d'une constatation de réintroduction de PV sur le territoire belge, ou encore de toute prise en compte des actualités à l'échelle internationale (nouvelles épidémies).

Nous recommandons que toute surveillance renforcée se fasse à la demande du Risk Management Group, après analyse de risque.

Une des valeurs ajoutées de la surveillance environnementale pour la Belgique est certainement la plus grande capacité à gérer de futurs incidents potentiels concernant le déversement accidentel de PV, comme celui que nous avons connu en 2014 (GSK Rixensart). En effet, étant donné que le dispositif de surveillance environnementale couvrira le PEF le plus critique (GSK Rixensart), avec des dispositifs d'échantillonnage préinstallés, et que de plus, les méthodes de prélèvement et d'analyse seront maîtrisées, il semble juste de penser que nous serons ainsi capable de présenter une réponse efficace plus rapidement.

7.3. FLUX DE COMMUNICATION EN CAS D'ÉCHANTILLON PV-POSITIF

En termes de flux de communication, tout résultat positif pour le PV doit être reporté au point focal national pour le règlement sanitaire international (SPF santé publique, sécurité de la chaîne alimentaire et environnement, Département des Relations Internationales - IBRI), qui doit lui-même en informer l'OMS mais aussi le Risk Assessment Group, qui analysera le risque pour la population belge.

En parallèle, une confirmation du résultat d'analyse Polio-positif doit être réalisée.

Pour cette confirmation, il faut considérer deux cas de figure distincts, selon qu'il s'agisse d'un type 1 ou 3, ou bien d'un type 2. Dans le cas d'un type 1 ou 3, le laboratoire peut faire la confirmation lui-même, à condition d'être accrédité OMS. Quant à l'identification d'un type 2, la confirmation doit être faite par un laboratoire RRL, i.e. laboratoire régional de référence Polio, ayant de plus le titre de PEF. L'envoi de l'échantillon se fait par voie postale classique, après avoir pris les précautions suffisantes à l'inactivation du virus.

Voici la liste des laboratoires, RRL et PEF, accrédités pour les tests de confirmation des échantillons Polio-positifs :

- RIVM, Pays-Bas

7. PLANIFICATION DE LA MISE EN ŒUVRE DU SYSTÈME

- Institut Pasteur, France

! non recommandé pour cause de la durée et du coût plus conséquents ; dû au fait que la France se situe dans une autre catégorie de sécurité pour les échantillons de PV, ce qui impacte les exigences relatives au- transport (l'envoi doit se faire en « classe A », alors que la « classe B » est de vigueur pour le reste de l'Union Européenne

- NBIC, Royaume-Unis (prévu dans un futur proche – à confirmer)

8. CONCLUSIONS

La présente étude valide la faisabilité technique d'une surveillance environnementale des poliovirus en Belgique. Il s'agit pour la Belgique de disposer d'un outil qui permette de démontrer l'absence de poliovirus (PV) circulant et de détecter rapidement toute réintroduction du virus. La surveillance environnementale est complémentaire à la surveillance actuellement réalisée (basée essentiellement sur la notification obligatoire des cas de PFA survenant chez les < 15 ans). Son implémentation permettrait de mieux répondre aux exigences de l'OMS dans le contexte de la lutte mondiale pour l'éradication de la Poliomyélite. Une telle surveillance environnementale serait adaptable, pouvant être intensifiée en cas d'incident relatif au PV (p.ex. déversement accidentel dans l'environnement) ou étendue à la surveillance d'autres pathogènes (p. ex. norovirus, rotavirus...), et ce, selon les priorités de santé publique.

Les exigences opérationnelles nécessaires à l'implémentation d'une surveillance environnementale des PV dans le pays sont multiples. Tout d'abord, le système doit offrir une sensibilité suffisante, à savoir, permettre la détection d'une seule et unique personne émettrice de poliovirus dans les zones identifiées comme les plus sensibles. D'autre part, la surveillance doit couvrir les personnes et les zones les plus à risque de PV, et être suffisamment représentative de la population belge.

Afin de répondre à ces exigences, le réseau de surveillance environnementale en Belgique devrait se composer de plusieurs sites d'échantillonnage. Cette étude de faisabilité identifie les sites potentiels : le site GSK Rixensart, en tant que « would-be-PEF » le plus critique, le centre d'accueil pour demandeurs d'asile « Petit Château » et le quartier congolais « Matonge » de Bruxelles. Pour assurer une bonne représentativité de la population, deux stations d'épuration des eaux usées, une à Bruxelles, et la seconde à Anvers, seraient également incluses au réseau de surveillance. Cette étude confirme la faisabilité technique de contrôler ces différents endroits du réseau d'assainissement belge (égouts et stations d'épuration des eaux usées), propose un plan d'échantillonnage adapté, et un projet sur 4 ans avec réévaluation annuelle.

Le coût annuel pour un projet de surveillance environnementale de 4 ans, est estimé entre 143 000 € et 166 500 €. La part principale de ce budget (~ 70%) revient à l'analyse des échantillons (ressources humaines, matériels, coûts des analyses, etc.). Pour son organisation, trois scénarios potentiels sont retenus : (1) La sous-traitance des analyses au RIVM (Institut National pour la Santé Publique et l'Environnement, Pays-Bas) ; (2) La distribution du travail d'analyse entre deux laboratoires : Service des pathogènes alimentaires (Sciensano) & le CNR Entérovirus (UZ Leuven) ; et (3) la réalisation des analyses exclusivement par le CNR Entérovirus. Chaque scénario organisationnel présente des avantages et des inconvénients, y compris en termes de budgets, qui sont développés en détail dans cette étude de faisabilité afin de faciliter le choix des autorités compétentes.

