

Ce que les eaux usées disent de nous

Frédéric JOURDAIN, Direction des régions, Santé publique France
Benoît GASSILLOUD, Laboratoire d'hydrologie de Nancy, LNR SARS-CoV-2 Eaux usées & boues, Anses

Déclaration d'intérêts de 2014 à 2022

Nous déclarons n'avoir aucun lien d'intérêt, direct ou indirect, temporaire ou permanent, avec le sujet traité

Frédéric Jourdain & Benoît Gassilloud

Historiquement de nombreux travaux scientifiques ont été publiés sur la détection d'agents pathogènes dans les eaux usées et les boues de stations

R.S.I. 1. 1951.

57

THE DETECTION OF ENTERIC CARRIERS IN TOWNS BY MEANS OF SEWAGE EXAMINATION*

by B. MOORE, B.SC., M.B., B.CH., B.A.O.,
Director of the Public Health Laboratory, Exeter.

POLIOMYELITIC VIRUS IN SEWAGE

JOHN R. PAUL JAMES D. TRASK C. S. CULOTTA
SEPTEMBER 15, 1939

SCIENCE

AMERICAN JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY
Copyright © 1967 by The Johns Hopkins University

STRATEGIC VIRAL SURVEILLANCE OF SEWAGE DURING AND FOLLOWING AN ORAL POLIOVIRUS VACCINE CAMPAIGN

DONALD B. NELSON, RICHARD CIRCO AND ALFRED S. EVANS
(Received for publication April 25, 1967)

Vol. 86, No. 3
Printed in U.S.A.

Environmental Surveillance for Polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative

Humayun Asghar,¹ Ousmane M. Diop,³ Goitom Weldegebriel,⁴ Farzana Malik,⁶ Sushmita Adefunke O. Akande,⁵ Eman Al Maamoun,² Sohail Zaidi,⁷ Adekunle J. Adeniji,⁵ Cara C. M. Steve Oberste,⁹ and Sara A. Lowther²

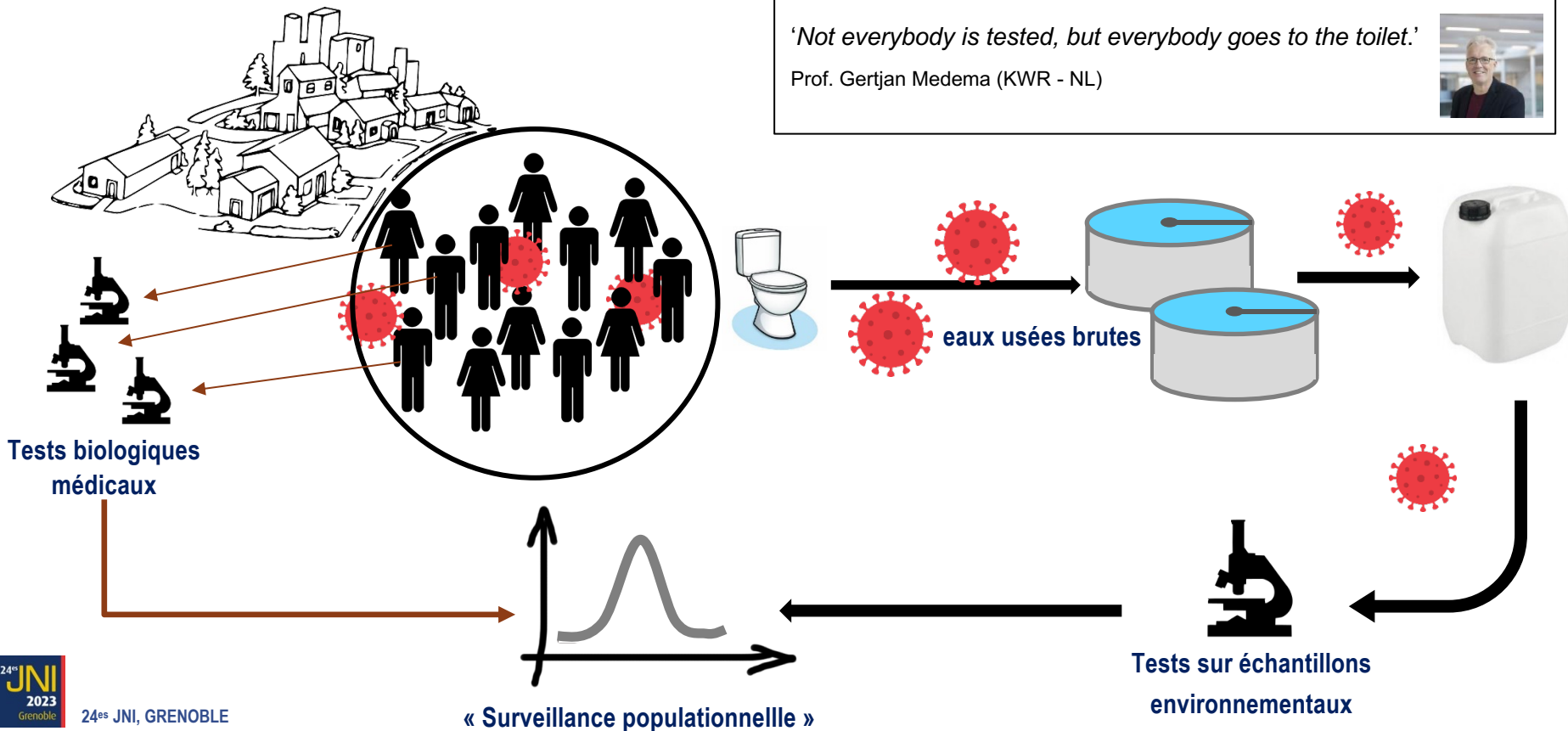
J. Infect. Dis., Volume 210, Issue suppl 1, Nov 2014



Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation

Principe de la surveillance des eaux usées

'Not everybody is tested, but everybody goes to the toilet.'
Prof. Gertjan Medema (KWR - NL)



