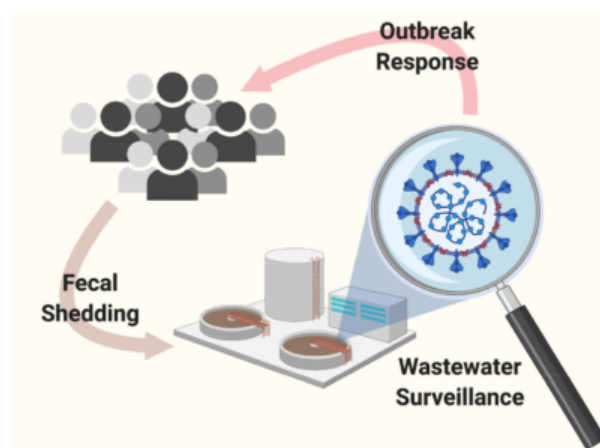


Surveillance environnementale du SARS-CoV-2

La progression de la pandémie de la COVID-19 a été suivie principalement en testant les individus symptomatiques pour la présence de l'ARN du SRAS-CoV-2 et en comptant le nombre de tests positifs au fil du temps. Toutefois, aux États-Unis, comme dans d'autres pays, la propagation de la COVID-19 a généralement dépassé la capacité de dépistage.

De plus, les résultats des tests sont un indicateur tardif de la progression de la pandémie, car les tests sont généralement effectués après l'apparition des symptômes, soit de quelques jours à une ou deux semaines après avoir contracté le virus. A ces délais entre l'apparition des symptômes et les tests, doivent s'ajouter ceux liés à la transmission des résultats des tests [1].

La surveillance des eaux usées (*wastewater* ou *sewage*), dans le système de collecte ou de traitement d'une communauté, a été utilisée auparavant pour assurer une surveillance précoce de l'importance de la maladie à l'échelle de la population, notamment pour la poliomyélite, et pourrait être utile pour la pandémie actuelle de la COVID-19 [1].



Dans le cadre de l'épidémiologie via les eaux usées, le niveau d'infection par le SARS-CoV-2 dans une communauté pourrait être estimé par la concentration en ARN du virus détectée dans les eaux usées. Cette information supplémentaire peut

contribuer à apporter une réponse locale adaptée (d'après la référence [2]).

Dans cet article, nous allons présenter quelques-uns des atouts potentiels de l'approche *Wastewater-Based Epidemiology* (WBE) ; puis faire une synthèse des avancées de cette approche au travers de plusieurs études universitaires -réalisées ou en cours- qui utilisent les eaux usées pour le suivi épidémiologique de la progression des infections COVID-19 aux Etats-Unis.

Intérêts de la méthode

L'approche WBE est une alternative, complémentaire aux tests diagnostiques, qui présente plusieurs avantages : i) c'est un outil de santé publique mis en œuvre depuis plusieurs années pour suivre la répartition et la prévalence d'agents infectieux, mais aussi de diverses substances : polluants, médicaments ou drogues. C'est une approche diagnostique non-invasive relativement globale, qui peut permettre de suivre jusqu'à environ un million de personnes par bassin de traitement des eaux usées, ii) le SARS-CoV-2 est présent dans l'urine et les selles des personnes infectées -même les asymptomatiques- ce qui en fait un outil complémentaire pour étudier la circulation du virus dans les populations humaines [1, 2]; iii) il est plus facile de prélever des échantillons de matières fécales issus d'une population par rapport au nombre plus restreint de personnes qui se présentent pour effectuer des tests cliniques un jour donné [2, 3]. En l'absence de capacité massive de tests (comme lors du début de la pandémie), la WBE peut permettre d'évaluer l'évolution SARS-CoV-2 [1]; iv) l'identification en temps réel des foyers viraux (*hot spots*) permettrait de mieux orienter les ressources pour protéger les populations vulnérables grâce à des mesures adaptées et d'en surveiller l'efficacité, tout en assouplissant les restrictions dans les régions exemptes de virus, en minimisant les perturbations économiques et sociales [1, 4].

