

**MALADIES
INFECTIEUSES**

DÉCEMBRE 2021

MÉTHODES ET REPÈRES

SURVEILLANCE VIROLOGIQUE
DU SARS-COV-2 DANS
LES EAUX USÉES EN FRANCE

Protocole pour sa mise en œuvre dans une perspective
de santé publique - Volet épidémiologique

RÉGION
OCCITANIE

Préambule

Surveillance virologique du SARS-CoV-2 dans les eaux usées en France : protocole pour sa mise en œuvre dans une perspective de santé publique - Volet épidémiologique

Ce document propose un cadre pour faciliter l'interprétation et l'utilisation des données issues de la surveillance du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées en France dans un objectif de santé publique et d'aide à la gestion. La surveillance dans les eaux usées doit être considérée comme un complément à la surveillance en population à partir des données de santé individuelles mais ne pas la suppléer.

Il apporte la contribution de Santé publique France en réponse à une saisine de la Direction générale de la santé sur le volet épidémiologique pour définir le besoin en matière d'indicateur utile pour la surveillance. Sur cette base, il nécessite d'être complété par un volet microbiologique (prélèvement, méthodes analytiques), qui sera notamment traité par l'Anses dans le cadre de sa désignation comme laboratoire national de référence (LNR) pour la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de stations d'épuration.

Il repose sur les expérimentations réalisées en France, dans les pays étrangers ainsi que les recommandations de l'OMS, des CDC (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies) américains, des Pays-Bas et de la commission européenne (UE 2021/472 du 17 mars 2021). La surveillance des eaux usées étant une discipline en développement rapide, les éléments de cadrage proposés dans ce document pourraient être amenés à évoluer en fonction de l'avancée des connaissances.

MOTS CLÉS : SURVEILLANCE, SARS-COV-2, EAUX USÉES, SANTÉ PUBLIQUE

Citation suggérée : Damien Mouly D, Galey C, De Valk H, Golliot F. *Surveillance virologique du SARS-CoV-2 dans les eaux usées en France : protocole pour sa mise en œuvre dans une perspective de santé publique - Volet épidémiologique*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2021. 29 p. Disponible à partir de l'URL : <https://www.santepubliquefrance.fr>

ISSN : 2647-4816 - ISBN-NET : 979-10-289-0714-3 - RÉALISÉ PAR LA DIRECTION DE LA COMMUNICATION, SANTÉ PUBLIQUE FRANCE - DÉPÔT LÉGAL : DÉCEMBRE 2021

Preamble

Virological monitoring of SARS-CoV-2 in wastewater in France: protocol for its implementation from a public health perspective - Epidemiological component

This document proposes a framework to facilitate the interpretation and use of data from surveillance of the SARS-CoV-2 genome in wastewater in France for public health and management support purposes. Surveillance in wastewater should be considered as a complement to surveillance in the population based on individual health data, but not as a supplement.

It provides the contribution of Santé publique Health France in response to a referral from the Directorate General of Health on the epidemiological aspect to define the need for a useful indicator for surveillance. On this basis, it needs to be supplemented by a microbiological component (sampling, analysis) which will be implemented by ANSES as part of its mandate as a national reference laboratory for the surveillance of SARS- CoV-2 in wastewaters.

It is based on the experiments carried out in foreign countries as well as the recommendations of the WHO, the American CDC, the Netherlands and the European Commission (EU 2021/472 of March 17, 2021). As wastewater monitoring is a rapidly developing discipline, the framing elements proposed in this document may need to evolve depending on the advancement of knowledge.

KEY WORDS: MONITORING, SARS-COV-2, WASTEWATER, PUBLIC HEALTH

Auteurs

Santé publique France

Damien Mouly (Direction des régions – cellule régionale Occitanie)
Catherine Galey (Direction appui, traitements et analyses de données)
Henriette De Valk (Direction des maladies infectieuses)
Franck Golliot (Direction des régions)

Contributeurs / relecteurs

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Benoît Gassilloud (Laboratoire d'hydrologie de Nancy)
Christophe Rosin (Laboratoire d'hydrologie de Nancy)
Thierry Chesnot (Laboratoire d'hydrologie de Nancy)
Pascale Panetier (Direction de l'évaluation des risques, unité d'évaluation des risques liés à l'eau)
Christophe Cordevant (Direction de la stratégie et des programmes, Pôle recherche et référence)

Direction générale de la santé

Ami Yamada (Centre de crise sanitaire, pôle indicateurs)
Corinne Féliers (Bureau des eaux)

Santé publique France

Pascal Beaudeau (Retraité)
Philippe Malfait (Direction des régions - Santé publique France Paca - Corse)
Pascal Chaud (Direction des régions - Santé publique France Paca - Corse)
Amandine Cochet (Direction des régions - Santé publique France Occitanie)
Arnaud Tarantola (Direction des régions – Santé publique France Île-de-France)

Agences régionales de santé

Olivier Coulon (ARS Paca)
Fabrice Dassonville (ARS Paca)

Table des matières

Résumé / Préambule	2
Abstract / Preamble	3
Auteurs, contributeurs / relecteurs	4
1. Introduction	6
1.1 Définitions et concept	6
1.2 Situation internationale	7
1.3 Situation en France	8
1.4 Intérêt et limites de la surveillance	9
2. Objectifs de la surveillance du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées dans une finalité de santé publique	11
2.1 Détecter précocement la présence du génome du SARS-CoV-2 et des variants émergents en population générale	11
2.2 Suivre les tendances de la circulation virale au sein d'une population	12
3. Cahier des charges pour la mise en œuvre de la surveillance	13
3.1 Choix des sites d'intérêt et plan d'échantillonnage pour la surveillance	13
3.2 Type d'échantillon à collecter	14
3.3 Traitement des échantillons	16
3.4 Données à collecter et production d'indicateurs utiles pour la décision	16
4. Interprétation des résultats	18
4.1 Prise en compte de la temporalité	18
4.2 Estimation du nombre de cas d'infection dans la population	19
4.3 Détection de la présence d'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées	20
4.4 Quantification d'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées	21
5. Utilisation et communication des données	22
6. Une approche partenariale	26
7. Évaluation du dispositif de surveillance	27
8. Aspects réglementaires	27
9. Principales recommandations	27
9.1 Pour la surveillance	27
9.2 Pour la recherche	27
10. Références bibliographiques	28

1. INTRODUCTION

1.1 Définitions et concept

La surveillance virologique du SARS-CoV-2 dans les eaux usées via la recherche de son ARN a démarré dès le début de la pandémie et de nombreux travaux de recherche ont été conduits dans le monde, en Europe et en France [1-4].

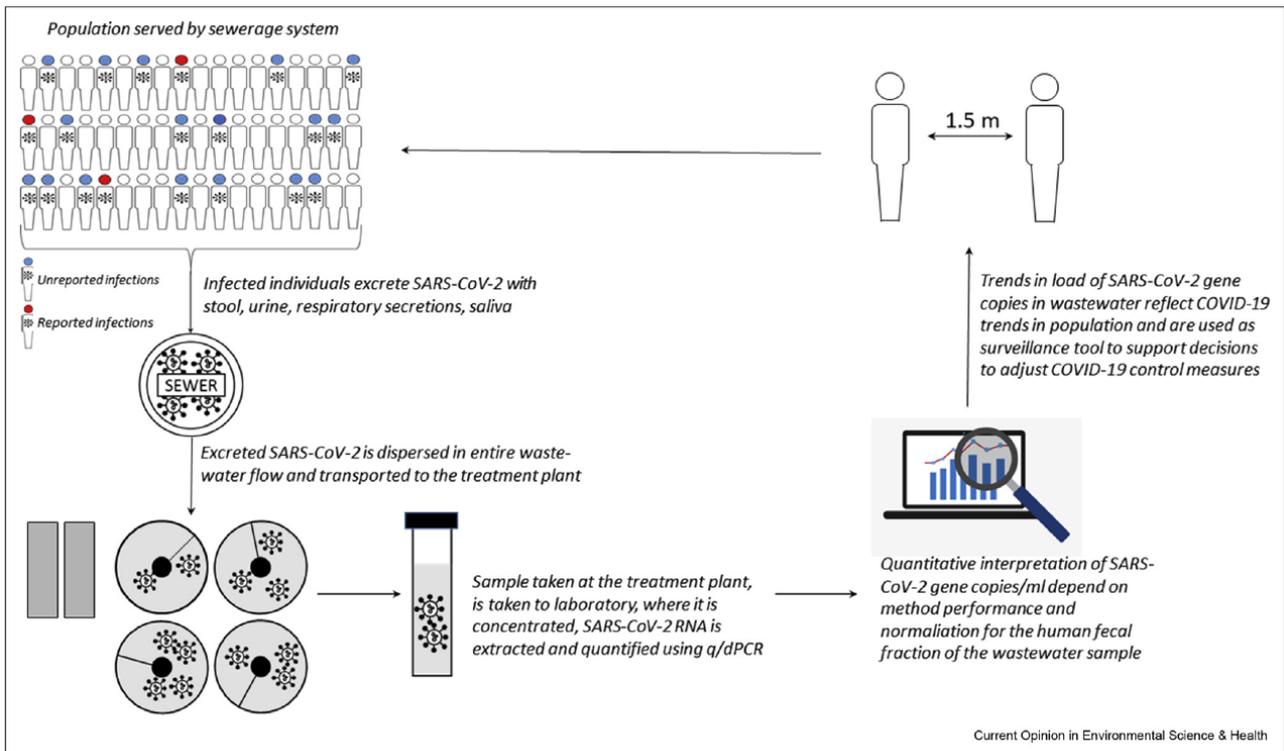
Les eaux usées sont des « eaux polluées » à la suite d'usages domestiques et/ou industriels. Les types d'eaux usées peuvent communément être regroupés en eaux usées domestiques comprenant les eaux ménagères (résultant de leur utilisation pour des usages liés à l'hygiène corporelle, du lavage du linge, de la vaisselle, des sols) et les eaux vannes (eaux alimentant les chasses d'eau et par suite contaminées par matières fécales et urines) ; et en eaux usées non domestiques (eaux de ruissellement d'origine pluviale, industrielles...). Les eaux usées constituent ainsi une matrice complexe qui intègre un ensemble de contaminants physique, chimiques et biologiques, d'origine humaine, environnementale et/ou industrielle en lien avec les activités et les usages d'un ensemble de personnes et/ou d'établissements. Dans le cas de l'assainissement collectif, elles sont acheminées via des égouts (unitaires ou séparatifs selon l'acheminement conjoint ou non des eaux pluviales) vers une station de traitement des eaux usées où elles sont traitées avant d'être rejetées dans l'environnement.