Epidémie SARS-CoV-2 et eaux usées : un intérêt croissant à l'origine de nombreuses initiatives

Au niveau international

différentes structures (agences, universités, professionnels du traitement de l'eau...) se sont très tôt impliquées dans le suivi

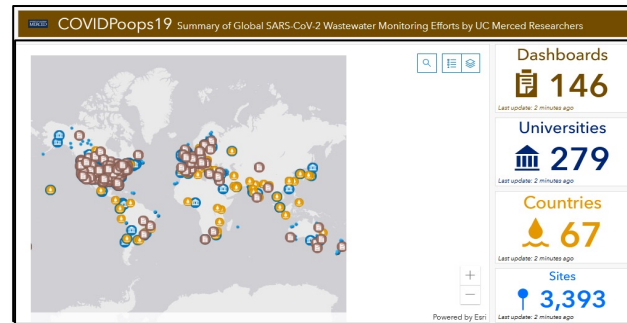
Au niveau de la Commission Européenne

Mise en œuvre d'une initiative visant à proposer un cadre pour la mise en place de cette surveillance au niveau européen (mars 2021)

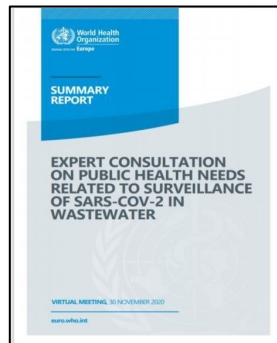
En France, dès mars 2020

De nombreux acteurs publics et privés ont mis en œuvre des projets de surveillance dans les eaux usées

- ⇒ GIS Obépine (financé par le MESRI, puis par le MSS)
- ⇒ COMETE (Marins-pompiers de Marseille)
- ⇒ Covid-19 City Watch (Suez) et Vigie Covid-19 (Veolia)
- ⇒ Et d'autres....



<https://www.covid19wbec.org/covidpoops19>



RECOMMANDATION (UE) 2021/472 DE LA COMMISSION

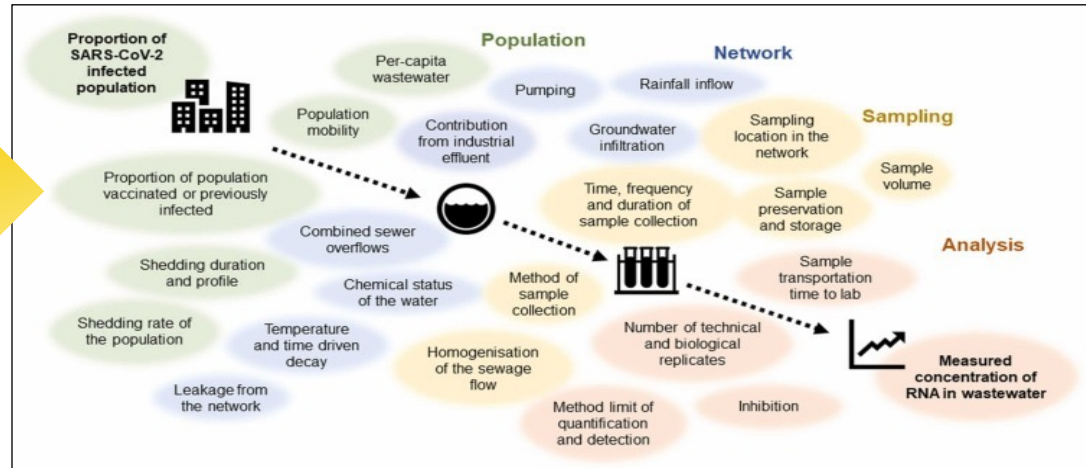
du 17 mars 2021

concernant une approche commune pour la mise en place d'une surveillance systématique de la présence du SARS-CoV-2 et de ses variants dans les eaux usées de l'Union européenne

Limites de la surveillance des eaux usées

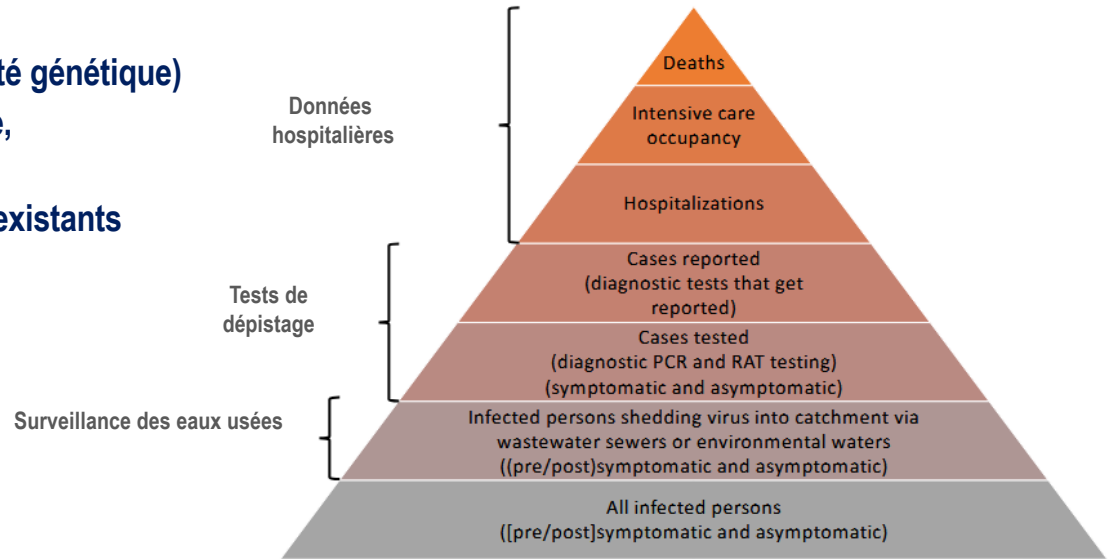
- Ne permet pas d'estimer précisément un nombre de cas humains infectés
- Impossibilité de localiser des clusters de manière fine si on reste au niveau d'une STEU
- Sensibilité difficile à estimer et peut-être variable selon les sites
- Diversité des systèmes d'assainissement installés sur le territoire
- Quelle(s) méthode(s) de normalisation des résultats à adopter pour être représentatif d'une situation en cours ?
- Outils de détection à disposition non standardisés à ce jour
- Méthode(s) de caractérisation des variants à définir pour l'analyse d'échantillons complexes
-