BIBLIOGRAPHIE

* Les documents marqués d'une astérisque sont des documents de travail internes à Sciensano.

Administration wallonne. (2019). Laboratoires agréés pour les analyses en matière de protection d'eaux de surface et potabilisables contre la pollution. Retrieved from <http://environnement.wallonie.be/de/esu/laboeau.pdf>

Antona, D., Lévêque, N., Dubrou, S., Chomel, J., Lévy-bruhl, D., & Lina, B. (2005). Surveillance des entérovirus en France métropolitaine, 2000-2004. *BEH*, 39-40.

* Aquafin. (2019). Liste des STEPs - STations d'EPuration des eaux usées - des villes d'Anvers et de Gand, Aquafin, 9 sept 2019.

Aquawal. (2012). Guide pratique à l'usage des communes et relatif à l' assainissement. Namur.

* Belgian National Certification Committee (2018) – CNN. Annual update on Polio eradication activities, 2018, Belgium. Belgian National Certification Committee for the Eradication of Polio (Standardized WHO reporting form).

Benschop, K. S. M., Avoort, H. G. Van Der, Jusic, E., Vennema, H., Binnendijk, R. Van, & Duizer, E. (2017). Polio and Measles Down the Drain : Environmental Enterovirus Surveillance in the Netherlands , 2005 to 2015. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(13), 1-12.

* BPL. (2019). Offre de prix « BPL » pour le transport des échantillons de Sciensano au RIVM, échange d'e-mails, octobre 2019.

Cebedeau. (2014). Déversement accidentel d'un milieu de culture biologique dans le réseau d'égouttage : devenir du virus de la polio dans la STEP de Rosières. Liège.

cgra/cgvs. (2019). Les statistiques d'Asile du CGRA - Commissariat Général aux Réfugiés et Apatrides. Retrieved from https://www.cgra.be/fr/chiffres?field_cijfers_month_year_value%5Bvalue%5D%5Byear%5D=2019

* DHL. (2019). Offre de prix « DHL sameday » pour le transport des échantillons de Sciensano au RIVM, échange d'e-mails, octobre 2019. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Duizer E, Ruijs WL, van der Weijden CP, T. A. (2017). Response to a wild poliovirus type 2 (WPV2) -shedding event following accidental exposure to WPV2, the Netherlands, April 2017. *Www.Eurosurveillance.Org*, pp. 1-5

Duizer, E., Rutjes, S., Husman, A., & Schijven, J. (2016). Risk assessment, risk management and risk-based monitoring following a reported accidental release of poliovirus in Belgium, September to November 2014. www.eurosurveillance.org, pp. 1-11. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.11.30169>

European Center for Disease Prevention and Control. (2018). Disease factsheet about poliomyelitis. Retrieved July 11, 2018, from <https://www.ecdc.europa.eu/en/epidemiology/facts>

* European Regional Commission (RCC) for certification of poliomyelitis eradication, May 2019. Denmark.

Européennes. (1991). Européennes, L. C. des C. Directive du Conseil du 21 mai 1991 relative au traitement des eaux urbaines résiduaires (91/271/CEE).

* Fedasil. (2019a). Liste des centres accueil de demandeurs asile - Partenaire, capacité, et localisation, situation septembre 2019.

* Fedasil. (2019b). Petit Château - Capacité et occupation - Fedasil – situation au 2019 07 31. Bruxelles.

BIBLIOGRAPHIE

Global Polio Eradication Initiative. (2015). Guidelines on Environmental Surveillance for Detection of Polioviruses - DRAFT.

GPEI. (n.d.-a). Interactive map showing Polio cases within desired timeframe. Retrieved from <http://polioeradication.org/polio-today/polio-now/>

GPEI. (n.d.-b). Latest weekly information on polio - cases cVDPV and WPV, per country. Retrieved from <http://polioeradication.org/polio-today/polio-now/this-week/>

* IBSA. (2016). Quartier Matonge, Statistiques de la distribution de la nationalité congolaise à la naissance, chiffres par secteurs statistiques, IBSA & Statbel, situation au 1er janvier 2016. Brussels.

* IBSA. (2018a). Distribution des Communautés étrangères - par Région et par Commune à Bruxelles - 1.3.2.4. Nationalités à la naissance - IBSA – situation au 2018 01 01. Bruxelles.

* IBSA. (2018b). Statistiques des nationalités à la naissance à Bruxelles, pour l’Afghanistan, la RDC, et le Pakistan. Top 10 des quartiers les plus représentés pour chacune des 3 nationalités. IBSA & SPF Economie - Statistics Belgium (Registre national), situation au 1er janvier 2018. Brussels.

* Lesenfants, Marie. (2019). Echange d’e-mails sur le système d’assainissement belge, informations reçues par la SPGE, et complétées par INASEP, Marie Lesenfants, avril 2019.

* Lesenfants, Marie. (2019b). Echange d’e-mails sur le système d’assainissement belge, informations reçues par la SPGE, Marie Lesenfants, avril 2019.

* Lesenfants, Marie. (2019c). Document de synthèse reprenant les informations relatives à la faisabilité technique des prélèvements et aux choix des sites.

* Lettre cabinet SPF santé (17/08/2018) – concerne : Etude de faisabilité Surveillance Environnementale Polio. (2018). Bruxelles.