Bref tour d'horizon des recherches académiques

De par ses coûts relativement modérés, l'approche *Wastewater-Based Epidemiology*

a été implémentée dans de nombreuses universités. En voici quelques-unes de ses facettes :

▪ **Austin : *UT Austin***

Le projet d'UT Austin est intitulé *Canary*, ces frêles oiseaux qui servaient de système d'alerte précoce (ex : monoxyde de carbone) pour les mineurs de charbon au début des années 1900. Conduite par Mary Jo Kirisits du *Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering*, l'équipe comprend également une chercheure, une ingénieure du *Texas Advanced Computing Center (TACC)*, et un professeur (*Cockrell School of Engineering*) notamment. Plusieurs membres de l'équipe étaient déjà connectés via le programme *Bridging Barriers grand challenge* de l'université d'Austin (<https://bridgingbarriers.utexas.edu/>), un programme lancé en 2016 qui réunit des chercheurs de différentes disciplines en vue de résoudre des problèmes sociétaux majeurs [3].

En juin, l'équipe des chercheurs d'UT Austin a commencé à collecter des échantillons dans les deux plus grandes stations d'épuration d'Austin (la capitale du Texas), pour déterminer la concentration du virus. Les échantillons ont été transportés aux laboratoires du programme d'ingénierie de l'environnement et des ressources en eau de l'UT, où ils sont pasteurisés et traités pour déterminer les concentrations de SARS-CoV-2. D'après leurs analyses, la concentration en ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées a considérablement diminué de juin à août, passant de 100 000 copies par litre à environ 1 000 copies par litre, ce que les autorités ont ensuite confirmé par les tests sur patients [3].

Les chercheurs du TACC travaillent avec la ville en utilisant ses cartes pour déterminer quels bâtiments se vident dans quels tuyaux, afin d'aider à retracer les sources du SARS-CoV-2. Les chercheurs impliqués souhaitent installer un échantillonneur automatique pour que les données des eaux usées alimentent un système d'alerte précoce et évaluer ainsi rapidement les risques en cours pour une réponse adaptée [3].

▪ **Houston : *Rice University et Baylor College of Medicine***

Les résultats d'un programme qui teste les eaux usées de Houston pour surveiller la

propagation locale du SARS-CoV-2 ont montré que cela pourrait être un moyen plus rapide de détecter les épidémies dans la quatrième plus grande ville du pays.

Depuis mai, la ville de Houston et les scientifiques de la *Rice University* et du *Baylor College of Medicine* ont testé les eaux usées des 39 stations d'épuration [5]. Intramuros, la population de Houston s'élève à plus de 2,3 millions d'habitants, selon les dernières données du [Bureau américain du recensement](#), ce qui signifie que les usines de traitement des eaux usées couvrent en moyenne 59 000 individus chacune (même si en pratique, les tailles varient de quelques milliers de personnes à plus d'un demi-million).

Actuellement, les employés des usines de [Houston Water](#) collectent des échantillons d'eaux usées sur une période de 24 heures, une fois par semaine, avant de les envoyer pour analyse. Les résultats issus des eaux usées peuvent donner un aperçu plus précis que le nombre de résultats issus des tests individuels, car la transmission des résultats est typiquement décalée de plusieurs jours [5, 6]. Les laboratoires de la [George R. Brown School of Engineering](#) de Rice et ceux du Baylor testent les mêmes échantillons -chacun en triplicat- pour la présence du virus en utilisant des méthodes légèrement différentes afin de voir si leurs résultats concordent [6].

Le projet a été amorcé début 2020 lors de la première série de subventions du [Rice COVID-19 Research Fund](#), puis en obtenant des fonds supplémentaires de la ville [6]. Au préalable, les scientifiques et ingénieurs de *Rice University* travaillaient sur les moyens d'analyser les bactéries et les gènes résistants aux antibiotiques dans les eaux usées, une question qui est devenue plus importante après l'ouragan Harvey d'août 2017. « Il a fallu du temps pour mettre au point toutes les étapes, et nous les affinons encore, mais nous avons commencé à avoir une très bonne compréhension des données en juillet » déclarait l'un des membres de l'équipe de recherche [6].

Plusieurs autres villes américaines mettent en place des programmes similaires, mais Houston serait unique en raison de son grand nombre de stations d'épuration, qui permettraient de localiser plus finement les foyers. De fait, la prochaine étape consistera à affiner les données spatiales en prélevant des échantillons directement dans le réseau d'égouts de certains quartiers (y compris, par exemple, les établissements de soins de longue durée tout en déployant des efforts importants

pour réduire le délai d'exécution) [6]. Les responsables du projet souhaitent affiner les résultats en étudiant des échantillons provenant des quelques 400 stations de relèvement qui alimentent les usines de traitement [5, 6].