Différents aspects à prendre en compte pour un suivi épidémiologiques fiable



Intérêts de la surveillance des eaux usées

- Indicateur agrégé de surveillance virologique à moindre coût
- détection précoce (circulation virale, émergence d'un variant et étude de la diversité génétique)
- outil de surveillance sanitaire populationnelle, indépendant des stratégies de dépistage
- surveillance complémentaire des dispositifs existants

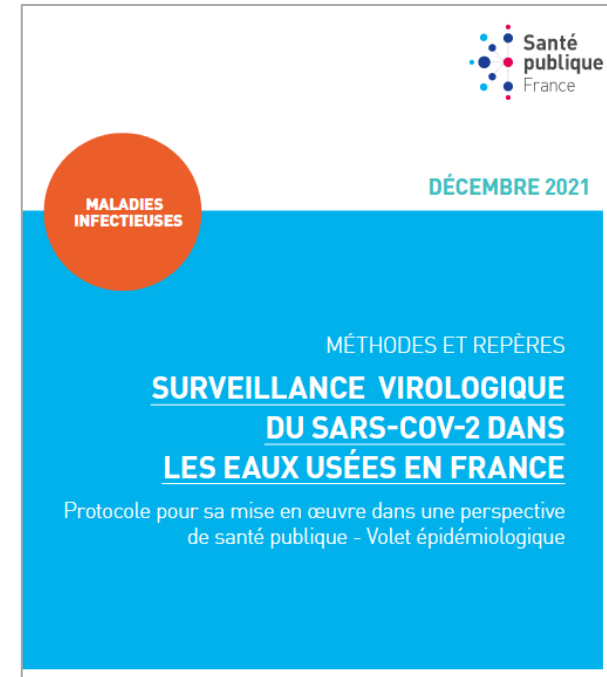


WHO 2022, Environmental surveillance for SARS-CoV-2. Interim guidance

De la nécessité de bien définir les objectifs de la surveillance

Exemple : objectifs de la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées à des fins de santé publique

1. Détecter précocement la présence du génome du SARS-CoV-2 et des variants émergents en population générale
2. Suivre les tendances de la circulation virale au sein d'une population





RECOMMANDATION (UE) 2021/472 DE LA COMMISSION

du 17 mars 2021

concernant une approche commune pour la mise en place d'une surveillance systématique de la présence du SARS-CoV-2 et de ses variants dans les eaux usées de l'Union européenne

Au niveau français : mise en place du réseau SUM'Eau (*Surveillance microbiologique des eaux usées*)

Juillet 2021 : Lancement des travaux de préfiguration pour la mise en place d'un réseau national de surveillance, dénommé SUM'Eau, par **DGS, DEB, Anses et SpF**, en lien avec l'ensemble des acteurs impliqués dans ce domaine.

- **Mise en œuvre déclinée selon 4 axes :**
 - **Echantillonnage** (co-pilotage SpF - DEB)
 - **Protocole analytique** (pilotage Anses)
 - **Data pour la construction d'indicateurs épidémiologiques** (co-pilotage SpF - DGS)
 - **Recherche et innovation** (pilotage Anses – appui au pilotage Obépine)

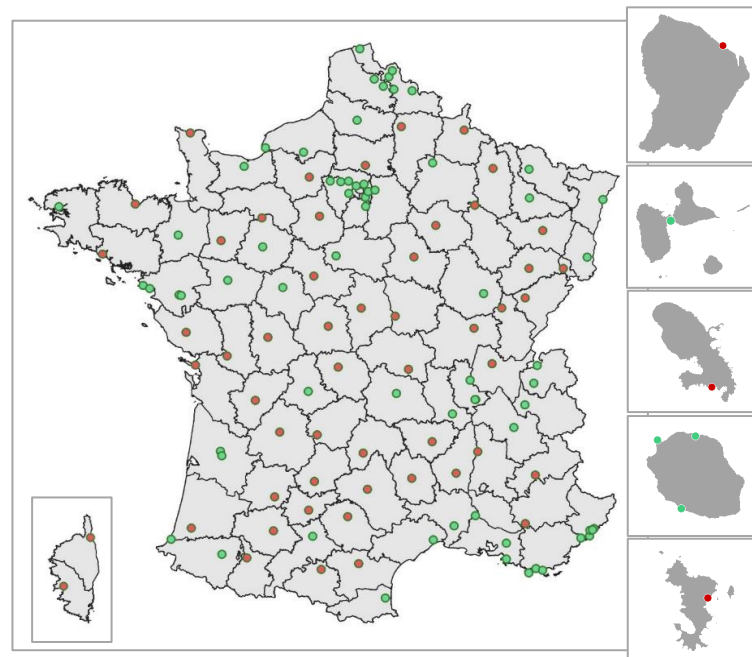
1 – Stratégie d'échantillonnage : la résolution spatiale

■ Objectif

- Disposer d'un réseau de stations sentinelles représentatives du territoire national pour la collecte d'échantillons destinés au suivi de la circulation du SARS CoV-2

■ Enjeux

- Identification d'un réseau de stations sentinelles sur la base de 2 critères :
 - **La taille de population** (cf. recommandation CE)
 - **La représentativité territoriale** (cf. cadre de gestion des risques sanitaires)
- Proposition d'un réseau de 126 STEU
 - **70 dans les agglomérations de plus de 150 000 hab.**
 - **56 pour assurer une couverture territoriale**



1 – Stratégie d'échantillonnage : la résolution temporelle

■ Objectif

- Mettre en place un plan de prélèvement adapté au suivi longitudinal de la circulation du SARS CoV-2 dans les eaux usées.