Lodder, W. J., Buisman, A. M., Rutjes, S. A., Heijne, J. C., Teunis, P. F., & Husman, A. M. D. R. (2012). Feasibility of Quantitative Environmental Surveillance in Poliovirus. *American Society for Microbiology*, 78(11), 3800–3805. <https://doi.org/10.1128/AEM.07972-11>

Régie des bâtiments. (2019). Plan de l’infrastructure du réseau d’assainissement du bâtiment du “Petit Château.” Bruxelles.

Rodríguez, R. A., Pepper, I. L., & Gerba, C. P. (2009). Application of PCR-based methods to assess the infectivity of enteric viruses in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(2), 297–307. <https://doi.org/10.1128/AEM.01150-08>

Sciensano. (2018a). Annual update on Polio eradication activities. In WHO report. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

* Sciensano. (2018b). National Action Plan to Sustain Polio-Free Status, avril 2018.

* Sciensano. (2019b). Compte-rendu de réunion avec Ir Karl Mot de Vivaqua - Informations diverses relatives à la faisabilité technique de prélever dans les égouts à Bruxelles, et éléments de coût (19/08/2019).

* Sciensano. (2019c). Echanges d’e-mail avec Mr Chauveheid Eric de Vivaqua - Estimation du budget relatif aux prélèvements manuel en égout à Bruxelles (6/09/2019).

* Service Parisien de Santé Environnementale. (2013). Coût annuel du service de Virologie, concerne l’analyse des prélèvements de la surveillance environnementale EV en France. 2013.

Skraber, S., Schijven, J., Italiaander, R., Maria, A., & Husman, D. R. (2009). Accumulation of enteric bacteriophage in fresh water sediments. *Journal of Water and Health*, 07, 372–379. <https://doi.org/10.2166/wh.2009.098>

SPGE. (n.d.). Plan d’Assainissement par Sous-bassin hydrographique - application WebPASH. Retrieved from <https://sig.spge.be/carto/apps/webappviewer/index.html?id=3776efbe2076447f8fddd169360266ae>

BIBLIOGRAPHIE

- Statbel. (2018). Acquisition de la nationalité belge, Top 5 - Chiffres 2018, Site web de Statbel. Retrieved from <https://statbel.fgov.be/en/themes/population/changes-nationality>
- Statistics Belgium. (2017). Distribution de la population étrangère par région. Retrieved from https://statbel.fgov.be/sites/default/files/files/documents/FR_kerncijfers_2017_web.pdf
- statistiekvlaanderen. (2017). Répartition des communautés étrangères en Belgique, chiffres de 2017. Retrieved September 20, 2009, from <https://www.statistiekvlaanderen.be/nl/bevolking-naar-herkomst-0>
- * STATISTIK VLAANDEREN. (2018). Statistiques de la nationalité afghane (à la naissance), présentées par secteurs statistiques, municipalité d'Anvers, situation au 1/01/2018.
- Tebbens, R. J. D., Pallansch, M. A., Chumakov, K. M., Halsey, N. A., Hovi, T., Minor, P. D., ... Thompson, K. M. (2013). Expert Review on Poliovirus Immunity and Transmission. *Risk Analysis*, 33(4), 544–605. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2012.01864.x>
- Thomassen, Y. E., Eikenhorst, G. Van, Pol, L. A. Van Der, & Bakker, W. A. M. (2013). Isoelectric Point Determination of Live Polioviruses by Capillary Isoelectric Focusing with Whole Column Imaging Detection. *American Chemical Society*, 85, 6089–6094. <https://doi.org/10.1021/ac400968q>
- Unité R&D Aquapôle - ULg. (2014). Simulation du rejet accidentel de « microorganismes polio » par GSK dans le Lasne et la Dyle avec le modèle PEGASE - Rapport final V3. Liège.
- Vandermeersch, S. (2006). Etude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des micro-organismes pathogènes. Université Libre de Bruxelles.
- WHO. (n.d.-a). S1. Supplement to the WHO Polio Laboratory Manual An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization.
- WHO. (n.d.-b). S2. Supplement to the WHO Polio Laboratory Manual Adaptation of newly received cells to local conditions.
- WHO. (2003). Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. In *Vaccine and Biologicals*.
- WHO. (2004a). Laboratory biosafety manual - Third edition.
- WHO. (2004b). Polio laboratory manual, 4th edition. Retrieved from http://polioeradication.org/wp-content/uploads/2017/05/Polio_Lab_Manual04.pdf
- WHO. (2015). Global Action Plan III - Guidelines. In World Health Organization. Retrieved from http://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/12/GAPIII_2014.pdf
- WHO. (2019a). Online Laboratory Data Management System (LDMS). Retrieved from <http://ldms.euro.who.int/Account/LogOn?ReturnUrl=%2F>
- WHO. (2019b). Statement of the Twenty-Second IHR Emergency Committee Regarding the International Spread of Poliovirus. Retrieved October 3, 2019, from <https://www.who.int/news-room/detail/03-10-2019-statement-of-the-twenty-second-ihr-emergency-committee-regarding-the-international-spread-of-poliovirus>

ANNEXES

ANNEXE 1 – IMPACT DU SCHÉMA VACCINAL SUR L'IMMUNITÉ ET LA TRANSMISSION DU POLIOVIRUS

La présente annexe résume l'effet du statut vaccinal et du schéma vaccinal reçu sur la durée et la concentration de l'excrétion de poliovirus dans les selles après exposition au virus. L'ensemble de ces données sont issues de la revue rédigée en 2013 par Tebbens *et al.* et sont transposées au contexte belge.

Immunité vaccinale

Le tableau ci-dessus résume l'immunité induite par la vaccination antipoliomyélitique, selon le schéma vaccinal reçu.