Il est difficile d'effectuer un suivi dans une communauté peuplée, étendue (1 700 km², soit plus que Los Angeles avec 1 300 km²) et ethniquement très diverse, en utilisant non seulement des tests individuels, mais aussi en testant en même temps les eaux usées. Cependant, selon les chercheurs, les données peuvent s'avérer particulièrement utiles dans les endroits où les échantillons d'eaux usées indiquent que le virus s'est propagé plus largement que ne l'ont révélé les tests cliniques. Les responsables pourraient alors diriger davantage de tests vers ces zones, y compris des unités mobiles [4].

▪ **New Haven : Université de Yale**

Des chercheurs de Yale (à New Haven dans le Connecticut) ont mesuré l'ARN du virus du SRAS-CoV-2 par réaction de polymérisation en chaîne (*quantitative real-time polymerase chain reaction* ou qRT-PCR) en utilisant les mêmes ensembles d'amorces N1 et N2 que ceux utilisés dans les tests individuels COVID-19, tel que préconisé par les *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC). Ces auteurs ont travaillé sur une station d'épuration couvrant 200 000 résidents, pendant environ 10 semaines. Les 73 échantillons ont été prélevés quotidiennement, du 19 mars 2020 au 1er juin 2020, correspondant à la première vague du SARS-CoV-2. Les copies d'ARN du virus variaient entre $1,7 \times 10^3/\text{ml}$ et $4,6 \times 10^5/\text{ml}$ de boue primaire [1]. Les concentrations d'ARN viral dans les matières fécales se dégradent de manière exponentielle avec le temps entre l'excrétion, la collecte et les analyses effectuées sur les échantillons. Aussi, un facteur de dégradation a été introduit afin que les données issues des boues soient les plus précises possibles [1, 4]. Les chercheurs ont associé les admissions à l'hôpital avec la concentration de SRAS-CoV-2 observée dans les boues d'épuration [4]. Selon ces auteurs, les résultats issus des eaux usées ont précédé les hospitalisations de 1 à 4 jours et la communication des résultats des tests d'environ une semaine. Ainsi, dans les sites cliniques où la remontée des résultats des tests est relativement peu rapide, les résultats issus des eaux usées - s'ils sont analysés et communiqués le même jour que l'échantillonnage- peuvent fournir une information importante sur la dynamique de l'infection [1].

▪ Nouvelle-Orléans : *Tulane University*

Dès le début de la pandémie, l'état de la Louisiane a été fortement touché par la COVID-19. Le premier cas officiellement enregistré est daté du 9 mars 2020, dans la paroisse -analogue du comté pour l'état de la Louisiane- de Jefferson. Cependant, le grand festival annuel de Mardi Gras à la Nouvelle-Orléans, en février 2020, est suspecté d'avoir contribué à la très forte montée du nombre de cas dans cet état [7].

Une équipe de chercheurs de l'Université de Tulane à la Nouvelle-Orléans a étudié une population desservie par 2 stations d'épurations, couvrant environ 46 000 et 245 000 personnes. Les échantillons ont été collectés pendant 4 mois consécutifs (de janvier à avril 2020), et l'objectif principal de cette étude a été de comparer 2 méthodes de séparation : l'ultrafiltration, par rapport à l'adsorption-élution, en suivant les protocoles de RT-PCR recommandés par les CDC [8]. La moyenne géométrique des échantillons positifs était de $7,5 \times 10^3$ copies/L avec le test N1 et de $3,9 \times 10^3$ copies/L pour le test N2. Selon les auteurs, la méthode d'ultrafiltration (30 min à 3000g pour éliminer les grosses particules et les solides en suspension) suivie d'une concentration du surnageant avec un seuil de 100 kDa par centrifugation (1500g pendant 15min) semblait plus efficace pour détecter le SARS-CoV-2 que la méthode d'adsorption-élution utilisant une membrane [7]. Les limites de détection respectives étaient de $1,0 \times 10^3$ copies/L contre $1,7 \times 10^2$ copies/L respectivement.

A quelques miles de là, à Bâton Rouge, des chercheurs de l'école de médecine vétérinaire de la *Louisiana State University* (LSU) étudient également les eaux usées [9]. La ville-paroisse prévoit d'étendre les tests en se concentrant sur des stations de pompage spécifiques, Bâton Rouge en compte plus de 500. Comme pour Houston, ceci pourrait permettre de localiser plus finement les cas [9].