■ Enjeux

- Prise en compte des variations intra-journalières : prélèvement intégré sur 24h.
- Prise en compte des variations inter-journalières : adaptation en fonction des objectifs poursuivis et de la situation épidémiologique

Situation épidémiologique	Objectif de la surveillance	Fréquence d'échantillonnage
Absence de circulation virale	Détection	1/semaine
Risque d'émergence (alerte internationale, grands rassemblements)	Détection	Augmentation
Initiation (apparition de clusters ou de cas sporadiques)	Détection	2-3/semaine (en fonction du danger)
Diffusion (propagation ou diminution)	Estimation des tendances de circulation (temporelle et spatiale)	2-3/semaine
Suivi des variants	Evaluation de la diversité	1/semaine

2 - Protocoles analytiques : détection & quantification

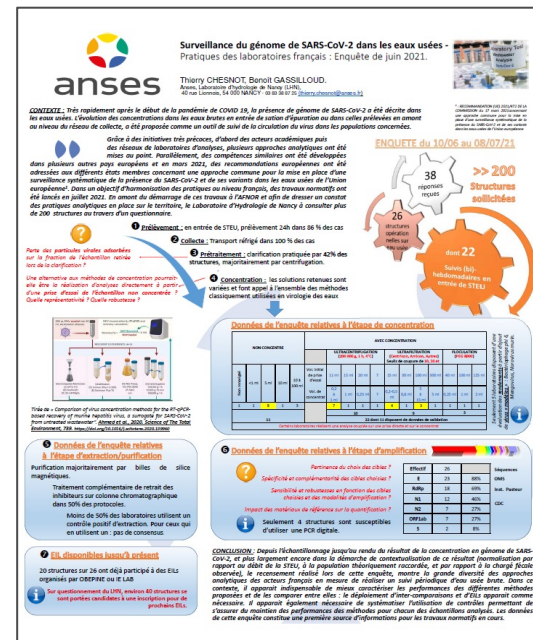
■ Objectif

- Disposer de protocoles adaptés permettant la détection & quantification du SARS CoV-2 dans les eaux usées.

■ Enjeux

- Diversité importante de méthodes.
- Globalement, trois grandes filières analytiques
- Spécificité : en France certaines analyses réalisées sur des faibles volumes
- Difficulté de comparaison par manque d'essais croisés.
- Caractérisation des variants : peu de compétences
- Obtenir des données de comparaison sur les méthodes employées au

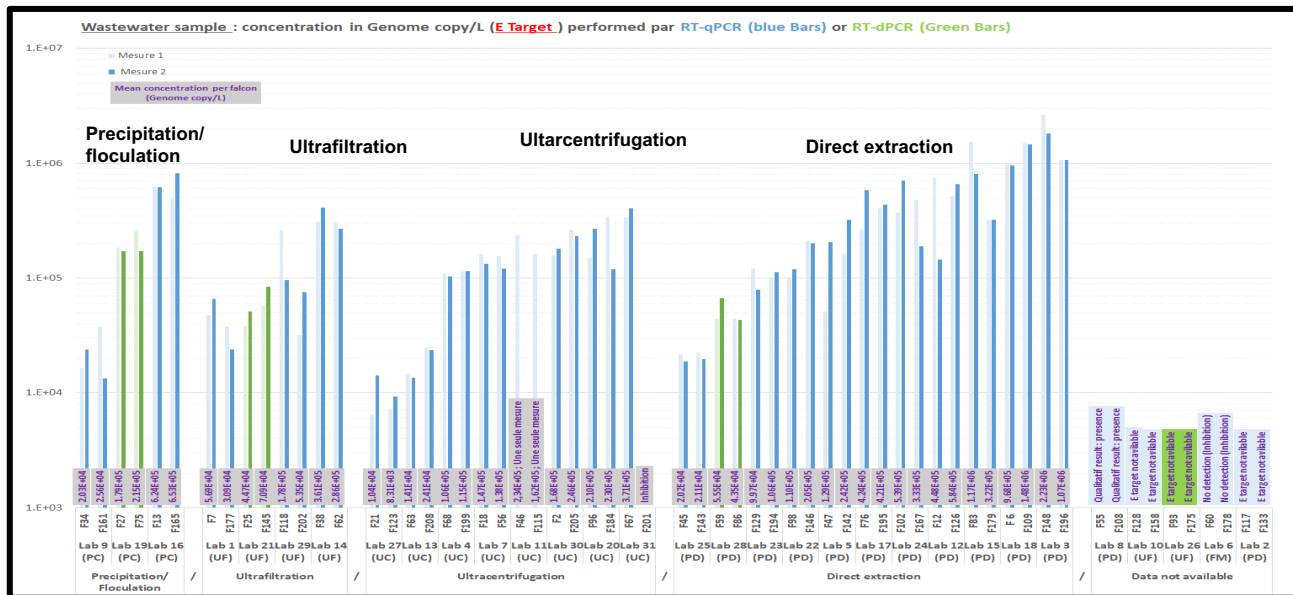
Niveau national => Etude pilote



2 – Protocoles analytiques : Essais Inter-laboratoire

■ Photographie

- Résultats de l'essai interlaboratoire organisé en juin 2022
- 31 laboratoires participant
- Echantillons :
 - 1 étalon de quantification,
 - 2 échantillons d'eaux usées de différentes concentrations.