Type d'immunité développée	Vaccination OPV	Vaccination IPV
Immunité de la muqueuse intestinale	Oui	Non
Immunité de la muqueuse oropharyngée	Très faible	Importante

Note : Tout comme l'exposition naturelle à un poliovirus vivant, l'OPV (vaccin oral) mène à la réplication de la forme atténuée du poliovirus dans l'intestin, et donc, son excrétion dans les selles

Excrétion fécale selon schéma vaccinal reçu

Le tableau ci-dessous présente la capacité d'une personne à excréter le poliovirus dans ses selles dans le cas d'un contact avec un poliovirus vivant (Live poliovirus, LPV c'est-à-dire WPV, OPV, ou cVDPV), selon le schéma vaccinal reçu. Nous distinguons le schéma vaccinal reçu, ainsi que son caractère complet ou incomplet.

IPV (1 dose)	IPV (schéma complet)	OPV (1 dose)	OPV (schéma complet)	IPV (1 dose) + OPV (1 dose)
L'excrétion dans les selles est inchangée	La personne présentera une excrétion oropharyngée très réduite mais excrétera toujours le poliovirus dans ses selles	Réduirait de 50% la susceptibilité à l'excrétion fécale	La personne n'excrétera pas ou très peu de poliovirus dans ses selles	Idem OPV (1 dose)

Durée d'excrétion du poliovirus dans les selles

Sans tenir compte du schéma vaccinal, on peut évaluer qu'après contact avec un poliovirus vivant, la personne excrétera le poliovirus dans ses selles pendant une durée d'environ un mois.

Dans la pratique, la durée d'excrétion, de même que la concentration de poliovirus dans les selles, varieront selon le statut vaccinal, l'exposition préalable ou non à un poliovirus vivant (LPV), et le schéma vaccinal reçu. Ceci est résumé dans le tableau ci-dessous.

Sujet/ schéma vaccination	Durée excrétion fécale
Non vacciné	> 2 sem pour > 50% des sujets ⁴⁵ > 4 sem pour ~ 40% des sujets
Absence de contact préalable avec un LPV (i.e. WPV, cVDPV, ou OPV)	> 2 sem pour > 50% des sujets > 4 sem pour ~ 40% des sujets
Contacts multiples avec un LPV	> 3 sem
IPV (1 dose) + LPV (1 dose)	> 3 sem
Vaccination IPV complète (≥ 3 doses)	> 3 sem pour > 50% des sujets

Conclusions pour la Belgique

Pour rappel, depuis 2001, le vaccin utilisé en Belgique est l'IPV. Concrètement, cela signifie qu'environ 25% de la population (< 20 ans selon les chiffres de 2019) est vaccinée avec l'IPV, tandis que les 75% restants seraient vaccinés avec l'OPV.

Dans ce contexte, en cas de contact d'une personne avec un poliovirus vivant, on peut raisonnablement considérer une durée d'excrétion moyenne de 3 semaines, avec une concentration de poliovirus dans les selles plus importante chez les jeunes < 20 ans (vaccinés à l'IPV).

45 Signifie que pour 50% des sujets restants, l'excrétion dure 2 semaines ou moins

ANNEXE 2 – LISTE DES PERSONNES CONSULTÉES

Organisme	Personne(s) de contact	Fonction	E-mail/ tél.
Aquaфин	Katrien MOUBAX		katrien.moubax@aquafin.be
Aquaфин	Anthony QVICK		anthony.qvick@aquafin.be
Aquaфин	Greta VOS		g.vos@vmm.be
Centre Hospitalier Universitaire Saint-Pierre, Service de Maladies Infectieuses	Dr Charlotte MARTIN		Charlotte_MARTIN@st-pierre-bru.be +32 2 535 41 30
Croix-Rouge	Quentin COURTOIS	Directeur centre de Belgrade, Département Accueil des demandeurs d'asile	quentin.courtois@croix-rouge.be
Fedasil, Direction appui à la politique	Philippe LOUIS	Responsable Data & Analyse	philippe.louis@fedasil.be
Fedasil, Dispatching médical	Brigitte VAN HOVE		Brigitte.VanHove@fedasil.be
Fedasil, Services Opérationnels	Mie Neyts	Gestion médicale	Mie.Neyts@fedasil.be
Food Pathogens Service, Sciensano	Sarah DENAYER		Sarah.Denayer@sciensano.be
Food Pathogens Service, Sciensano	Bavo VERHAEGEN		bavo.verhaegen@sciensano.be
Food-borne pathogens Service, Sciensano	Koenraad Van Hoorde	Head of Service	Koenraad.VanHoorde@sciensano.be
Gouvernement flamand, STATISTIEK VLAANDEREN	Jan PICKERY		jan.pickery@vlaanderen.be T 025535739 M 0491921007
GSK	Christophe PIERRET	Biosafety Officer Belgium	christophe.x.pierret@gsk.com
GSK	Danielle CAUCHETEUX	Senior Manager, Expert Biosafety	
GSK	Isabelle KNOTT	Director QC & raw material	
GSK	Mieke VERRUE	Senior Manager, EHS Support Services	
GSK	Pierre THYSMAN	Head of MSAT Primary Viral	
GSK	Jeroen DE VLAM	Director EHS Belgium	
IBSA (Institut Bruxellois de Statistique et d'Analyse), Cellule Territoire et Population	Dario HAMESE	Gestionnaire de données « Monitoring des quartiers »	dhamesse@perspective.brussels monitoringdesquartiers@perspective.brussels
IBSA (Institut Bruxellois de Statistique et d'Analyse), Cellule Territoire et Population	Astrid SIERENS	Gestionnaire de données "Territoire et Population"	asierens@perspective.brussels
IMT	Ula Maniewski-Kelner		umaniewski@itg.be
INASEP (Organisme d'assainissement agréé - OAA de Namur)	Eric LEFEVRE	Responsable Collecteurs & STEP	
InBW (Intercommunale du Brabant Wallon)	Pierre-Yves VANHERCK	Chef de zone, responsable STEP Rosières	pyvanherck@inbw.be
InBW (Intercommunale du Brabant Wallon)	Stéphane CAPELLE	Responsable Collecteur	scapelle@inbw.be
ISSeP (Institut Scientifique de Service Public)	Emerance Bietlot	Project Manager, Environmental Monitoring Department	e.bietlot@issep.be +32 4 229 83 47
KU Leuven REGA Institute	Dr Marc VAN RANST	Head of the NRC labs: EV, Rotav, Hantav	vanranstmarc@gmail.com