La surveillance des eaux usées est le processus de suivi de la qualité des eaux usées à la recherche de contaminants. Elle nécessite tout d'abord de définir une stratégie d'échantillonnage (choix des points d'intérêt et plan d'échantillonnage) en fonction des objectifs visés. Dans un deuxième temps, l'analyse et l'interprétation des données collectées (présence ou concentration d'agents pathogènes, présence de polluants chimiques, mesures physico-chimiques) sont à considérer.

Appliquée au domaine des maladies infectieuses, cette surveillance peut présenter un intérêt en santé publique en aidant à détecter et mieux comprendre la diffusion d'une maladie au sein d'une population. Elle a notamment montré son utilité dans le contrôle de la diffusion du virus de la polio [5, 6]. Plus récemment, l'émergence du SARS-CoV-2 a suscité de nombreuses interrogations et travaux de recherche dans le monde afin de savoir quelles opportunités la surveillance environnementale du SARS-CoV-2 pouvaient offrir. Les caractéristiques du SARS-CoV-2 permettent d'envisager une surveillance basée sur les eaux usées car la majorité des personnes infectées ne développent aucun ou de légers symptômes de la maladie mais excrètent un grand nombre de virus. Cette excrétion s'effectue principalement dans les fluides respiratoires mais aussi dans les selles (chez 43% des cas d'après une méta analyse récente [7]) et, moins fréquemment, dans les urines. L'ARN du SARS-CoV-2 reste détectable dans les eaux usées pendant des jours, voire des semaines après le début de l'infection chez un cas, selon les conditions [3].

FIGURE 1

Schéma conceptuel de la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées (source : [3])



1.2 Situation internationale

Depuis le début de la pandémie, les instances internationales ont mobilisé un panel d'experts issus des domaines de l'hydrologie urbaine, du traitement des eaux usées, des laboratoires d'analyses et de la santé publique afin de rédiger des recommandations quant à l'intérêt de mesurer la présence de ce virus dans les eaux usées [8], de préciser le positionnement de la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées dans une perspective de santé publique [9] et d'échanger sur les initiatives et problématiques rencontrées par les pays [1, 10]. Un portail collaboratif international a été mis en place sur cette thématique afin de favoriser la diffusion des travaux scientifiques et les échanges entre les équipes (COVID-19 WBE Collaborative - <https://www.covid19wbec.org/>). Enfin, à ce jour, le risque de contamination par le SARS-CoV-2 à partir des eaux usées est considéré comme négligeable pour les travailleurs exposés aux eaux usées ainsi que pour la population générale à partir des rejets des stations de traitement des eaux usées dans l'environnement [4, 11].

Plusieurs pays ont déployé des stratégies de surveillance des eaux usées en lien avec le SARS-CoV-2 à l'échelle nationale [12-15]. Ces exemples mettent en évidence des approches similaires au niveau des stratégies d'échantillonnage. Ces derniers sont généralement faits en entrée de station de traitement des eaux usées, de façon intégrée sur 24h, une à deux fois par semaine. Certains pays comme les Pays-Bas asservissent le volume prélevé au débit de la station de traitement. Cette approche permet de compenser au moment du prélèvement, les effets de dilution éventuelle liés à des variations de débit en raison par exemple d'événements pluvieux. D'autres choisissent de prendre en compte la pluviométrie au moment de l'interprétation des résultats. Les indicateurs présentés peuvent également varier. Par exemple, les Australiens présentent les résultats sous forme de présence/absence du virus dans les échantillons alors que le Luxembourg et les Pays-Bas rapportent un nombre de copies ou de particules virales pour 100 000 habitants. Ce dernier choix nécessite de disposer d'informations précises sur la structuration du réseau, le nombre d'équivalents

personnes raccordées (y compris lors de périodes avec de forts mouvements de population comme les congés) ainsi que des données sur la collecte d'eau issue de rejets industriels. Il présente l'avantage de pouvoir comparer quantitativement les niveaux et les tendances pour une station donnée et entre stations. Il est également possible de calculer un indicateur à l'échelle régionale ou nationale.

En termes de rendu des résultats, tous les pays éditent des rapports réguliers et les Pays-Bas intègrent des indicateurs régionaux et nationaux dans le tableau de bord du RIVM (Institut national de la santé publique et de l'environnement néerlandais, RIVM [16]). Les Australiens utilisent la surveillance dans les eaux usées principalement comme un outil de communication vis-à-vis de la population [17]. Ainsi, cet outil permet d'appuyer des messages de prévention (respect des mesures barrières, distanciation physique, etc.) lorsqu'un échantillon est positif dans une zone où la présence de cas est déjà connue, et d'inciter la population à se faire tester lorsqu'un échantillon est positif dans une zone où la présence de cas dans la population n'est pas connue. Dans les autres pays, la surveillance dans les eaux usées est utilisée pour suivre l'évolution temporo-spatiale du SARS-CoV-2, comparer la diffusion entre les régions (nombre de particules/100 000 habitants) et détecter des reprises précoces dans certains endroits. Selon un consortium européen [18], les coûts estimés pour cette surveillance s'élèveraient à 25 000 euros annuel par site de surveillance avec une fréquence de deux prélèvements par semaine [4].

Les CDC (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies) ont publié sur leur site des recommandations à prendre en compte pour faciliter la mise en œuvre de la surveillance virologique du SARS-CoV-2 dans les eaux aux États-Unis et contribuer au système national de surveillance des eaux usées [14]. Récemment, les Pays-Bas ont également fait un bilan sur les opportunités et les enjeux de cette surveillance en proposant des recommandations pour sa mise en œuvre [3]. Enfin, la commission européenne a publié le 17 mars 2021 des recommandations 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 [19].