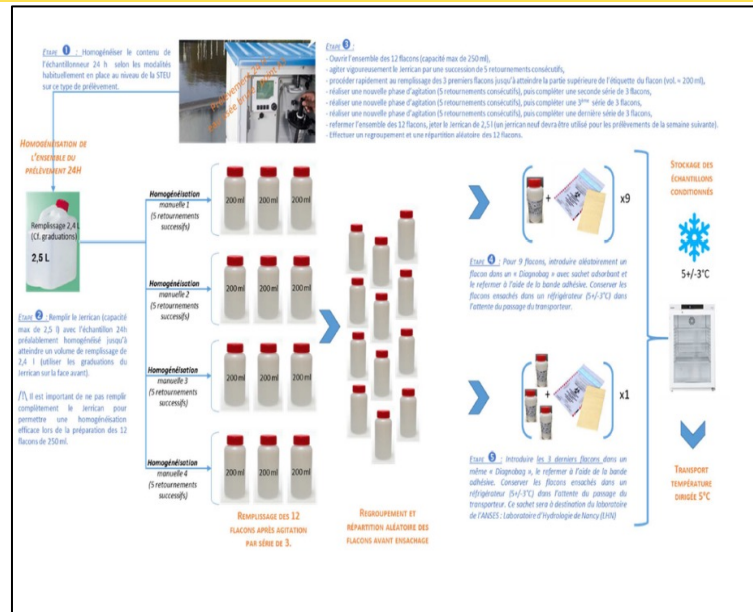
2 – Protocoles analytiques : Essais Inter-laboratoire

■ Objectif

- Mise en place d'essais de validation et d'aptitudes sur des échantillons d'eaux usées visant à évaluer la capacité des laboratoires à détecter et quantifier les particules virales de SARS CoV-2 dans cette matrice complexe.

■ Enjeux

- Tenir compte des capacités analytiques (nombre de laboratoires)
- Tenir compte de spécificités en lien avec la matrice
- Représentativité des échantillons envoyés au laboratoires
- Organisation respectant des lignes directrices éprouvées



Document du SMQ
Procédure générale
GUIDE

ANSES/PG/0029
version c

plan de classement - PRO/ANSP-RM

Titre **Guide méthodologique et statistique relatif aux essais inter-laboratoires d'aptitude**

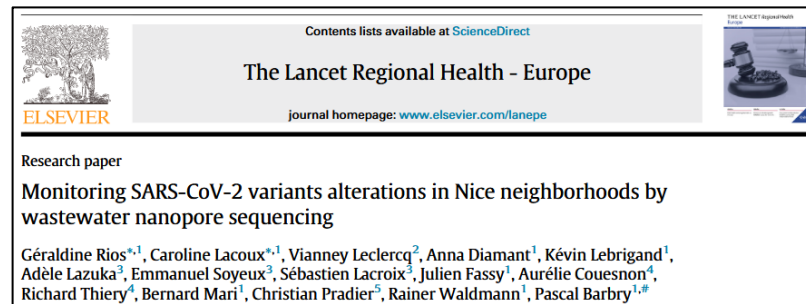
2 - Protocoles analytiques : caractérisation des variants

■ Objectif

- Disposer de protocoles adaptés permettant la caractérisation des virus dans une matrice complexe.

■ Enjeux

- Echantillon complexe : mélange de virus
- Concentrations décelées potentiellement faibles
- Présence de nombreuses molécules interférentes
- Procédures non standardisées



- Expérience en routine faible
- Au niveau des laboratoires utilisation principalement de Rt-PCR de criblage
- Séquençage : acquisition de compétences importantes chez certains laboratoires (IPMC - UMR7275) sur Nanopore
- EMERGEN Recherche, WP One Health intégrant les eaux usées



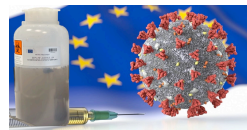
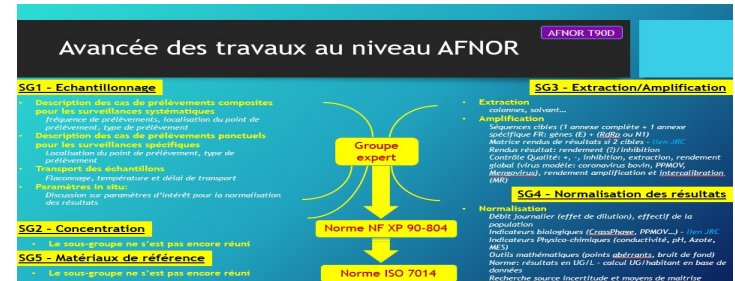
2 - Protocoles analytiques : Standardisation des procédures

■ Objectif

- Disposer de protocoles méthodologiques harmonisés, fiables et robustes permettant la détection et la caractérisation du SARS CoV-2 dans les eaux usées.

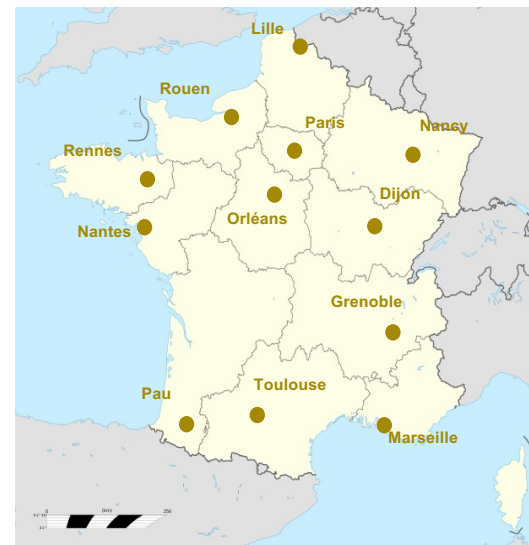
■ Enjeux

- Tenir compte de l'expérience acquise au niveau national (AFNOR)
- Tenir compte de l'expérience acquise au niveau International (ISO)
- Partage d'informations au niveau Européen (EU4S – Town Hall)



Suivi de la circulation du SARS CoV-2 au niveau du territoire par amplification génique (dPCR)

- Phase préparatoire à la mise en place du réseau cible
- 12 STEU suivies sur l'ensemble du territoire
- 1 prélèvement / semaine depuis fin juillet 2022
- Fourniture aux exploitants des flacons
- Organisation du transport des échantillons (Société TSE)
- Cibles génomiques suivies : gènes E et N1 mesurés par dRT-PCR
- Mesure du NH4 et récupération des données de débit pour normaliser les résultats



