



**HAL**  
open science

## La mémoire de l'eau usée, ou l'importance d'une aquathèque dans le suivi épidémique via les eaux usées

Clémentine Wallet, Ghina El Soufi, Jeanne van Assche, Thomas Loustau,  
Christian Schwartz, Olivier Rohr

### ► To cite this version:

Clémentine Wallet, Ghina El Soufi, Jeanne van Assche, Thomas Loustau, Christian Schwartz, et al.. La mémoire de l'eau usée, ou l'importance d'une aquathèque dans le suivi épidémique via les eaux usées. CNRIUT 2023 Saint Pierre - La Réunion, Jun 2023, Saint Pierre (La Réunion), France. hal-04364128

**HAL Id: hal-04364128**

**<https://hal.science/hal-04364128v1>**

Submitted on 26 Dec 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

---

# La mémoire de l'eau usée, ou l'importance d'une aquathèque dans le suivi épidémiologique via les eaux usées.

---

Clémentine Wallet<sup>1</sup> Ghina El Soufi<sup>1</sup> Jeanne Van Assche<sup>1</sup> Thomas Loustau<sup>1</sup>  
Christian Schwartz<sup>1</sup> Maud Villain-Gambier<sup>2</sup> Dominique Trebouet<sup>2</sup> Olivier Rohr<sup>1</sup>

[Clementine.wallet@unistra.fr](mailto:Clementine.wallet@unistra.fr) [ghina.elsoufi@unistra.fr](mailto:ghina.elsoufi@unistra.fr) [thomas.loustau@unistra.fr](mailto:thomas.loustau@unistra.fr)  
[schwartz.christian@unistra.fr](mailto:schwartz.christian@unistra.fr) [maud.villain@unistra.fr](mailto:maud.villain@unistra.fr) [dominique.trebouet@unistra.fr](mailto:dominique.trebouet@unistra.fr)  
[olivier.rohr@unistra.fr](mailto:olivier.rohr@unistra.fr)

<sup>1</sup> IUT Louis Pasteur, Université de Strasbourg  
Laboratoire Dynamique des Interactions Hôte/pathogène, UR7292

<sup>2</sup> IUT Louis Pasteur, Université de Strasbourg  
Laboratoire RePSeM, Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, UMR 7178

**Thèmes** – *Biologie - Santé* -

**Résumé** – *Les eaux usées domestiques récoltées en station d'épuration contiennent les selles et urines d'une population donnée et sont donc un précieux indicateur de la santé humaine. Pendant la crise du Covid19, le réseau national Obépine, que nous avons rejoint en 2020, a organisé le suivi de la quantification de Sars-Cov2 dans les eaux usées de près de 200 localités françaises. La pertinence de ce mode de suivi épidémiologique a conduit à la création d'une plateforme « eaux usées » sous la forme d'un consortium de laboratoires de recherches mais aussi de différents acteurs de la filière eaux usées. Cette plateforme a pour objectif de pouvoir réagir rapidement en cas de nouvelle émergence virale. Elle se construit autour de zones ateliers, adossées à un ou plusieurs laboratoires de recherche pour répondre à différentes problématiques. C'est aussi l'occasion de construire une aquathèque, répertoriant une collection nationale d'échantillons d'eaux usées, dans l'optique d'études rétrospectives sur les émergences, mais dont le but sera aussi de conserver un historique de l'état de santé d'une population donnée. La richesse de cette aquathèque donnera ainsi accès à une mine d'informations scientifiques qui permettront probablement de nombreuses études futures.*

**Mots-Clés** – *Eaux usées, épidémiologie, virus, aquathèque.*

## 1 Introduction : A la recherche de virus dans les eaux usées

Les eaux usées domestiques collectées dans les stations d'épurations contiennent l'ensemble des selles et des urines d'une population donnée. Ces effluents présentent des marqueurs biologiques et chimiques constituant une source d'informations précieuses quant à la santé de cette population. De fait, l'épidémiologie basée sur les eaux usées (Wastewater Based Epidemiology) est une approche importante pour étudier différentes thématiques sanitaires comme l'antibiorésistance, la consommation de drogues ou de médicaments, et enfin, les infections virales et bactériennes. Dans le cadre du suivi épidémiologique viral, cette approche permet de suivre l'intégralité d'une population sans dépendre des tests de dépistage individuels. Ces tests sont en effet sous-représentatifs, du fait de la présence de patients asymptomatiques et de patients ne se faisant pas tester. La crise du COVID19 a permis de constituer une preuve de concept de l'intérêt du suivi de la quantité de virus dans les eaux usées en tant qu'indicateur épidémiologique. En effet le virus du Sars-Cov2 est répliqué en grandes quantités dans les intestins, et se retrouve dans les selles humaines [1]. Dès le mois de mars 2020 une étude néerlandaise a montré que le virus du Sars-Cov2 était détectable dans les eaux usées d'un aéroport [2]. Ce principe d'étude avait déjà été mis en place pour d'autres virus comme les norovirus, ou le polyovirus [3]. En 2020 notre laboratoire a mis en place un protocole de quantification du Sars-Cov2 dans les eaux usées. Ce protocole repose sur la quantification de génome viral par RT-qPCR. Nous avons ainsi intégré le réseau Obépine qui a assuré le suivi hebdomadaire du Sars-Cov2 en France de septembre 2020 à avril 2022 [4]. Le suivi est encore assuré sur quelques stations, notamment les stations Alsaciennes que nous quantifions au laboratoire. L'indicateur eau usée a été élaboré à l'aide d'un modèle mathématique permettant de corriger la quantité de virus mesurée à la pluviométrie, ainsi qu'à différents indicateurs de la proportion de fèces dans les eaux usées. Ces données montrent ainsi l'apparition de pic de virus dans les eaux usées 15 jours avant le pic d'hospitalisation (Figure1).