1.3 Situation en France

Le cas de la France se caractérise par l'existence d'un ensemble d'acteurs publics (principalement issus de la recherche), et privés (industriels du traitement de l'eau et laboratoires d'analyses) qui réalisent un suivi du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de nombreux sites sur l'ensemble du territoire depuis mars 2020. Une partie de ces acteurs sont des partenaires du réseau « Obépine » [20], réseau national né en avril 2020 à partir d'un consortium de recherche¹ sous l'impulsion du CARE (Comité Analyse, Recherche et Expertise), du ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation. Les principaux objectifs visés sont de mettre en place des protocoles d'analyse fiables et reproductibles, d'établir un réseau de surveillance sur le territoire, d'évaluer le caractère prédictif de la charge virale dans les eaux usées vis-à-vis de la circulation du virus en population générale et de l'évaluation des mesures de contrôle, d'évaluer la sensibilité du système de détection et d'établir une modélisation mathématique entre la charge virale dans les eaux usées et le nombre de personnes infectées sur le territoire correspondant. Ce réseau s'appuie à ce jour sur 4 méthodes d'analyse qui ont été évaluées par des essais inter-laboratoires et sur 7 laboratoires reconnus pour ces méthodes. Parallèlement, de nombreux autres acteurs (bataillon des marins-pompiers de Marseille, Société des eaux de Marseille, SDIS (Service départemental d'incendie et de secours) des Bouches du Rhône, en association des laboratoires départementaux ou des laboratoires privés, Veolia, Suez, etc.) ont également développé des réseaux de surveillance ou des offres commerciales [21, 22] à destination de différents gestionnaires (collectivités, établissements sociaux et médico-sociaux, entreprises, etc.). Les méthodes de détection utilisées diffèrent. Actuellement, seuls des rapports du réseau Obépine sont rendus publics depuis le mois de janvier 2021 en open data sous forme de graphiques et de cartographies [20], ainsi que de tables

¹ Eau de Paris, Sorbonne Université, Inserm (Paris), Université de Clermont-Auvergne, Université de Lorraine, Institut de recherche biomédicale des armées, Service de santé des armées, Ifremer – LSEM (Laboratoire santé, environnement et microbiologie), CNRS – EPHE (École Pratique des Hautes Études, Paris).

de données (www.data.gouv.fr). En complément, depuis l'émergence de variants, le réseau Obépine et d'autres acteurs (CNRS Nice, IHU Marseille) ont aussi débuté des travaux visant à identifier et à séquencer les différents variants du SARS-CoV-2 dans les eaux usées.

1.4 Intérêt et limites de la surveillance

La surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées *via* la recherche de son ARN peut répondre à des objectifs relevant du domaine de la recherche, ainsi qu'à des objectifs relevant du domaine de la santé publique pour en faire un outil opérationnel d'aide à la gestion.

Les intérêts de la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées en santé publique sont :

- De couvrir la quasi-totalité de la population en zone urbanisée ;
- De pouvoir obtenir à moindre coût un test intégré représentatif d'une population sans avoir besoin de mobiliser son implication ;
- De contribuer à la surveillance de la circulation du virus au sein de la population à une échelle locale et nationale en particulier lorsque le dépistage individuel est insuffisamment ou pas mis en œuvre et/ou que le SARS-CoV-2 est en voie d'élimination ;
- De prendre en compte l'ensemble des personnes infectées (symptomatiques et asymptomatiques) ;
- De ne pas être influencée par les stratégies de dépistage en population ;
- De pouvoir détecter précocement une reprise de la circulation virale et une possible montée en charge du recours aux soins dans les jours suivants, en particulier lorsque le dépistage en population est moindre. À ce jour, l'objectif d'alerte précoce à partir d'un signal dans les eaux usées a été démontré de façon rétrospective dans plusieurs études (présence de génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées plusieurs jours voire semaines avant l'identification de cas dans la population) [2, 4, 13] mais rarement en temps réel. Néanmoins, cet objectif peut être visé et utile dans des zones non atteintes dès lors que des séquences de virus ou d'un variant ont été caractérisées chez quelques cas humains (en France ou dans d'autres pays) et que les résultats peuvent être rendus dans des délais courts après le prélèvement.

Les principales limites identifiées sont les suivantes :

- La surveillance des eaux usées ne permet pas à ce jour d'estimer un nombre de cas humains infectés à partir des mesures dans les eaux usées. Ce type d'estimation relève actuellement du domaine de la recherche et nécessite de mieux connaître les paramètres liés à l'excrétion humaine (proportion de personnes infectées qui excrète du virus dans les selles, période d'excrétion, quantité de virus excrétés, dynamique d'excrétion en fonction du temps). Elle demande également la connaissance des paramètres liés au site de surveillance (population couverte y compris lors des mouvements liés aux congés ou au travail, maîtrise des effets de dilution, connaissance du réseau d'assainissement) et/ou la normalisation des résultats analytique par un témoin de l'activité humaine (bactériophage, virus de la marbrure légère du piment - PMMoV) [4] ;
- Le nombre minimal d'infections nécessaires rapportée à la population pour détecter le virus dans les eaux usées est difficile à déterminer car il dépend à la fois de la limite de détection de la méthode, de la dilution des eaux usées (pluies...) et de la quantité de virus émise dans les selles, pour lesquelles il existe peu de données ;

- La taille du secteur dont les eaux usées sont collectées et acheminées vers une station de traitement des eaux usées sous surveillance ne permet pas de cibler une zone ou une structure précise (pas de localisation possible de clusters) ;
- La coexistence de nombreuses méthodes d'analyses et l'absence de standardisation rend difficile la comparaison des résultats entre sites distincts suivis par des laboratoires différents ;
- La détection du génome d'un variant du SARS-CoV-2 dans un échantillon d'eaux usées dépend entre autres de la sensibilité des tests, de la préservation des échantillons et de la concentration du variant. L'absence de détection d'un variant ne signifie pas l'absence de ce variant dans les eaux usées ou dans la population (risque de faux négatifs en termes d'alerte) ;
- La présence du génome d'un variant du SARS-CoV-2 dans les eaux usées ne préjuge pas *a priori* de son potentiel épidémique, d'une modification de la contagiosité ou de la sévérité, d'une modification de la sensibilité aux vaccins, en l'absence de données complémentaires épidémiologiques, recueillies en France ou ailleurs (risque de faux positifs en termes d'alerte).

2. OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE DU GÉNOME DU SARS-COV-2 DANS LES EAUX USÉES DANS UNE FINALITÉ DE SANTÉ PUBLIQUE

Sur la base des connaissances scientifiques actuelles, les données de surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées peuvent être utilisées pour répondre à deux objectifs principaux utiles en santé publique pour guider les mesures de gestion :

2.1 Détecter précocement la présence du génome du SARS-CoV-2 et des variants émergents en population générale

Cet objectif qualitatif (détection/non détection) répond à un système d'alerte précoce et permet de déclencher des mesures de gestion adaptées. Il est particulièrement utile à une période ou une zone géographique où le niveau de circulation du virus/variant est très bas dans la population. Il nécessite d'une part de disposer au préalable des méthodes de détection validées, d'autre part d'avoir un délai court entre le prélèvement et le rendu des résultats.

Un objectif secondaire peut également présenter un intérêt suivant le contexte : détecter la présence de cas d'infection sur un site ciblé supposé « zéro Covid-19 » ou pour lequel peu de dépistages sont réalisés (par exemple, une structure collective type établissements sociaux et médico-sociaux, école, caserne, campus, prison ou un quartier). Cette approche permet d'adapter les mesures de gestion et de dépistage à un niveau local. Elle est plus adaptée aux sites incluant l'hébergement de la communauté à surveiller.

Afin de pouvoir répondre à l'objectif d'alerte précoce, la commission européenne recommande de pouvoir enregistrer le résultat au plus tard 48 heures après le prélèvement [23].

Concernant la détection de variants, et quel que soit le niveau de circulation des souches déjà connues, leur recherche dans les eaux usées sur l'ensemble du territoire dans un délai court peut apporter une information utile pour décrire rapidement la diffusion temporo-spatiale de ces nouveaux variants avant le déploiement massif de capacités de séquençage en population générale. La recherche dans les eaux usées de nouveaux variants pour la surveillance en appui à la gestion nécessite au préalable que la souche/séquence ait été identifiée par le Centre national de référence (CNR) des virus respiratoires dans des prélèvements humains ou par d'autres laboratoires d'analyses en France ou à l'étranger et rapportée dans GISAID². Les laboratoires effectuant les recherches dans les eaux usées devront dès lors disposer de méthodes qualifiées et validées pour la recherche des variants d'intérêt. Les résultats de programmes de recherche réalisant des séquençages des souches retrouvées dans les eaux usées peuvent également apporter une information utile pour les variants. Par ailleurs, compte tenu de l'évolution rapide de la surveillance génomique, la détection de nouveaux variants émergents correspondant à la définition des variants en cours d'évaluation après avis du CNR et du projet EMERGEN³ est à considérer. Il pourrait également être envisagé de faire un lien entre la surveillance génomique dans les eaux usées et le projet EMERGEN.

² Les mutations ou les variants du virus sont surveillés depuis le début de la pandémie de COVID-19 grâce à la base de données de la *Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data* (GISAID) sur le séquençage (<https://www.gisaid.org/>)

³ Le projet Emergen a été mis en place en janvier 2021 afin d'augmenter les capacités de séquençage en France. Il s'agit d'un projet de surveillance génomique du SARS-CoV-2 à des fins de surveillance et de recherche, coordonné par l'agence et l'ANRS | Maladies Infectieuses émergentes (MIE) et santé publique France.