Organisme	Personne(s) de contact	Fonction	E-mail/ tél.
Luxembourg Institute of Science and Technology (LIST)	Dr. Leslie OGORZALY	Environmental Research & Innovation (ERIN)	leslie.ogorzaly@list.lu
Mode de vie et Maladies chroniques, Sciensano	Lies GREMEAUX		Lies.Gremeaux@sciensano.be
NAC (National Authority for Containment), FPS – Health, Food Chain Safety and Environment	Dr. Yseult NAVEZ		ibri@health.fgov.be, yseult.navez@health.fgov.be
NRC (National Reference Center) Hantavirus, KU Leuven REGA Institute	Prof. Piet MAES	NRC Hanta Lab Manager	piets.maes@kuleuven.be
NRC (National Reference Center) Polio/Enterovirus, KU Leuven REGA Institute	Eike WOLLANTS	NRC Polio/Enterovirus Lab Manager, Clinical and Epidemiological Virology	elke.wollants@kuleuven.be
ONE	Ingrid MORALES		Ingrid.Morales@one.be
ONE	Paloma CARRILLO-SANTISTEVE	Médecin Adjointe Direction Santé, Responsable programme de vaccination FW- B	Vaccination@one.be
Régie des Bâtiments, Direction Bruxelles	Vanhoof MICHEL	Expert technique, Service Gestion-Facility	Michel.Vanhoof@buildingsagency.be
Régie des Bâtiments, Direction Bruxelles	Sarra BLAIECH	Cheffe de service - Conseiller Architecte, Service Gestion-Facility	
Régie des Bâtiments, Direction Bruxelles	Céline GUSTIN	Cheffe de service, Service Facility & Entretien	02 541 62 74
Régie des Bâtiments, Direction Bruxelles	Maria GUTTIEREZ	Contrôleur des travaux	
Région Wallonne, DEE - Direction des Eaux de Surface	Benoît TRICOT		081 33 63 92
Région Wallonne, DPC - Département de la Police et des Contrôles	Jean-Pierre GODFRIN	Inspecteur Général	Jeanpierre.godfrin@spw.wallonie.be
Région Wallonne, DPC - Département de la Police et des Contrôles	Karine Declercq	Agent de Police Judiciaire, Responsable Dossier GSK	karine.declercq@spw.wallonie.be 071/65.47.35
RIVM (National Institute for Public Health and the Environment), National Polio Laboratory, Center for Infectious Diseases Control (Cib)	Dr. Erwin DUIZER	Head of National Polio Lab	Erwin.Duizer@rivm.nl

Organisme	Personne(s) de contact	Fonction	E-mail/ tél.
SBB (Service Biosafety and Biotechnology), Sciensano	Kafia PAUWELS	ex- National Polio Containment Coordinator (2012 – 2018)	Kafia.Pauwels@sciensano.be
SBB (Service Biosécurité et Biotechnologie), Sciensano	Chuong Dai DO THI, M.Sc.	National Poliovirus Containment Coordinator (NPCC)	ChuongDai.DoThi@sciensano.be
Sciensano, Service des maladies infectieuses	Dr. Chloé Wyndham Thomas	Coordinatrice de la surveillance nationale Polio	Chloe.WyndhamThomas@sciensano.be
Sciensano, Service Gestion des échantillons	Nathalie Stassen	Chef de Service	Nathalie.Stassen@sciensano.be
Sciensano, Service Gestion des échantillons	Jonathan Masala	Responsable technique	Jonathan.Masala@sciensano.be
Sciensano, Service Gestion des échantillons	Mariène Reinquin	Réception (échantillons DHL)	Reception@sciensano.be
Service Parisien de Santé Environnementale (ex- Labo d'hygiène de la ville de Paris)	Damien CARLIER	Directeur du Laboratoire Microorganismes et Allergènes	damien.carlier@paris.fr
Service Qualité des vaccins et des produits sanguins, Sciensano	Geneviève WAETERLOOS	Chief of Service	Genevieve.Waeterloos@sciensano.be
SPF santé, DVZ Leefmilieu- Gezondheid / SDP Milieu-Gezondheid / SDP Environnement-Santé, Secrétariat NEHAP	Min Hee VANDERSTEENE	Deskundige administratieve ondersteuning	minhee.vandersteene@health.fgov.be
SPF santé, DVZ Leefmilieu-Gezondheid / SDP Milieu-Gezondheid / SDP Environnement-Santé, Secrétariat NEHAP	Dr. Yselt NAVEZ		ibri@health.fgov.be yselt.navez@health.fgov.be
SPGE (Société Publique de la Gestion de l'Eau)	Jean-Luc LEJEUNE		jean-luc.lejeune@spge.be
SPGE (Société Publique de la Gestion de l'Eau)	Sarah WAUTELET		sarah.wautelet@spge.be
Uantwerpen, Faculty of Pharmaceutical, Biomedical and Veterinary Sciences	Peter Delpitte	Professor of Virology and Vaccinology, Laboratory of Microbiology, Parasitology and Hygiene (LMPH)	peter.delpitte@uantwerpen.be
Univercells	Christian Borgniet		c.borgniet@univercells.com
Univercells	José Castillo		j.castillo@univercells.com
Université de Liège, Aquapole	Paul MAGERMANS	Responsable technique, Modèle Pegase	Paul.magermans@uliege.be, +32 4 366 48 74
Universiteit Antwerpen, Centrum voor de Evaluatie van Vaccinatie, Vaccin & Infectieziekten Instituut	Prof. Dr. Pierre VAN DAMME		pierre.vandamme@uantwerpen.be
Vivaqua	Ir. Karl MOT	Secrétaire général	karl.mot@vivaqua.be
Vivaqua	Eric CHAUVEHEID, Dr. Sc.	Chef de Division DS/Laboratoire & Logistique	eric.chauveheid@vivaqua.be 02/629 49 21