Tableau de bord du site [COVIDPoops19](https://www.covidpoops19.org/) réalisé par l'UC Merced en Californie, et comptabilisant plus de 160 universités impliquées, majoritairement aux Etats-Unis.

Conclusion et perspectives

Des universités de tout le pays - du Nouveau-Mexique au Tennessee, du Michigan à New York - mettent au point les tests sur les eaux usées en vue de créer un outil de santé publique. Les résultats d'études publiées ou en cours permettent de synthétiser les points suivants :

▪ L'eau traitée semble bonne après traitement

Les eaux usées et les effluents finaux ayant subi un traitement ont été testés négatifs pour l'ARN du SRAS-CoV-2, ce qui indique que la concentration du virus a été réduite par les procédés de traitement des eaux usées (ex : désinfection au chlore) pour devenir indétectable [7]. Ceci corrobore les informations des CDC et de l'OMS, selon lesquelles le risque de transmission du SRAS-CoV-2 par des réseaux d'égouts et de traitement des eaux usées bien conçus et entretenus est considéré comme faible.

▪ Différents protocoles

Une palette de techniques de séparation ont été implémentées [7], dont : séparation en deux phases (méthode PEG-dextran) comme décrit dans les lignes directrices 2003 de l'OMS pour les protocoles de surveillance du poliovirus, mais aussi

ultrafiltration par centrifugeuse, adsorption-extraction utilisant une membrane électro-négative suivie d'une ultrafiltration par centrifugeuse, adsorption-précipitation de l'hydroxyde d'aluminium pour la détection de l'ARN du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées [1, 2, 4, 7]. Cette étape nécessaire complexifie cependant l'interprétation des résultats.

▪ Variabilité des résultats

Les chercheurs ont été amenés à mettre en place dans l'urgence et avec des ressources très contraintes, des protocoles qui s'avèrent différents entre laboratoires [1]. Globalement, des ordres de grandeurs de concentration de SARS-CoV-2 -à prendre avec précaution car les ils sont préliminaires et relativement variables- sont par ordre décroissant : 10 copies à 100 copies voire quelques milliers de copies de gènes par litre (pour les échantillons non-traités), de l'ordre de 10^3 à 10^5 copies de gènes par litre (après traitement secondaire), pas de copie de gène détectée (pour les effluents finaux) [7].

Plusieurs autres facteurs pourraient contribuer à la variabilité des résultats des tests de qRT-PCR, notamment les séquences des amorces et des sondes, la sensibilité des tests, les types et nombres d'étapes de traitement des eaux usées, ou un sous-échantillonnage [1]. Il faut aussi considérer des facteurs comme les précipitations, la température, le temps de rétention des solides ou d'inhibiteurs de la PCR [7]. De plus, la relation quantitative entre les densités d'ARN dans les eaux usées et la prévalence des infections humaines dépend de nombreux facteurs spatiaux et des variables temporelles. Il est donc important que ces relations soient examinées dans les milieux urbains, avec des eaux usées centralisées, et dans les milieux ruraux ou à faibles revenus, dont l'infrastructure des eaux usées est différente. La tâche sera difficile, car les États-Unis comptent environ 16 000 stations d'épuration [1].

▪ Détection précoce

Bien que relativement préliminaire, la surveillance environnementale du SRAS-CoV-2 a déjà permis de lancer des alertes notamment à l'*Utah State University*, l'*University of Colorado*, et l'*University of Arizona* [10]. Dans un contexte urbain, le foyer *Star of Hope* à Houston a également bénéficié d'une détection précoce grâce à la WBE [11].

▪ Vers une approche plus globale

Australie, Espagne, France, Inde, Italie, Japon, Pays-Bas : des scientifiques du monde entier se mobilisent pour surveiller l'ARN du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées, ce qui démontre l'intérêt et suggère l'applicabilité de l'approche pour surveiller la COVID-19 [7, 12, 13]. Cependant, évaluer la variation et l'incertitude dans des contextes aussi divers nécessite une harmonisation et la validation des méthodologies (ex : inclusion de contrôles, stratégies d'échantillonnage).