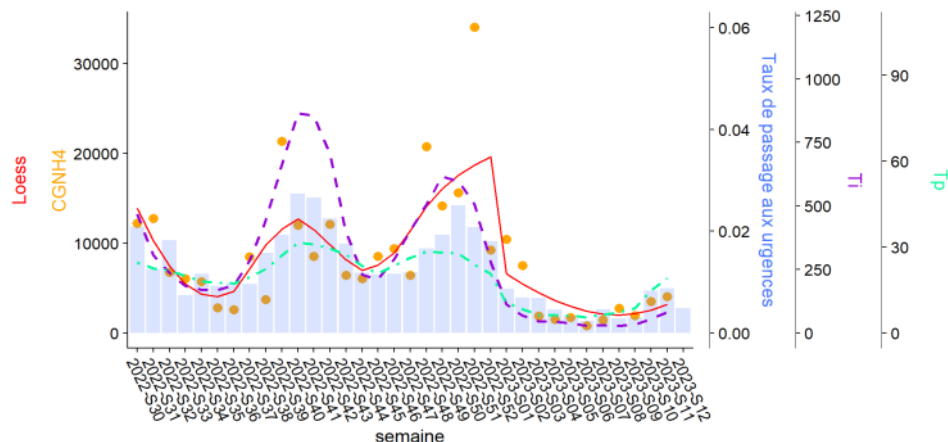
3 – Gestion des données et production d'indicateurs

■ Production d'indicateurs

- Nécessité de normaliser (contextualiser) les résultats analytiques pour tenir compte de certaines variations (débits dus à la pluviométrie, fluctuations des tailles de population) pour comparer les résultats dans le temps et – dans une moindre mesure – dans l'espace
- Différents types d'indicateurs
 - Détection / non détection
 - Suivi des tendances de la circulation virale
 - Intensité de la circulation virale
 - (Déclinaison au suivi des variants)
- Restitution d'indicateurs à différentes échelles géographiques

3 – Gestion des données et production d'indicateurs

Suivi des tendances selon une échelle géographique donnée
Agrégation de différentes STEU et comparaison aux indicateurs individuels

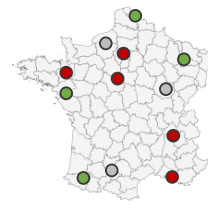


● Mesure normalisée de la charge virale

■ Tx de passage aux urgences pour Covid-19

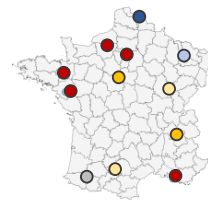
— Suivi eaux usées
- - - Tx de positivité
- - - Tx d'incidence

Détection du virus dans les eaux usées



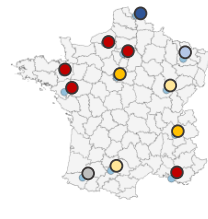
- Non détection du virus dans les eaux usées
- Détection du virus dans les eaux usées
- Absence de données

Tendances de la circulation



- Forte
- Baisse
- Stagnation
- Hausse
- Forte hausse
- Absence de données

Niveaux de détection (intensité)



- 0 à 25% de la plus haute valeur mesurée
- 25 à 50 %
- 50 à 75 %
- 75 à 100 %
- > La plus haute valeur mesurée
- Absence de données

Surveillance des eaux usées, quelles perspectives au-delà du SARS-CoV-2 ?

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Water Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres



ELSEVIER

Monitoring of enterovirus diversity in wastewater by ultra-deep sequencing: An effective complementary tool for clinical enterovirus surveillance

Maxime Bisseux^{a,b,*}, Didier Debroas^a, Audrey Mirand^{a,b}, Christine Archimbaud^{a,b},
Hélène Peigue-Lafeuille^{a,b}, Jean-Luc Bailly^{a,b}, Cécile Henquell^{a,b}

^a Université Clermont Auvergne, CNRS, Laboratoire Microorganismes: Genome et Environnement, F-63000, Clermont-Ferrand, France
^b CHU Clermont-Ferrand, 3 IHP, Centre National de Référence des entérovirus et paréchovirus - Laboratoire Associé, Laboratoire de Virologie, F-63000, Clermont-Ferrand, France

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv



ELSEVIER

Monitoring influenza and respiratory syncytial virus in wastewater: Beyond COVID-19

Daniel Toribio-Avedillo^a, Clara Gómez-Gómez^a, Laura Sala-Comorera^a, Lorena Rodríguez Carcereny^{b,c}, David García-Pedemonte^{b,c}, Rosa María Pintó^{b,c}, Susana Merino^{a,c}, Maite Muniesa^{a,*}

ENVIRONMENTAL LETTERS

Science & Technology

pubs.acs.org/journal/esticu

Wastewater-Based Detection of Two Influenza Outbreaks

Marlene K. Wolfe, Dorothea Duong, Kevin M. Bakker, Michelle Ammerman, Lindsey Mortenson, Bridgette Hughes, Peter Arts, Adam S. Lauring, William J. Fitzsimmons, Emily Bendall, Calvin E. Hwang, T. Martin, Bradley J. White, Alexandria B. Boehm,^{*} and Krista R. Wigginton^{*}



“The reason for collecting, analyzing, and disseminating information on a disease is to control that disease. Collection and analysis should not be allowed to consume resources if action does not follow.”