2.2 Suivre les tendances de la circulation virale au sein d'une population

Cet objectif s'inscrit dans une logique de surveillance en routine et permet d'adapter les mesures de gestion en place et de contrôler leur efficacité. Il est particulièrement utile pour identifier une accélération, l'atteinte d'un plateau ou une diminution de la circulation virale dans la population ou sur certaines zones géographiques. Compte tenu des connaissances actuelles sur la durée d'excrétion du virus dans les selles, cet objectif est peu adapté pour dater un arrêt de la circulation virale dans une population donnée (notion de fin de vague épidémique). Le suivi des tendances peut se faire à une échelle locale et plus globalement à une plus grande échelle, sous réserve que les laboratoires qui interviennent utilisent les mêmes méthodes.

À ce jour, en l'absence de lien suffisamment établi entre le niveau de concentration dans les eaux usées et le nombre de cas d'infection dans la population, la surveillance dans les eaux usées ne permet pas de produire un indicateur quantitatif du nombre de cas dans la population.

3. CAHIER DES CHARGES POUR LA MISE EN ŒUVRE DE LA SURVEILLANCE

La surveillance des eaux usées peut ainsi venir compléter les autres systèmes de surveillance du Covid-19 pour informer le décideur. La stratégie d'échantillonnage dans les eaux usées doit être adaptée aux objectifs de santé publique qui peuvent varier selon les phases de l'épidémie (cf. ci-dessus).

Une interprétation appropriée en santé publique des données de surveillance du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées dépend de la bonne compréhension et connaissance de l'hydrologie urbaine associée aux sites de prélèvements, de la représentativité des échantillons prélevés, du respect des bonnes pratiques en lien avec le conditionnement des échantillons, leur conservation (du prélèvement à l'arrivée au laboratoire) et l'ensemble des étapes de la chaîne analytique jusqu'à l'interprétation finale des résultats. Des recommandations de la Commission européenne proposent des paramètres pour normaliser les données [23].

3.1 Choix des sites d'intérêt et plan d'échantillonnage pour la surveillance

Le choix des sites d'intérêt pour la surveillance du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées doit se faire en fonction des objectifs de santé publique ciblés à l'échelle nationale et locale, ainsi que des ressources disponibles (moyens humains et logistiques). Ainsi, les zones urbaines représentent une option intéressante pour suivre les tendances et détecter des réémergences car elles concentrent la majorité de la population en France. De la même façon, des sites touristiques susceptibles d'accueillir un nombre important de personnes sur des périodes courtes peuvent présenter un intérêt pour la détection précoce de cas. Enfin, de façon plus ciblée, des établissements accueillant des personnes fragiles (centres hospitaliers, Ehpad), des écoles, des campus/cités universitaires, des prisons ou des zones dans lesquelles les capacités de tests en population générale sont limitées, pourraient également présenter un intérêt pour la surveillance. Pour ces établissements, ceux correspondant au lieu de résidence des personnes (ex : cité universitaires, prisons, Ehpad) sont à privilégier car l'usage des toilettes pour l'excrétion des selles y est plus systématique que dans les autres types d'établissements (école, lieu de travail par exemple). Le choix des sites d'intérêt peut évoluer en fonction de la circulation virale et des capacités de tests en population générale.

Pour répondre aux objectifs principaux de surveillance en population générale (détection et suivi des tendances), un maillage territorial permettant d'avoir une représentation à l'échelle départementale pourrait être préconisé. Les chefs-lieux des départements et/ou les grandes métropoles regroupant une part importante de la population du département pourraient constituer des sites sentinelles d'intérêt. Ce niveau géographique est également cohérent avec les données de surveillance en population humaine qu'il faudra confronter aux données dans les eaux usées. Il est également cohérent avec la recommandation UE 2021/472 du 17 mars 2021 visant la mise en place d'une surveillance qui s'applique *a minima* aux eaux usées des grandes agglomérations de plus de 150 000 habitants [23].

Pour répondre aux objectifs secondaires, des sites supplémentaires d'échantillonnage pourront être sélectionnés. Le choix des sites dépend de la population cible qu'il est jugé utile de mettre sous surveillance, qu'elle soit résidente (détection dans un établissement ou un quartier donné) ou transitoire (sites touristiques).

Pour chaque site sélectionné, une bonne connaissance des paramètres suivants est nécessaire pour l'interprétation des résultats : le temps de séjour hydraulique moyen des eaux usées avant d'atteindre le point où le dispositif de prélèvement a été installé, la zone et la taille de la population

raccordée, avec les changements importants ponctuels de population raccordée (déplacements de population lors des périodes de congés, déplacements liés au travail, travaux sur la station de traitement des eaux usées), apports d'eaux industrielles ou pluviales. Il sera dès lors possible de rapporter la mesure d'ARN viral obtenue à un nombre d'équivalent habitant et à une période d'excrétion possible, sous réserve de mieux connaître l'excrétion humaine dans les selles (niveau et durée).

Enfin, pour chaque site, des points de prélèvement représentatifs du débit d'eau usée doivent être accessibles. Pour les sites liés aux stations de traitement des eaux usées, les points ne doivent pas être influencés par des étapes de prétraitement éventuel, donc si possibles installés sur les eaux brutes en entrée de station. Pour les sites liés à la surveillance de sous-populations ciblées, une analyse technique précise des réseaux d'eaux usées doit être menée au préalable. Les points devront en particulier permettre l'installation sécurisée du dispositif de prélèvement et une évaluation de la représentativité des prélèvements devra être effectuée pour permettre d'estimer les incertitudes (dont la probabilité de faux positifs). La disponibilité de métadonnées utiles à l'interprétation des résultats est également un critère de choix des sites : débit d'entrée, paramètres physico-chimiques, indicateur de masse fécale indépendant du SARS-CoV-2.

Le plan d'échantillonnage pour la surveillance du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées doit être guidé par les besoins de santé publique. Elle peut devoir être mise à jour au fil du temps en fonction de l'évolution des connaissances scientifiques et des objectifs de santé publique (tableau 1). La stratégie d'échantillonnage doit également tenir compte de la capacité d'analyse des laboratoires compétents.

3.2 Type d'échantillon à collecter

Pour répondre aux objectifs principaux de surveillance, les eaux usées non traitées peuvent être prélevées en entrée de station de traitement des eaux usées. Pour répondre à l'objectif secondaire, les eaux usées peuvent être prélevées en amont dans le réseau de collecte des eaux usées ou en sortie d'établissement.

Afin de prendre en compte la variabilité journalière des apports de matière fécale dans les eaux usées, les échantillons composites sont considérés comme plus représentatifs des contributions fécales de la communauté que les échantillons ponctuels et doivent être privilégiés. Ces échantillons sont collectés sur une période de temps définie - généralement 24 heures.

Afin de tenir compte des phénomènes de dilution par temps de pluie principalement, il est préconisé que les échantillons en entrée de station soient asservis dans la mesure du possible au débit ou par défaut effectués uniquement par temps sec.

Pour les échantillons en amont dans le réseau ou en sortie d'établissement, un échantillon ponctuel peut être réalisé si les contraintes de terrain le justifient. Dans ce cas, seul l'objectif de détection peut être visé. À l'échelle de petites communautés les variations des concentrations en fonction de l'heure peuvent également influencer fortement les résultats de prélèvements ponctuels. Dans ce cas, les incertitudes identifiées devront être clairement communiquées.

I TABLEAU 1 I

Stratégie d'échantillonnage et indicateurs d'intérêt en fonction des objectifs de surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées

Objectifs de surveillance	Sites de prélèvement	Fréquence d'échantillonnage	Type de prélèvement	Indicateurs d'intérêt
Détecter précocement la présence du SARS-CoV-2 et des variants émergents en population générale	STEU Zones urbaines* STEU Sites touristiques	2 fois par semaine Jours de prélèvements peuvent être adaptés suivant le contexte**	Eaux usées non traitées en entrée de STEU Échantillon composite 24h ou ponctuel**** selon un protocole standardisé et reproductible	Présence/Absence Variants identifiés Sensibilité de la méthode Taille de la population raccordée
Détecter ou surveiller la présence de cas d'infection sur un site ciblé supposé « zéro Covid-19 » ou pour lequel peu de dépistages sont réalisés	Sortie eaux usées centres hospitaliers, Ehpad, campus, prisons, égouts de quartiers. Une analyse technique précise des réseaux d'eaux usées doit être menée au préalable	1 à 2 fois par semaine Jours de prélèvements et plages horaires peuvent être adaptés suivant le contexte**	Eaux usées non traitées dans le réseau de collecte Échantillon composite 24h ou ponctuel**** selon un protocole standardisé et reproductible	Présence/Absence Valeur du seuil de quantification Taille de la population couverte Échantillon composite/ponctuel
Suivre les tendances de la circulation virale au sein d'une population	STEU Zones urbaines*	1 à 2 fois par semaine selon un protocole harmonisé entre les sites et reproductible d'une semaine sur l'autre***	Eaux usées non traitées en entrée de STEU Échantillon composite 24h selon un protocole standardisé et reproductible	Nombre de copies/Litre Nombre de copies/100 000 habitants par jour