Une initiative émanant des universités américaines et regroupant *Georgia Institute of Technology*, le MIT, Rice University, Stanford, UNC Chapel Hill, l'Université de Notre Dame, Yale ainsi que de nombreuses universités américaines moins connues, a été lancée pour maximiser le potentiel des divers efforts WBE en cours et se préparer pour les épidémies futures [2]. Un site web a été mis place pour les communautés scientifiques concernées. Le projet *COVID-19 WBE Collaborative* (<https://www.covid19wbec.org/>), en partenariat avec le réseau européen *Sewage Analysis CORE group Europe* (SCORE) et le [Global Water Pathogen Project](#) (UNESCO et Université du Michigan), est conçu comme un centre de coordination et de promotion des efforts des groupes de recherche qui implémentent une approche épidémiologique basée sur les eaux usées pour le suivi de la COVID-19.

Le site [covid19wbec.org](https://www.covid19wbec.org/) propose des liens vers deux plates-formes. La première pour la coordination méthodologique (<https://www.protocols.io/>). Les groupes de recherche sont invités à y partager leurs protocoles pour aider à produire des résultats comparables entre les différentes régions et échelles de temps. La deuxième plate-forme est un espace de travail [Slack dédié](#) pour la communication informelle sur la surveillance environnementale du SARS-CoV-2 [2].

La pandémie de la COVID-19 en cours exige que les ingénieurs et les chercheurs collaborent avec d'autres acteurs, notamment les épidémiologistes, les modélisateurs mathématiques et les organismes de santé publique. Une approche robuste, pluridisciplinaire et aux échelles locale (ville, comté ou paroisse), loco-régionale (état), nationale et idéalement mondiale est nécessaire pour générer des résultats permettant de contribuer à mieux suivre la pandémie actuelle [2].

Rédacteur : Renaud Seigneuric, Attaché pour la science et la technologie à Houston. attache-phys@ambascience-usa.org

Références

1. Peccia, J., et al., *Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics*. Nat Biotechnol, 2020. **38**(10): p. 1164-1167.
2. Bivins, A., et al., *Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight Against COVID-19*. Environ Sci Technol, 2020. **54**(13): p. 7754-7757.
3. Huber, M., *UT Researchers Are Tracking COVID-19 in a Surprising Way*. UT News, 2020. https://news.utexas.edu/2020/09/29/ut-researchers-are-tracking-covid-19-in-a-surprising-way-using-human-poop/?utm_campaign=FY20_21_Texas%20Newsletter_10_2_20_EML&utm_medium=email&utm_source=Eloqua.
4. Kaplan, E.H., et al., *Aligning SARS-CoV-2 indicators via an epidemic model: application to hospital admissions and RNA detection in sewage sludge*. Health Care Manag Sci, 2020.
5. Scherer, J., *Houston officials are using your poop to track the spread of coronavirus*. Houston Chronicle, 2020. <https://www.houstonchronicle.com/news/houston-texas/houston/article/Houston-officials-are-using-your-poop-to-track-15240797.php#photo-17284098>.
6. Williams, M., *Rice helps give Houston early COVID-19 warnings*. Rice University News and Media Relations, 2020. <https://news.rice.edu/2020/09/24/rice-helps-give-city-early-covid-19-warnings/>.
7. Sherchan, S.P., et al., *First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA*. Sci Total Environ, 2020. **743**: p. 140621.
8. CDC, *Research Use Only 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time RT-PCR Primers and Probes*.

<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>, 2020.

9. Jones, T. and E. Woodruff, *Could studying sewage help map the spread of the coronavirus? LSU, Tulane researchers think so* The advocate, 2020. https://www.theadvocate.com/baton_rouge/news/article_8991b2a2-aa71-11ea-aeb3-4bb54e4dac3e.html.
10. Pineda, P. and R. Leingang, *University of Arizona wastewater testing finds virus at dorm, prevents outbreak*. AZ Central, 2020. <https://www.azcentral.com/story/news/local/arizona-education/2020/08/27/university-arizona-covid-19-outbreak-prevented-dorm-wastewater-testing/5649579002/>.
11. Mc Guinness, D., *How analyzing sewage helped Houston catch a COVID hot spot*. Houston Chronicle, 2020. <https://www.houstonchronicle.com/news/houston-texas/houston/article/How-analyzing-sewage-helped-Houston-catch-a-15595041.php>.
12. Trottier, J., et al., *Post-lockdown detection of SARS-CoV-2 RNA in the wastewater of Montpellier, France*. One Health, 2020. **10**: p. 100157.
13. Kumar, M., et al., *First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2*. Sci Total Environ, 2020. **746**: p. 141326.