ANNEXE 3 – LISTE DES ENTITÉS CONSULTÉES, PRÉSENTÉE PAR THÉMATIQUE DE RECHERCHE

Entités consultées	
Cadre institutionnel	
	NAC (National Authority for Containment), FPS – Health, Food Chain Safety and Environment
	SPF santé, DVZ Leefmilieu-Gezondheid / SDP Environnement-Santé, Secrétariat NEHAP
Communautés étrangères	
	Gouvernement flamand, STATISTIEK VLAANDEREN
	IBSA (Institut Bruxellois de Statistique et d'Analyse), Cellule Territoire et Population
Eau	
	Aquafin
	INASEP (Organisme d'assainissement agréé - OAA de Namur)
	InBW (Intercommunale du Brabant Wallon)
	ISSeP (Institut Scientifique de Service Public)
	Région Wallonne, DEE - Direction des Eaux de Surface
	Sciensano, Service Gestion des échantillons
	SPGE (Société Publique de la Gestion de l'Eau)
	Vivaqua
Eau/GSK	
	GSK
	Région Wallonne, DPC - Département de la Police et des Contrôles
	Université de Liège, Aquapole
Expertise labo	
	Uantwerpen, Faculty of Pharmaceutical, Biomedical and Veterinary Sciences
Faisabilité technique prélèvement "Petit Château"	
	Régie des Bâtiments, Direction Bruxelles
Labo & analyses	
	Food-borne pathogens Service, Sciensano
	NRC (National Reference Center) Hantavirus, KU Leuven REGA Institute
	NRC (National Reference Center) Polio/Enterovirus, KU Leuven REGA Institute
Labo & analyses, surveillance environnementale	
	RIVM (National Institute for Public Health and the Environment), National Polio Laboratory, Center for Infectious Diseases Control (Cib)
PEF	
	SBB (Service Biosécurité et Biotechnologie), Sciensano
	Service Qualité des vaccins et des produits sanguins, Sciensano
	Univercells
	Universiteit Antwerpen, Centrum voor de Evaluatie van Vaccinaties, Vaccin & Infectieziekten Instituut
Réfugiés/vaccination	
	Centre Hospitalier Universitaire Saint-Pierre, Service de Maladies Infectieuses
	Croix-Rouge
	Fedasil, Direction appui à la politique
	Fedasil, Dispatching médical
	Fedasil, Services Opérationnels
	IMT
	ONE
Surveillance environnementale	
	Luxembourg Institute of Science and Technology (LIST)
	Mode de vie et Maladies chroniques, Sciensano
	Service Parisien de Santé Environnementale (ex- Labo d'hygiène de la ville de Paris)

ANNEXE 4 – PROTOCOLE D'ANALYSE DES PV ET NPEV DANS LES ÉCHANTILLONS D'EAUX USÉES – PRÉSENTATION DES ÉTAPES IDENTIFIÉES COMME ESSENTIELLES À LA QUALITÉ DES ANALYSES

Ce protocole n'est pas un protocole exhaustif ; il ne reprend que certains éléments jugés clés à la bonne qualité des analyses microbiologiques, et ambitionne d'attirer l'attention du laboratoire sur ces étapes clés. Il ne remplace nullement l'ensemble des exigences analytiques présentées dans ce rapport.

- (Concerne uniquement les boues) Centrifugation (ou similaire), suivie d'une remise en suspension
- Concentration – 2 heures à 2 jours
 - UltraFiltration : concentration résultante de l'échantillon ~ 100 x
 - * 1L -> 4 ml issus du résidu de filtration
 - * En chambre froide
 - * Nécessite de disposer de contrôles pour les étapes de concentration et d'inhibition. Pour illustration, le RIVM réalise ce contrôle via l'ajout de FeCV (feline calicivirus F9)

! 2 ml des 4 ml d'échantillon concentré doivent être stockés jusqu'à obtention des résultats finaux, et jouent un rôle de sécurité en cas de problème avec le processus d'analyse.

Dans le cas où l'échantillon est très trouble, il est recommandé de le traiter sous forme de « pellet » et de l'analyser comme un échantillon de fèces.
- Elution et purification au chloroforme
 - Objectif de destruction des bactéries présentes dans l'échantillon
- Mise en culture – 5 jours
 - Étape obligatoire, essentielle dans le cadre d'échantillons d'eaux usées présentant un degré important d'inhibition
 - * Les Pays-Bas (RIVM, Laboratoire national Polio) ont montré que, sans cette étape de culture cellulaire, on obtenait un ratio d'EV positifs d'environ 30%, comparé à 70% avec mise en culture.