STEU : station de traitement des eaux usées ;

* une STEU par département et/ou par grande métropole ;

** par temps sec uniquement si l'échantillon ne peut pas être asservi au débit ;

*** la fréquence d'échantillonnage peut être adaptée en fonction de la situation épidémiologique et les jours de prélèvement en fonction du contexte météorologique

**** ce type de prélèvement est à utiliser en dernière intention et les incertitudes liées aux variations des concentrations en fonction de l'heure de prélèvement doivent être identifiées

3.3 Traitement des échantillons

Plusieurs méthodes de test sont utilisées pour détecter ou quantifier l'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées en France sans qu'il y ait de réelle harmonisation entre les méthodes (cf avis de l'Anses du 19 février 2021 sur l'épandage de boues issues du traitement des eaux usées urbaines⁴). Pour les besoins de la surveillance, en particulier pour le suivi des tendances, les résultats obtenus par différents laboratoires et sur différents sites doivent pouvoir être comparés entre eux. Ceci implique de devoir évaluer et limiter au maximum la variabilité inter et intra laboratoire. Cet aspect sera plus particulièrement mis en œuvre par l'Anses, à la suite de la désignation de son laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN), comme laboratoire national de référence (LNR) pour la surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues de stations d'épuration.

Il apparaît nécessaire à ce niveau de pouvoir compléter ce cahier des charges par un volet analytique qui définirait les critères/étapes à réaliser pour obtenir des résultats standardisés, validés, reproductibles ainsi que leur niveau d'incertitude (cf mandat LNR Anses).

Les principales étapes identifiées pour cette partie sont [14] : le prélèvement, le transport, la conservation, la préparation, la concentration, l'extraction ARN, la méthode de détection, les contrôles (récupération de la matrice, normalisation fécale humaine pour tenir compte des effets de dilution ou changement de la taille de la population excrétrice, tests d'inhibition et contrôle des négatifs).

3.4 Données à collecter et production d'indicateurs utiles pour la décision

Un ensemble de données est nécessaire pour pouvoir interpréter les mesures de génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées. Ces données sont collectées à plusieurs étapes du processus de surveillance (tableau 2).

Les indicateurs de résultats de génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées utiles pour la surveillance peuvent être qualitatifs (présence/absence d'ARN viral dans les eaux usées) et quantitatifs. Ils correspondent alors à la quantité d'ARN viral dans les eaux usées rapportée à un volume d'eaux usées (nombre de copies/Litre) ou à la population raccordée (nombre de copies/100 000 habitants) par jour. Pour chaque indicateur estimé, le niveau d'incertitude lié à la variabilité intrinsèque de la méthode d'analyse doit être connu et reproductible entre les sites et les prélèvements.

⁴ <https://www.anses.fr/fr/system/files/MFSC2020SA0137Ra.pdf>

I TABLEAU 2 I

Données à collecter pour la surveillance

Étape	Information à collecter
Site de prélèvement	Taille de la population équivalente (population raccordée), plage de débit journalier entrant (min, max, moyenne, médiane), raccordement d'établissements type Ehpad ou établissements de soins, raccordement d'eaux industrielles (si présence de filières productrices de gros volumes)
À chaque prise d'échantillon	Date, plage horaire couverte par l'échantillonnage (si échantillon composite) ou heure de prélèvement (si échantillon ponctuel), lieu de prélèvement, caractéristique du point de prélèvement et du dispositif de prélèvement, volume d'eau prélevé, existence de précipitations au moment du prélèvement Débit eaux usées entrant durant le prélèvement
Pour chaque échantillon	Modalités concernant les méthodes de concentration des échantillons, les méthodes d'extraction et de quantification, l'efficacité de la récupération virale et les méthodes de contrôles d'inhibition moléculaire, de normalisation fécale humaine, date de réception et début d'analyse, date de validation des résultats. Caractéristiques globales des échantillons (DBO, DCO, MES, NH4, Ntk, etc.)

4. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

4.1 Prise en compte de la temporalité

Afin de pouvoir interpréter les résultats des mesures de concentrations de l'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées à un instant t, il faut tenir compte du délai entre la prise d'échantillon et le rendu des résultats, ainsi que du temps de séjour dans le système de collecte des eaux usées entre les logements raccordés et le point de prélèvement. À ces délais s'ajoute la durée d'excrétion du SARS-CoV-2 dans les selles qui peut durer plusieurs semaines comme cela a été montré dans une méta-analyse récente (figure 2) [3, 24, 25].

À titre de comparaison, la détection dans des prélèvements nasopharyngés grâce à la surveillance en population humaine est possible de quelques jours avant à une semaine après le début des symptômes (figure 3) [26]. Le délai d'analyse et de mise à disposition de l'information dans la base de surveillance virologique humaine (Sidep) est de l'ordre de 24 à 48 heures. Pour les cas symptomatiques qui vont se faire tester, le délai total est ainsi de l'ordre de 3 à 4 jours (le délai entre la survenue des signes et la réalisation d'un prélèvement de l'ordre de 2 jours, auquel on ajoute le délai d'analyse et de remontée dans Sidep). Pour les cas symptomatiques qui nécessitent un recours aux soins hospitaliers, les délais entre la date de début des signes et la date d'hospitalisation est de l'ordre d'1 à 2 semaines. Par conséquent, la précocité de la détection du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées est particulièrement utile lorsque le dépistage en population générale est faible ou que les données ne sont pas collectées (ex : autotests).

Ces délais sont importants à considérer pour comparer en temps réel les données de surveillance des eaux usées avec les données virologiques dans la population (cas incidents). Les objectifs de détection et de suivi des tendances en phase ascendante de circulation virale ne sont pas trop modifiés par ces décalages, en revanche, la tendance en phase descendante peut être retardée et plus lente dans les eaux usées du fait de l'excrétion virale prolongée.

FIGURE 2 I

Synthèse des concentrations rapportées de SARS-CoV-2 dans les échantillons fécaux par jour depuis le début des symptômes (sachant que les données de Xu et al., 2020 sont rapportées en jours après l'hospitalisation) (source : [3])

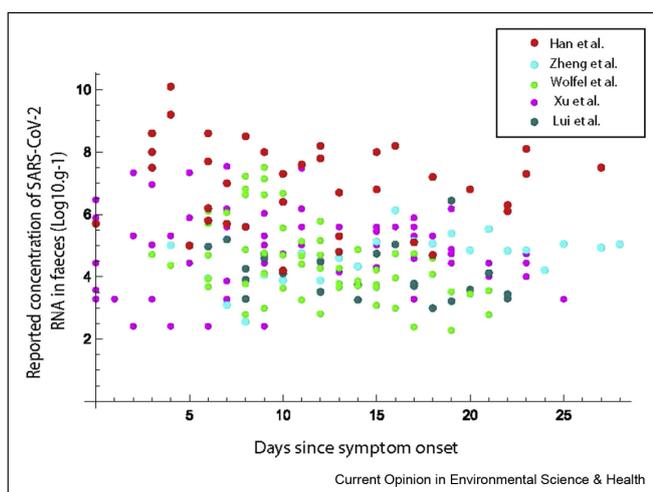
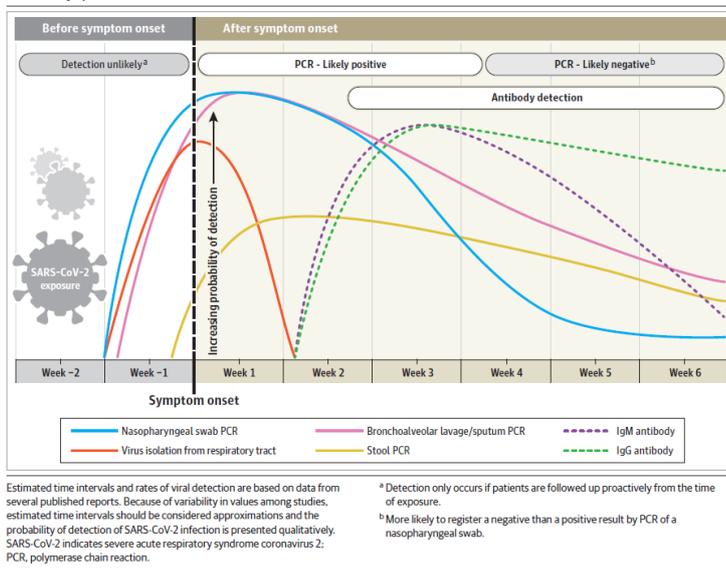