—William Foege, 1976

Photo: Kay Hinton, Emory University



Foege WH, Hogan RC, Newton LH. Surveillance projects for selected diseases. *Int J Epidemiol* 1976;5:29-37

Eaux usées et autres agents pathogènes

exemple du mpox

■ Constats

Dès mai 2022, plusieurs pays confirmaient la circulation de mpox dans les eaux usées de pays où la circulation n'est pas endémique (suivi rétrospectif puis prospectif)

Référence	Location	Date
Wolfe et al. 2022	Californie, USA - STEU	19 juin – 1er août 2022
de Jonge et al. 2022	Amsterdam, NL – STEU & aéroport	À partir du 23 mai 2022
La Rosa et al. 2023	Rome, IT - aéroport	À partir du 30 mai 2022
Wurtzer et al. 2022	Paris, France - réseau	À partir du 23 mai 2022
Giron Guzman et al. 2022	Espagne - STEU	9 mai - 4 août 2022



CDC, 2022



■ Objectif et enjeux

- Détection d'une émergence
- Identification de quartiers plus à risque (e.g. Californie)
- Contribuer au suivi de l'élimination du mpox



Absence of standard method for wastewater surveillance

Eaux usées et autres agents pathogènes

exemple du poliovirus à partir d'événements internationaux récents

Londres, UK

- 118 PVDV2 isolés entre 02 et 07/2022 dans différents quartiers de Londres
 - Séquençage -> cPVDV2
 - Mise en evidence d'une circulation locale en l'absence de cas clinique
 - Mise en oeuvre d'une réponse de Santé Publique : renforcement de la surveillance + campagne de vaccination IPV
- **Alerte, detection précoce, orientation de la réponse**

UK Health Security Agency

NHS

Polio

Through our
sewage surveillance
we have found polio
virus in London.

For some children this may
be an extra dose of polio
vaccine, on top of their
routine vaccinations. In
other children it may just
bring them up to date.

Eaux usées et autres agents pathogènes

exemple du poliovirus à partir d'événements internationaux récents

New york, USA

- 18/07/2022 : identification d'un cas de PFA (cPVDV2)
- Analyse des eaux usées :
 - Rétrospectivement : échantillons positifs 25 jours avant
 - Prospectivement dans 13 comtés, 48 bassin d'assainissement (11M hab)
- 1 076 prélèvements eaux usées, 89 (8.3%) positifs à PVDV2 dans 10 bassins d'assainissement / à faible CV
- Réponse : renforcement de la surveillance + campagne de vaccination IPV



➤ Caractérisation de la zone de circulation

Eaux usées et autres pathogènes

exemple du poliovirus à partir d'événements internationaux récents

Utrecht, Pays-Bas

- Novembre 2022 : wPV3 dans eaux usées
- Site technique de Utrecht Bilthoven
- Souche vaccin IPV
- Investigations mises en oeuvre ont permis d'identifier un employé d'un site de production de vaccin excrétant du PV
- Mesures : contact tracing, quarantaine

➤ Mise en evidence d'une rupture de confinement



Inspectie Gezondheidszorg en Jeugd
Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport

Nieuws >

Poliovirus gevonden in riool Science Park Bilthoven

Nieuwsbericht | 28-11-2022 | 16:10

Deze maand is op het Utrecht Science Park in Bilthoven poliovirus in het riool gevonden. Het gaat om een **wildtype-variant** van het virus die gebruikt wordt voor de productie van poliovaccin.

Eaux usées et autres pathogènes :

Pathogens Surveilled in Wastewater

Coronaviridae	Adenoviridae (Mastadenovirus)	Astroviridae	Calciviridae (Norovirus, Sapovirus)
Filoviridae (Ebola virus)	Cryptosporididae (<i>Cryptosporidium</i>)	Enterobacteriaceae (<i>Salmonella</i> , <i>Escherichia</i>)	Hepeviridae (Hepatitis E virus)
Flaviviridae (Dengue virus, Zika virus)	Herpesviridae	Hexamitidae (<i>Giardia</i>)	Matonaviridae
Picornoviridae (Enterovirus including Poliovirus, Parechovirus, Hepatitis A Virus, Kobuvirus, Cosavirus, Salivirus)	Papillomaviridae	Parvoviridae	Poxviridae
Retroviridae (HIV/AIDS)	Reoviridae	Retroviridae	Togaviridae

Infectious Diseases of International Concern

Orthomyxoviridae (Influenza)
Mycobacteriaceae (Tuberculosis)
Plasmodiidae (Malaria)
Alcaligenaceae (Whooping Cough)
Paramyxoviridae (Measles)

Greatest Burden of Disease

Kilaru et al., *Am J Epi* 2021

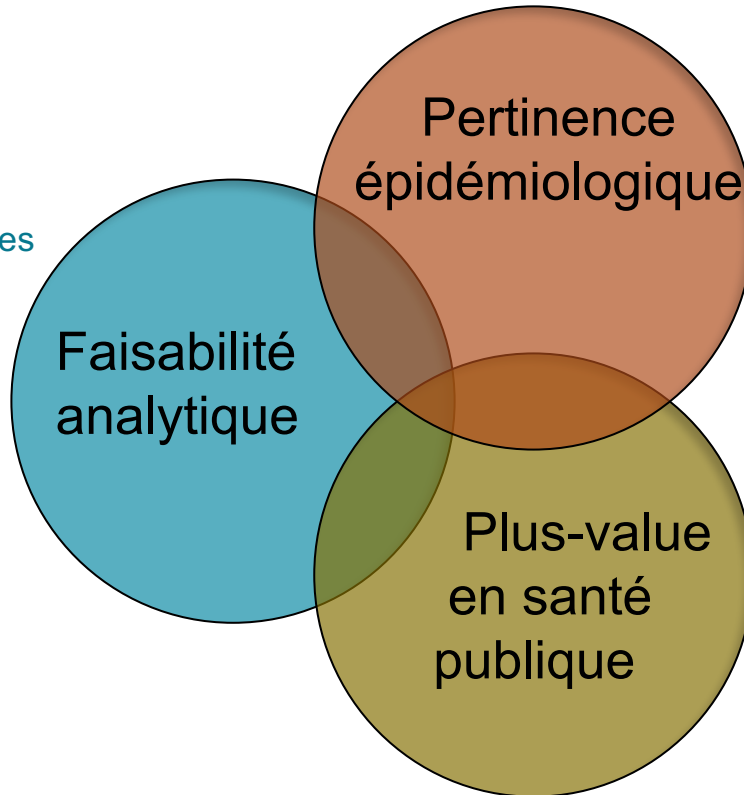
Objectif et enjeux

- Pouvoir détecter des émergences
- Suivi de la circulation de pathogènes d'intérêts au travers de la population
- Surveillance « Grands événement »
- Acquisition de connaissances scientifiques

Travail initié pour identifier les cibles d'intérêt en santé publique pour une surveillance des eaux usées

Quelles cibles possibles pour une surveillance des eaux usées ?