Or, on sait également que la surveillance environnementale doit atteindre une sensibilité suffisante, en accord avec le critère OMS suivant:

« La détection de PV ou de NPEV (entérovirus non-polio) dans au moins 50% des échantillons collectés, sur une période de 6 mois »
 - A partir des 2 ml d'échantillon concentré obtenus,
 - ~ 1,35 ml du concentré sont utilisés en culture cellulaire, selon le schéma suivant :
 - * 3* 100 µl
 - 3x HT-29⁴⁶
 - 3x RD – cellules sélectives entérovirus polio et non-polio
 - 3x L20B (! pas de rotation) – cellules sélectives au poliovirus

Le reste du volume de concentré est utilisé à l'étape suivante de RNA PCR
- RNA PCR
 - Réalisée à partir des ~ 400µl des 2 ml de concentré de départ
 - ! Tous les échantillons sont analysés par PCR, que le résultat de la culture soit positif ou négatif aux entérovirus.

Note technique : Info basée sur l'expérience des Pays-Bas (à adapter) :

ANNEXES

PCRDU :

* Sabin: 1 PV infectieux <- -> 50 RNA / PCRDU

* WPV: " " <- -> 8 – 10 RNA /PCRDU

- Séquençage ou ITD – Différenciation intratypique – 24h

ANNEXE 5 - EXIGENCES DE SENSIBILITÉ DU SYSTÈME

On peut définir la sensibilité de la Surveillance Environnementale comme étant « la taille de population maximale pour laquelle le système est capable de détecter une seule personne excrétrice de poliovirus, considérant la nature du prélèvement (égouts ou station d'épuration – STEP), et le positionnement du prélèvement sur le réseau d'assainissement ».

Dans notre cas, la sensibilité associée aux prélèvements varie principalement selon qu'on se situe en égout ou en STEP.

Pour le calcul de sensibilité des différents sites de prélèvement, voici les paramètres et éléments pris en considération:

- En Belgique, sur base de la revue réalisée par Tebbens *et al.* (2013), en cas de contact d'une personne avec un poliovirus vivant (cVDPV, OPV ou WPV), on peut raisonnablement considérer une durée d'excrétion moyenne de 3 semaines, avec une concentration de poliovirus dans les selles plus importante chez les jeunes < 20 ans (vaccinés à l'IPV) (Annexe 1 – Impact du schéma vaccinal sur l'immunité et la transmission du poliovirus).
- Nos connaissances du réseau d'assainissement belge (Aquawal, 2012 ; Européennes, 1991 ; INASEP, 2019 ; SPGE, 2019, 2019b) :
 - Environ 95% du réseau se situe en régime unitaire, c'est-à-dire que les eaux usées et les eaux de pluie ne sont pas séparées, et sont transportées ensemble depuis les égouts jusqu'à la STEP ; cela impacte de dilution des eaux usées ;
 - La majorité du réseau d'assainissement est collectif, c'est-à-dire que les eaux usées des habitations sont raccordées à l'égout ;
 - Depuis 2003, les fosses septiques « eaux sanitaires », qui ne contenaient que les eaux de toilettes (eaux vannes), sont laissées à profit des fosses dites toutes eaux, qui contiennent également les eaux grises (cuisine, sanitaire, machine à laver, ...).
- Quantité moyenne de PV excrétée par personne infectée et par jour: 10^7 unités infectieuses (WHO, 2003).
- Considérant :
 - 128 g de fèces excrétés par jour par personne,
 - 125 litres d'eaux usées produits par personne par jour, dans un ménage,
 - Une dilution des eaux usées brutes d'un facteur 3 (avec eaux claires⁴⁷) dans le réseau d'égouttage (INASEP, SPGE, 2019);
- Et supposant une seule personne infectée, parmi la population couverte par le prélèvement d'eaux usées, on s'attend à obtenir :
 - Pour les prélèvements réalisés en égout : une concentration de PV de $\sim 10^4$ PV/l dans un prélèvement réalisé en égout ;
 - Pour les prélèvements réalisés en STEP : on applique un facteur de dilution supplémentaire de 10 x, comme estimation de la dilution résultante de l'ensemble des eaux claires (eaux de pluie, de source, de drain...) acheminées vers la STEP, ce qui donne une concentration de PV de $\sim 10^3$ PV/l.
- Limite de détection analytique – varie principalement en fonction des protocoles de laboratoire et du matériel utilisé; nous prenons comme hypothèse celle des Pays-Bas : $< 5 \cdot 10^3$ RT-PCRDU/litre ou 25 CCID₅₀/litre (Benschop *et al.*, 2017), ou encore $\sim 10^2 - 10^3$ PV/litre ; ce qui donne une limite de détection plus basse d'un facteur $10-10^2$ par rapport à la concentration de PV attendue dans les égouts (voir point ci-dessus).

⁴⁷ Cfr Acronymes et définitions. Ici, le facteur de dilution est estimé en ne considérant que les eaux de pluie. Il est recommandé d'éviter de prélever dans les tronçons des égouts où sont présents des sources d'eau claire et/ou des débits d'eau de drainage importants. Nous recommandons également de réaliser les prélèvements par temps sec.

ANNEXES

- Considérant une concentration de l'échantillon en laboratoire d'un facteur d'environ ~ 100 x, on s'attend à retrouver :
 - $\sim 10^6$ PV/l dans un prélèvement réalisé en égouts ;
 - $\sim 10^5$ PV/l dans un prélèvement réalisée en STEP.