FIGURE 3 I

Estimation de la variation dans le temps des méthodes de diagnostic d'une infection à SARS-CoV-2 en fonction de la date de début des symptômes (source : [26])

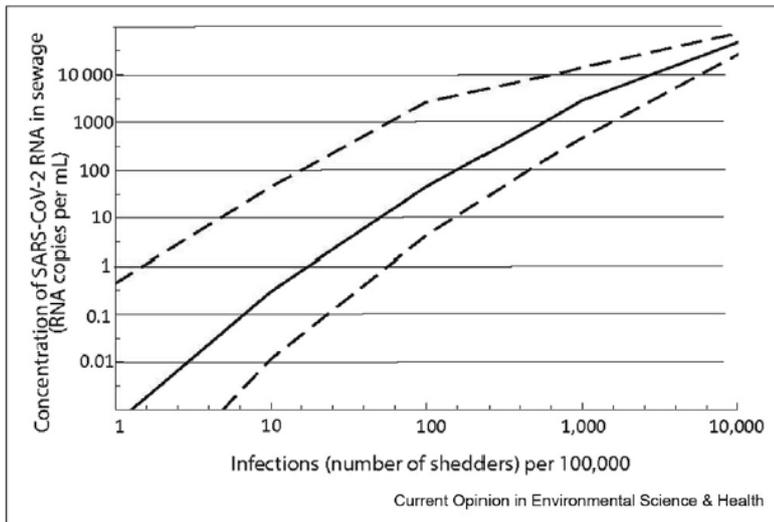


4.2 Estimation du nombre de cas d'infection dans la population

Bien que des études récentes proposent une relation entre la concentration en ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et le nombre d'infections dans la population (figure 2) [3], les connaissances scientifiques actuelles ne sont pas suffisantes pour pouvoir estimer un nombre de cas d'infection dans la population à partir de mesures du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées. Cette estimation est limitée notamment par le manque de données sur l'excrétion virale dans les selles : proportion de cas qui excrète le SARS-CoV-2 dans les selles, durée d'excrétion, niveau d'excrétion en fonction de la durée, niveau d'excrétion en fonction de la présence ou non de symptômes, variabilité intra et inter individus. Une revue des études sur le COVID-19 par Parasa *et al.* [27] a indiqué que l'ARN du SARS-CoV-2 a été détecté dans des échantillons fécaux de 40,5% (intervalle de confiance à 95% [IC] 27,4% à 55,1%) des patients atteints de COVID-19. Une autre étude rapporte que l'ARN viral a été identifié chez 57% des personnes infectées (55 sur 96 patients) [25]. Enfin, une méta-analyse récente estime la prévalence de SARS-CoV-2 dans les selles des patients atteints du Covid-19 à 43% (95% intervalle de confiance [CI] 34%–52%) [7]. Cette même étude montre également que la prévalence dans les selles est plus importante chez les patients avec des symptômes gastro-intestinaux, en particulier la diarrhée et que l'excrétion du SARS-CoV-2 dans les selles dure environ 3 semaines (contre 2 semaines dans les prélèvements nasopharyngés). En complément des paramètres d'excrétion humains, des paramètres liés aux sites de prélèvements des eaux usées doivent être maîtrisés. Ainsi, une bonne connaissance des conditions hydrauliques, de la taille de la population couverte et des variations éventuelles sont nécessaires pour estimer un nombre de cas d'infection à partir des résultats de concentrations de SARS-CoV-2 dans les eaux usées.

FIGURE 4 I

Modélisation de la relation entre le nombre de personnes infectées dans la population et la concentration d'ARN viral de SARS-CoV-2 dans les eaux usées (ligne pleine = médiane ; lignes pointillées = p5 et p95) (source : [3])



4.3 Détection de la présence d'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées

La détection d'ARN viral de SARS-CoV-2 dans les eaux usées signe la présence d'au moins un cas infection (symptomatique ou asymptomatique) dans la population raccordée au réseau des eaux usées au cours des derniers jours (max 2 semaines). En phase de faible circulation virale, la répétition des mesures (par exemple 2 fois par semaine) permet de réduire le délai entre l'apparition d'un cas dans la communauté et la détection dans les eaux usées.

L'absence de détection d'ARN viral de SARS-COV-2 indique un niveau de circulation bas dans la population de la zone qui peut être considérée comme à faible risque de diffusion. Une étude a montré qu'un signal (présence d'ARN viral) dans les eaux usées avait été détecté alors que l'incidence dans la population était de l'ordre de 1 cas pour 100 000 habitants [13].

À l'échelle de petites communautés (quartiers ou sortie établissements), l'absence de détection de génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées ne doit pas entraîner un relâchement dans la surveillance de cas humains évocateurs de SARS-CoV-2 (possibilité de faux négatifs), ni dans l'application des mesures barrières.

La détection de la présence d'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées ou l'absence de détection doivent tenir compte de la possibilité de fausses alertes (faux négatifs ou faux positifs) (tableau 3).

L'interprétation de la détection des variants doit se faire au regard des données épidémiologiques qui permettent de caractériser la menace épidémique et la gravité des mutations. Tous les variants ne présentent pas nécessairement une alerte de santé publique.

FIGURE 4 I

Scénarios possibles pour la détection du génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées, ou de ses variants, et interprétation des résultats

		Dans la communauté	
		Présence de virus/variants	Absence de virus/variants
Dans les échantillons d'eaux usées	Détection de virus/variants	<p>Échantillons vrais positifs</p> <p>Cohérence dépistage / surveillance des eaux usées mais précocité de cette dernière => alerte possible</p> <p>Utilité :</p> <ul style="list-style-type: none"> - si dépistage peu accessible - recherche de variants connus ailleurs mais non identifiés (ou partiellement) sur le territoire 	<p>Échantillons faux positifs : possible en cas de contamination au laboratoire ou artefact méthode de d'analyse</p> <p>« Fausses alertes variants » possible :</p> <ul style="list-style-type: none"> - en cas d'identification erronée notamment de variants à suivre - en cas d'identification de variants à potentiel épidémique faible ou nul
	Pas de détection de virus/variants	<p>Échantillons « faux négatifs » : sensibilité de la méthode, conditions de prélèvements ou de conservation, dilution</p>	<p>Échantillons vrais négatifs</p> <p>Peu envisageable si on considère la probabilité élevée d'endémicisation de SARS-CoV-2.</p> <p>Si endémicisation, peut-être utile si seuil de détection plutôt élevé, pour écarter le risque d'épidémie locale à moyenne échéance</p>

4.4 Quantification d'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les eaux usées

Des résultats quantitatifs permettent de renseigner sur les tendances et le niveau de circulation du virus dans la population raccordée.

Les tendances doivent être calculées à partir de concentrations (nb de copies/100 000 habitants ou nb de copies/L) par date de prélèvement, obtenues sur des échantillons composites (24 heures), qui tiennent compte de phénomènes de dilution éventuels liés à des pluies ou des variations dans les apports humains ou industriels. L'interprétation des tendances sera préférentiellement réalisée sur la base de plusieurs mesures afin de confirmer d'éventuels changements. Elle tiendra compte de l'incertitude de la mesure. Les résultats des prélèvements effectués les jours de pluie seront écartés si l'effet pluviométrie ne peut pas être corrigé.

Les calculs de tendance ainsi que la représentation de concentrations standardisées normalisées rapportées à un nombre d'équivalent habitant par jour permettent de comparer différents sites entre eux.

L'interprétation croisée avec les données de santé peut permettre de guider les mesures de gestion (cf. partie 5).

5. UTILISATION ET COMMUNICATION DES DONNÉES

Afin de pouvoir intégrer les mesures du SARS-CoV-2 dans les eaux usées dans la stratégie globale de surveillance épidémiologique du Covid-19, les partenaires de la surveillance doivent être en mesure de collecter et de diffuser rapidement les données nécessaires à l'interprétation en santé publique.

Le partage des données de surveillance est une source essentielle de progrès collectif en santé publique. Ce partage de données doit pouvoir se faire dans un premier temps avec les exploitants des stations de traitement des eaux usées, les laboratoires, les décideurs, les agences régionales de santé et Santé publique France chargée de la surveillance de l'état de santé de la population. Le format et la fréquence de mise à disposition des données doivent être définis avec les utilisateurs et compatibles avec des objectifs de surveillance.