- Détectabilité du pathogène dans WW
- Existence de méthodes analytiques (idéalement standardisées)
- Persistance dans l'environnement
- Validation/calibration possible avec des données épidémiologiques individuelles



- Epidémiologie de la maladie
- Incidence, gravité
- Population ciblée/couverte

- Disponibilité d'autres sources de données
- Plus value des données WW pour interpréter les indicateurs disponibles (asympto, recours au dépistage, etc.)
- Utilité des données pour orienter la réponse de SP
- Précocité du signal eaux usées ?

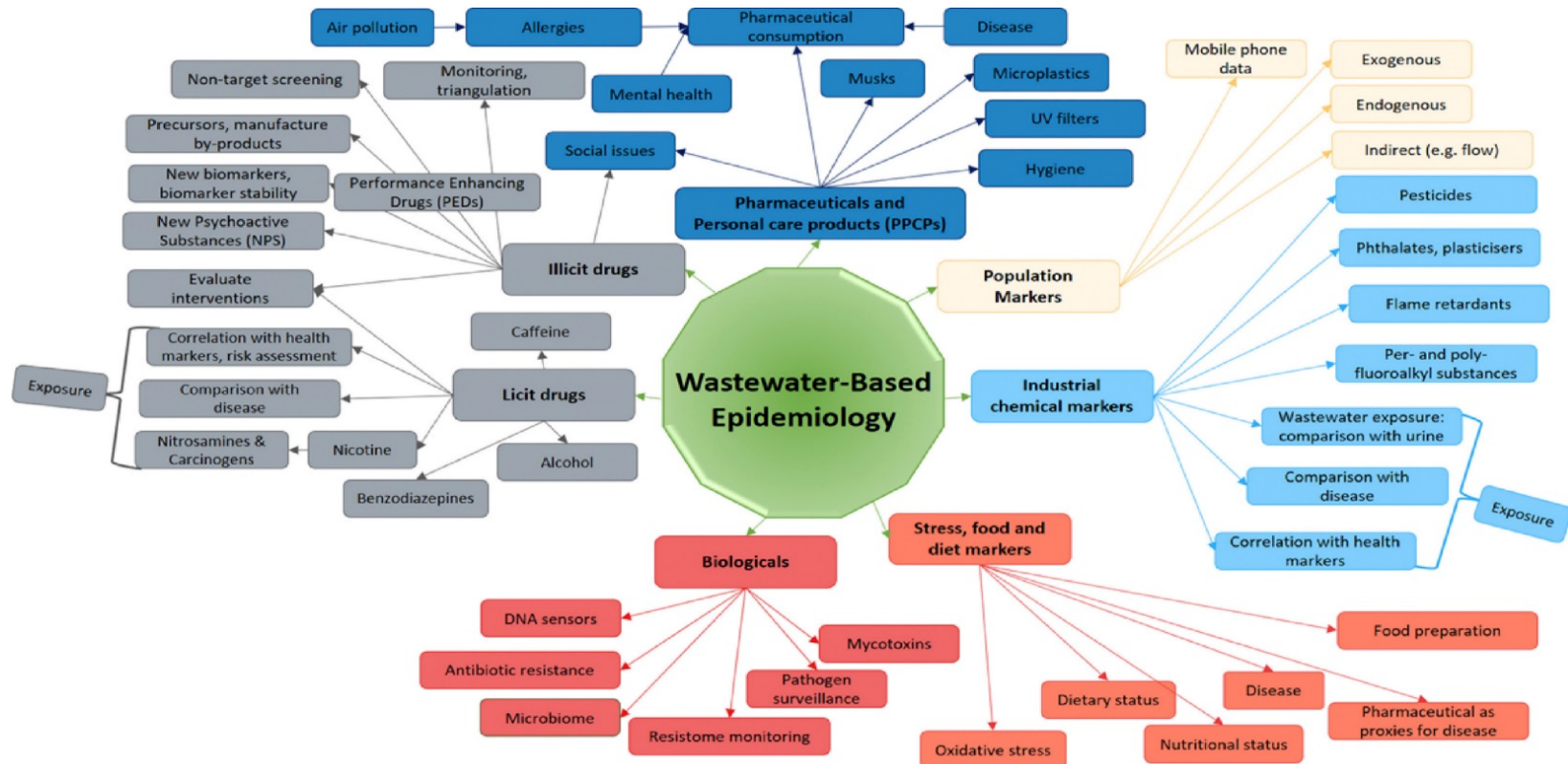
Les eaux usées, une matrice « intégrative »

Nombreux marqueurs chimiques et biologiques d'origine anthropique permettant un suivi épidémiologique



Les eaux usées, une matrice « intégrative »

Nombreux marqueurs chimiques et biologiques d'origine anthropique permettant un suivi épidémiologique



Choi et al., 2018. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* - Wastewater-based epidemiology biomarkers: Past, present and future

■ Objectifs

- Articuler les travaux de recherche et les actions de surveillance, pour répondre aux enjeux de la surveillance des agents pathogènes et des problématiques de santé publique
- Proposer des axes de déploiement structurés
- Partager les outils de diagnostics à disposition, partager des échantillons issus « d' Aquathèques » référencées

■ Enjeux

- Favoriser une interface entre les développements technologiques issus de la recherche et les besoins des acteurs sanitaires dans le cadre d'une approche analytique « One Health »
- Accompagner les acteurs sanitaires dans la valorisation des résultats issues des analyses et l'exploitation des données

■ Partenariats : lien avec ANRS MIE, EMERGEN 2.0, Obépine +

Merci pour votre attention