En conclusion, et considérant que les concentrations de poliovirus attendues, moyennent une étape de concentration en laboratoire, se situent bien au-delà de la limite de détection analytique, nous pouvons conclure que la surveillance environnementale des poliovirus dans le contexte du réseau d'assainissement belge présente une sensibilité suffisante à la détection de personnes excrétrices de PV. Cette sensibilité est optimale pour les prélèvements en égout, où le système pourra détecter une unique personne excrétrice. Elle est un peu moindre pour les prélèvements en STEP (voir conclusions ci-dessous).

Les tailles de population recommandées par l'OMS (*WHO, 2003*) sont respectivement de :

- 1 000 à 3 000 personnes (EH – voir Acronymes et définitions) pour les prélèvements en égout
- 100 000 à 300 000 personnes pour les prélèvements en STEP

Ces gammes de population sont celles utilisées pour la surveillance environnementale belge.

En conclusion, sur base des tailles de population recommandées par l'OMS, et de notre calcul de sensibilité présenté ci-dessus pour le contexte belge, nous estimons pouvoir atteindre les sensibilités respectives suivantes :

- 1/ 3 000 pour les prélèvements en égout
Sensibilité de détection d'1 personne sur 3 000
- 10/ 100 000 pour les prélèvements en STEP

Pour un STEP de 100 000 habitants, on estime être capable de détecter le poliovirus dans les échantillons prélevés à partir d'un minimum de 10 personnes infectées.

Cette estimation tient compte du fait qu'en STEP, les eaux usées sont généralement parfaitement mélangées, dans de gros volumes, correspondant aux volumes des bassins de la station, et donc plus diluées. Les $\sim 10^5$ PV/l estimés plus tôt ne rendent pas compte de cette dilution supplémentaire, qui est plus importante que dans les égouts.

Ces gammes de sensibilité sont du même ordre de grandeur que celles présentées en Annexe 3 des Guidelines de l'OMS pour la Surveillance environnementale des poliovirus (*WHO, 2003*).

ANNEXE 6 – BUDGET DÉTAILLÉ DE LA PARTIE « LABORATOIRE ET ANALYSES » - SCÉNARIOS 2 ET 3

Scénario 2 – Labo Sciensano & CNR Entérovirus

Catégorie de coût	Sous-poste	Description	Estimation de coût annuel [€]	Budget / 4 ans [€]	Commentaires
Matériel labo	UF	Pompe	375	1 500	Budget étalé sur 4 ans
		Rampe UF 6 emplacements	500	2 000	
		Verrerie (ou inox) pour filtration	250	1 000	
		Filtres	3 600	14 400	
		Maintenance	250	1 000	
	Total UF		4 975	19 900	
	Consommables	Produits, cell lines, petit matériel, plaques 96 puits, ..	10 000	40 000	
	Equipement	Divers	3 180	12 720	
	Consommables non renouvelables		250	1 000	Basé sur données système surveillance français
	Maintenance		1 000	4 000	
Total Matériel Labo		19 405	77 620		
Séquençage	CNR Entérovirus		9 000	36 000	144 échantillons/ an dont environ 50 % à séquencer, soit 70 échantillons, avec un coût estimatif de 100 eur/ éch.
RH	RH	1 ETP – technicien de laboratoire	54 000	216 000	Barèmes Sciensano
	Formation	3 techniciens de labo	1 500	6 000	Estimation faite sur base formation au RIVM ⁴⁸ , budget étalé sur 4 ans
	Total RH		55 500	222 000	
TOTAL			83 905	335 620	

48

48 Former 3 techniciens pour en avoir 2 en back-up. Prix de la formation basé sur une simulation de formation au RIVM.

Scénario 3 – CNR Entérovirus

Catégorie de coût	Sous-poste	Description	Estimation de coût annuel [€]	Budget / 4 ans [€]	Commentaires	
Matériel labo	UF	Pompe	375	1 500	Budget étalé sur 4 ans	
		Rampe UF 6 emplacements	500	2 000		
		Verrerie (ou inox) pour filtration	250	1 000		
		Filtres	3 600	14 400		
		Maintenance	250	1 000		
	Total UF			4 975	19 900	
	Consommables	Produits, cell lines, petit matériel, plaques 96 puits, ..	10 000	40 000		
	Equipement	Divers	3 180	12 720		
		Flux laminaire BSLII	3 750	15 000		
	Total Equipement			6 930	27 720	
	Consommables non renouvelables			3 000	12 000	Estimation faite par le CNR Entéro, basée sur l'analyse de leurs besoins
	Maintenance			1 000	4 000	
Total Matériel Labo			25 905	103 620		
Séquençage	CNR Entérovirus		9 000	36 000	144 échantillons/ an dont environ 50 % à séquencer, soit 70 échantillons, avec un coût estimé de 100 eur/ éch.	
RH	RH	1 ETP – technicien de laboratoire	54 000	216 000	Barèmes Sciensano	
	Formation	3 techniciens de labo	1 500	6 000	Estimation faite sur base formation au RIVM ⁴⁹ , budget étalé sur 4 ans	
	Total RH			55 500	222 000	
TOTAL			90 405	361 620		

49

49 Former 3 techniciens pour en avoir 2 en back-up. Prix de la formation basé sur une simulation de formation au RIVM

PLUS
D'INFORMATIONS

<https://www.sciensano.be>

CONTACT

Marie Lesenfants • T +32 2 642 55 00 • marie.lesenfants@sciensano.be

Sciensano • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique
T + 32 2 642 51 11 • T presse + 32 2 642 54 20 • info@sciensano.be • www.sciensano.be

Éditeur responsable : Christian Léonard, Directeur général • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique • D/2020/14.440/5