Les données de surveillance du génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées ne doivent pas être interprétées de façon isolée. L'interprétation conjointe des données de santé est nécessaire pour apprécier le niveau de circulation virale dans la population et la tendance afin de guider les mesures de gestion. En fonction de l'avancée des connaissances dans la précision des méthodes d'analyse et dans la relation entre les données dans les eaux usées et les données de santé, la surveillance dans les eaux usées pourrait constituer à lui seul un dispositif d'alerte (si identification d'un variant d'intérêt ou dépassement d'un seuil quantitatif d'alerte).

Des propositions de mesures de gestion peuvent être dressées au regard de l'interprétation croisée des données de surveillance en population et dans les eaux usées : recommandations pour le dépistage, sensibilisation aux mesures barrières, recommandations pour limiter les contacts au sein de la population (notion de distanciation physique), etc. Plusieurs scénarios sont envisagés pour l'interprétation des données (tableau 4).

TABLEAU 4 I

Scénarios de surveillance dans les eaux usées et interprétation des résultats en fonction du niveau et de la vitesse de circulation du virus en population générale (objectifs principaux de la surveillance dans les eaux usées) (source : adapté de Medema [3]) - 1/3

Points de surveillance eaux usées	Niveau et vitesse de circulation en population	Résultats des indicateurs de surveillance		Interprétation	Propositions de gestion
		Population (Sidep ou Sivic) Variation indicateurs S-1 / S-2	Eaux usées Variation indicateurs S-1 / S-2		
STEU Zone urbaine Prélèvement hebdomadaire ou bi-hebdomadaires	Faible circulation, entre 2 vagues épidémiques <i>Faible taux d'incidence* ($\leq 10/10^5 \text{ hab}$) / Peu de cas admis à l'hôpital** Reff ≤ 1***</i>	Stabilité des indicateurs d'incidence Augmentation des indicateurs d'incidence****	Absence de SARS-CoV-2 ou niveau stable de la concentration	Cohérent : conforte la faible circulation	Pas de changement, poursuite de la surveillance Renforcement communication préventive, renforcement du dépistage, renforcement TAP, +/- mise en alerte des structures de soins
			Détection de SARS-CoV-2 ou augmentation de la concentration	Non convergeant : valider la variation, peut indiquer une reprise de la circulation	
			Absence de SARS-CoV-2 ou niveau stable de la concentration	Cohérent : peut indiquer une reprise de la circulation	
			Détection de SARS-CoV-2 ou augmentation de la concentration		
	Circulation virale modérée à élevée, phase ascendante d'une vague épidémique, atteinte d'un plateau, phase descendante <i>Taux d'incidence modéré à élevé* ($>20/10^5 \text{ hab}$) Nombre modéré à important de cas admis à l'hôpital** Reff > 1***</i>	Augmentation des indicateurs d'incidence****	Augmentation de la concentration	Cohérent : poursuite de l'accélération de la circulation virale – mesures de gestion insuffisantes ou non encore efficaces	Renforcement communication préventive, renforcement du dépistage, renforcement TAP, renforcement de l'application des mesures de distanciation physique et mesures barrières - Prévention des tensions hospitalières
Stabilisation de la concentration			Non convergeant : valider la variation, peut indiquer un ralentissement de la circulation – mesures de gestion efficaces	Pas de changement, poursuite des mesures mise en place	
Diminution de la concentration					

TABLEAU 4 I

Scénarios de surveillance dans les eaux usées et interprétation des résultats en fonction du niveau et de la vitesse de circulation du virus en population générale (objectifs principaux de la surveillance dans les eaux usées) (source : adapté de Medema [3]) - Suite 2/3

Points de surveillance eaux usées	Niveau et vitesse de circulation en population	Résultats des indicateurs de surveillance		Interprétation	Propositions de gestion
		Population (Sidep ou Sivic) Variation indicateurs S-1 / S-2	Eaux usées Variation indicateurs S-1 / S-2		
STEU Zone urbaine	Circulation virale modérée à élevée, phase ascendante d'une vague épidémique, atteinte d'un plateau, phase descendante	Stabilisation des indicateurs d'incidence****	Augmentation de la concentration	→ Non convergent : valider la variation, peut indiquer un rebond de la circulation – mesures de gestion pas suffisamment efficaces	→ Renforcement communication préventive, renforcement du dépistage, renforcement TAP, renforcement de l'application des mesures de distanciation physique et mesures barrières - Prévention des tensions hospitalières
			Stabilisation de la concentration	→ Cohérent : peut indiquer un ralentissement de la circulation – mesures de gestion efficaces	
			Diminution de la concentration	→ Non convergent : valider la variation peut indiquer un ralentissement de la circulation – mesures de gestion efficaces	
Prélèvement hebdomadaire	Taux d'incidence modéré à élevé* (>20/10 ⁵ hab.) Nombre modéré à important de cas admis à l'hôpital** Reff = 1***				→ Pas de changement, poursuite des mesures mise en place

TABLEAU 4 I

Scénarios de surveillance dans les eaux usées et interprétation des résultats en fonction du niveau et de la vitesse de circulation du virus en population générale (objectifs principaux de la surveillance dans les eaux usées) (source : adapté de Medema [3]) - Suite 3/3

Points de surveillance eaux usées	Niveau et vitesse de circulation en population	Résultats des indicateurs de surveillance		Interprétation	Propositions de gestion
		Population (Sidep ou Sivic) Variation indicateurs S-1 / S-2	Eaux usées Variation indicateurs S-1 / S-2		
STEU Zone urbaine	<p>Circulation virale modérée à élevée, phase ascendante d'une vague épidémique, atteinte d'un plateau, phase descendante</p> <p><i>Taux d'incidence modéré à élevé* (>20/10⁵ hab.)</i></p> <p><i>Nombre modéré à important de cas admis à l'hôpital**</i></p> <p><i>Reff < 1***</i></p>	<p>Diminution des indicateurs d'incidence****</p>	<p>Augmentation de la concentration</p>	<p>Non convergent : valider la variation, peut indiquer un rebond de la circulation – mesures de gestion pas suffisamment efficaces</p>	<p>➔ Renforcement communication préventive, renforcement du dépistage, renforcement TAP, renforcement de l'application des mesures de distanciation physique et mesures barrières - Prévention des tensions hospitalières</p>
Prélèvement hebdomadaire	<p>Stabilisation de la concentration</p> <p>Diminution de la concentration</p>		<p>Cohérent : peut indiquer un ralentissement de la circulation – mesures de gestion efficaces</p>		
Eaux usées sortie petite communauté de population supposée « zéro Covid-19 » (Ehpad, école, campus, etc.)	Absence de circulation	<p>Aucun cas signalé dans la communauté</p>	<p>SARS-CoV-2 dans les eaux usées non détecté</p>	<p>Cohérent</p>	<p>➔ Pas de changement, poursuite de la surveillance</p>
Prélèvement bihebdomadaire	<p>Détection de SARS-CoV-2 dans les eaux usées</p> <p>➔ Présence d'au moins une infection dans la communauté</p> <p>➔ Investigation dans la communauté : dépistage et recherche de cas</p> <p>➔ Renforcement des mesures de distanciation physique</p>				

* données Sidep ; ** données SIVIC ; ***sources : Oscour, Sidep, SIVIC ; **** l'incidence étant dépendante du taux de positivité et du taux de dépistage, les variations de cet indicateur doivent être interprété en fonction des stratégies de dépistage dans les populations ; TAP : tester alerter protéger

6. UNE APPROCHE PARTENARIALE

La mise en place de la surveillance du génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées pour l'action de santé publique nécessite une approche multidisciplinaire qui regroupe :

- des personnes chargées de la gestion et du traitement des eaux usées (opérateurs publics/privés) pour l'accès aux sites, la connaissance des réseaux d'eaux usées +/- la réalisation des prélèvements ;
- des personnes chargées des prélèvements, des analyses, de la validation et du rendu des résultats (bureaux d'études, laboratoires d'analyses) pour la surveillance en routine ;
- des personnes chargées de la surveillance épidémiologique à un niveau local et national (Santé publique France) pour la définition des objectifs de surveillance, la connaissance des données de surveillance en population et l'évaluation du dispositif ;
- des personnes chargées de l'expertise microbiologique (Anses, équipes de recherche, laboratoires d'analyse, CNR des virus respiratoires) pour définir les protocoles d'analyse, évaluer les méthodes ;
- des personnes chargées de faire progresser les connaissances (équipes de recherche) ;
- des personnes chargées de la gestion (agences régionales de santé, Direction générale de la santé, préfetures, collectivités) pour intégrer les résultats issus des mesures dans les eaux usées dans les décisions de gestion ;
- des financeurs : sur ce point, les coûts estimés s'élèveraient à 25 000 euros annuel par site de surveillance avec une fréquence de deux prélèvements par semaine [4].

En complément, les gestionnaires d'établissements (Établissements et services médico-sociaux - ESMS, campus, prison, etc.) devraient pouvoir bénéficier d'informations sur les intérêts et limites de la surveillance dans les eaux usées afin d'éclairer les mesures de gestion/surveillance dont ils sont responsables.

La réalisation de la surveillance nécessite la création de structures de coordination à une échelle nationale et locale afin de garantir l'application d'une stratégie d'échantillonnage, de protocole et techniques d'analyse et de rendu des résultats cohérents sur l'ensemble du territoire et compatibles avec les objectifs de santé publique. Ce type de structure est cohérent avec la recommandation de l'Union européenne 2021/472 qui « *encourage les États membres à mettre en place des structures adéquates associant les autorités sanitaires et les autorités compétentes dans le domaine des eaux usées dans le but de fusionner et relier l'ensemble des données pertinentes et de coordonner l'interprétation et la communication des résultats* » [23].

7. ÉVALUATION DU DISPOSITIF DE SURVEILLANCE

À ce stade de développement, la plus-value des résultats de la surveillance dans les eaux usées par rapports aux données de santé en terme de sensibilité de détection, de précocité de détection et de suivi des tendances nécessite d'être évaluée. Pour l'objectif qualitatif, une comparaison avec les données de santé (hospitalisations Sivic sur le bassin de collecte et cas Sidep sur le bassin de collecte) permettra de préciser le délai entre les changements observés dans les eaux usées et ceux observés dans les données de santé. Les délais nécessaires au rendu des résultats dans les eaux usées et à la mise à disposition des données de santé doivent être considérés dans cette analyse.

8. ASPECTS RÉGLEMENTAIRES

En cas de réalisation de recherches de génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées d'un secteur géographique resserré voire d'un établissement ou d'un immeuble pouvant relever du domaine privé, une attention devra être portée pour s'assurer du respect des critères d'anonymat de la Commission Nationale de l'Information et des Libertés (CNIL). Il sera notamment nécessaire de s'assurer de l'absence de corrélation avec un autre fichier qui permettrait par croisement d'identifier une personne. Par ailleurs, la diffusion très extensive des fichiers de résultats pourrait être interprétée comme pouvant porter atteinte à la vie privée des personnes concernées.

9. PRINCIPALES RECOMMANDATIONS

9.1 Pour la surveillance

Il semble nécessaire de recommander :

- De disposer d'une méthode d'analyse standardisée et harmonisée entre les laboratoires qui suivent différents sites de prélèvements ;
- D'utiliser un protocole de prélèvement standard et reproductible, d'une part pour les eaux prélevées en entrée de station de traitement des eaux usées et pour celles prélevées en amont dans le réseau d'eaux usées (collecteurs, sortie d'établissements d'intérêt) ;
- De disposer d'un protocole de déploiement de méthode pour pouvoir détecter rapidement sur l'ensemble du territoire la diffusion spatio-temporelle de variants émergents après identification par le CNR des virus respiratoires ;
- De disposer d'un référentiel d'interprétation analytique pour pouvoir juger de variations réelles entre deux prélèvements (diminution ou augmentation) en tenant compte de l'incertitude de la mesure liée au prélèvement et à l'analyse ;
- De disposer d'un tableau de bord centralisé des indicateurs standardisés et de cartographie de ces indicateurs.

9.2 Pour la recherche

Il peut être recommandé :

- De promouvoir des méthodes d'analyse et de séquençage des variants du SARS-CoV-2 dans les eaux usées en lien avec le CNR des virus respiratoires en vue de renforcer leur surveillance ;
- De promouvoir l'acquisition de connaissances sur les seuils de détection et quantification dans les eaux usées et les comparer aux données d'incidence en population générale ;
- De promouvoir l'acquisition de connaissances sur l'excrétion virale dans les selles ;
- De promouvoir l'acquisition de connaissances sur la relation entre la quantité d'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et le nombre de personnes infectées en population générale.

10. Références bibliographiques

1. World Health Organization. Expert consultation on public health needs related to surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater - Summary report 30 November 2020 [1-27]. Available from: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2021/expert-consultation-on-public-health-needs-related-to-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-virtual-meeting,-30-november-2020>.
2. Wurtzer S, Marechal V, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, et al. Evaluation of lockdown effect on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in waste water, Greater Paris, France, 5 March to 23 April 2020. Euro Surveill. 2020;25(50).
3. Medema G, Been F, Heijnen L, Petterson S. Implementation of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus to support public health decisions: Opportunities and challenges. Curr Opin Environ Sci Health. 2020;17:49-71.
4. European commission. Tracking COVID-19 employing waste waters: a reliable indicator for supporting the prevention and management of the pandemic - MEMO 2021 [Available from: <https://ec.europa.eu/environment/water/water-urbanwaste/info/pdf/Waste%20Waters%20and%20Covid%2019%20MEMO.pdf>].
5. Global Polio Eradication Initiative 2019-2024 [Available from: <https://polioeradication.org/who-we-are/polio-endgame-strategy-2019-2023/>].
6. Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, El Bassioni L, et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. J Infect Dis. 2014;210 Suppl 1:S294-303.
7. Zhang Y, Cen M, Hu M, Du L, Hu W, Kim JJ, et al. Prevalence and Persistent Shedding of Fecal SARS-CoV-2 RNA in Patients With COVID-19 Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. Clin Transl Gastroenterol. 2021;12(4):e00343.
8. The Water Research Foundation. Wastewater Surveillance of the COVID-19 Genetic Signal in Sewersheds - Recommendations from Global Experts Denver, USA2020 [1-27]. Available from: <https://www.waterrf.org/news/water-research-foundation-announces-new-covid-19-research-effort>.
9. World Health Organization. Status of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus - Scientific brief 7 august 2020 [1-4]. Available from: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/status-of-environmental-surveillance-for-sars-cov-2-virus>.
10. World Health Organization. Rapid expert consultation on environmental surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater - Summary report 23 July 2020 [1-19]. Available from: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2020/rapid-expert-consultation-on-environmental-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-2020>.
11. World Health Organization. Water, sanitation, hygiene, and waste management for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19 29 July 2020 [Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-IPC-WASH-2020.4>].
12. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. Sci Total Environ. 2020;728:138764.
13. Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Brouwer A. Presence of SARS-Coronavirus2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. Environ Sci technol Lett. 2020;7:511-6.
14. Centers for Disease Control and Prevention of the United States. Wastewater Surveillance - A new public health tool to understand COVID-19 spread in a community 2020 [Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/wastewater-surveillance.html>].

15. Luxembourg Institute of Science and Technology. Coronastep 2020 [Available from: <https://www.list.lu/fr/covid-19/coronastep/>].
16. RIVM - Institut national de la santé publique et de l'environnement néerlandais. Coronavirus monitoring in sewage research [Available from: <https://www.rivm.nl/en/covid-19/sewage>].
17. Water Research Australia. ColoSSoS : Collaboration on Sewage Surveillance of SARS-CoV-2 [Available from: <https://www.waterra.com.au/research/communities-of-interest/covid-19/>].
18. European commission. SARS-CoV-2 Surveillance employing Sewers EU Umbrella Study – Status Update 2020 [Available from: <https://ec.europa.eu/jrc/en/science-update/sars-cov-2-surveillance-employing-sewers-eu-umbrella-study-status-update>].
19. européenne C. Recommandation (UE) 2021/472 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 17 mars 2021 [Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32021H0472&from=FR>].
20. Réseau Obépine. [Available from: <https://www.reseau-obepine.fr/>].
21. Suez. Résurgence de l'épidémie Covid-19 : une nouvelle offre SUEZ pour détecter les marqueurs du virus SARS-COV-2 dans les réseaux d'eaux usées et anticiper les mesures sanitaires des collectivités [Available from: <https://www.suez.fr/fr-fr/actualites/covid-city-watch>].
22. Veolia. Avec Vigie-Covid-19, Veolia surveille la présence du SARS-CoV-2 dans les eaux usées [Available from: <https://www.veolia.com/fr/actualites/covid-19-detection-sars-cov2-eaux-usees>].
23. European commission. Recommandation (UE) 2021/472 on a common approach to establish a systematic surveillance of SARS-CoV-2 and its variants in wastewaters in the EU. 17 mars 2021 [Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32021H0472&from=FR>].
24. Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe*. 2021;2(1):e13-e22.
25. Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. 2020;369:m1443.
26. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-51.
27. Parasa S, Desai M, Thoguluva Chandrasekar V, Patel HK, Kennedy KF, Roesch T, et al. Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Fecal Viral Shedding in Patients With Coronavirus Disease 2019: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2020;3(6):e2011335.