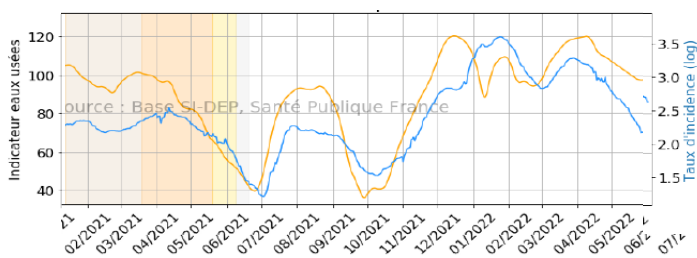


Figure 1 – Indicateur de présence de Sars-Cov2 dans les eaux usées de Weyersheim (département 67) (en orange) et taux d'incidence dans le département 67 (en bleu) au cours du temps.

Des enquêtes flash ainsi que des recherches rétrospectives ont également montré que la détection précoce de variants est possible dans les eaux usées par PCR ou par séquençage [5], [6]. L'épidémie de COVID19 a mis en lumière la pertinence et l'importance de l'analyse des eaux usées en épidémiologie dans le cas de nouveaux virus infectant l'homme. Mais cela montre aussi la pertinence de cette approche pour le suivi de l'émergence saisonnière d'autres virus bien connus (grippe, dengue, norovirus, virus de l'hépatite E, VIH, etc.). De fait, le suivi épidémiologique dans les eaux usées doit être structuré et organisé à l'échelle du territoire afin de répondre rapidement à des problématiques de santé publique. Une recommandation européenne en ce sens a d'ailleurs été publiée dans le journal officiel de l'Union Européenne [7]. C'est pourquoi un projet de plateforme française « eaux usées » est en train de voir le jour.

## 2 La mise en place de zones ateliers pour l'étude virologique des eaux usées

L'objectif de la plateforme nationale « eaux usées » est de pouvoir mettre en place très rapidement un suivi en cas de nouvelle émergence sur le territoire français métropolitain mais aussi en Outre-mer. Cette plateforme eaux usées permettra de réunir plusieurs laboratoires spécialisés dans la virologie des eaux usées, des spécialistes du séquençage, mais aussi les différents acteurs de la filière eau usée afin de pouvoir mobiliser rapidement le réseau. Dans ce cadre, des zones ateliers réparties sur le territoire, chacune adossée à un ou plusieurs laboratoires de recherche sont essentielles pour acquérir de nouvelles connaissances ou améliorer des protocoles. De plus, la diversité de la localisation mais aussi du type d'effluents étudiés dans les zones ateliers permettront d'apporter une richesse supplémentaire dans l'étude des mécanismes d'émergence virale. Les zones ateliers permettront ainsi de mettre rapidement au point les protocoles d'analyses, et de normalisation pour chaque pathogène ou famille de pathogènes.

Notre laboratoire de recherche est idéalement situé dans l'IUT Louis Pasteur, et voisin du Syndicat Des Eaux et de l'Assainissement Alsace-Moselle (SDEA) responsable des stations d'épurations alsacienne que nous suivons. Cette position stratégique apporte un avantage pour la constitution d'une zone atelier Grand-Est. En plus de notre laboratoire, celle-ci se compose de du Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour les Matériaux et l'Environnement (LCPME) situé à Nancy, et spécialiste de la virologie dans les eaux usées. Nous travaillerons avec différentes structures dans l'optique d'acquérir des échantillons informatifs. Des collecteurs vont être ajoutés à la sortie de l'hôpital de Strasbourg. Les eaux usées provenant principalement des effluents des malades ne seront pas diluées avec des effluents industriels ou

agricoles. La relation entre le nombre de malade et la quantité de virus retrouvée dans les eaux sera donc plus directe et permettra d'apporter des informations supplémentaires sur la normalisation à effectuer pour mettre en relation la quantité de virus trouvée dans les eaux usées et le nombre de malades. Cette normalisation dépend sans doute de chaque virus, et la présence constante de collecteur permettra de donner rapidement des informations en cas de nouvelle infection. Un autre collecteur sera installé à la sortie de l'IUT Louis Pasteur. Comme nous relevons la présence de nos étudiants chaque jour, nous aurons des informations plus précises pour la normalisation, et nous pourrions effectuer un suivi constant de l'émergence. Enfin, la présence d'un collecteur à la sortie d'un abattoir à Nancy permettra de suivre l'émergence virale chez les animaux et pouvoir mesurer sa relation avec l'émergence chez l'homme.

La constitution des zones ateliers permettra de prélever des échantillons précieux sur toute la France afin de constituer une collection sous forme d'une aquathèque nationale « eaux usées » (Figure 2).

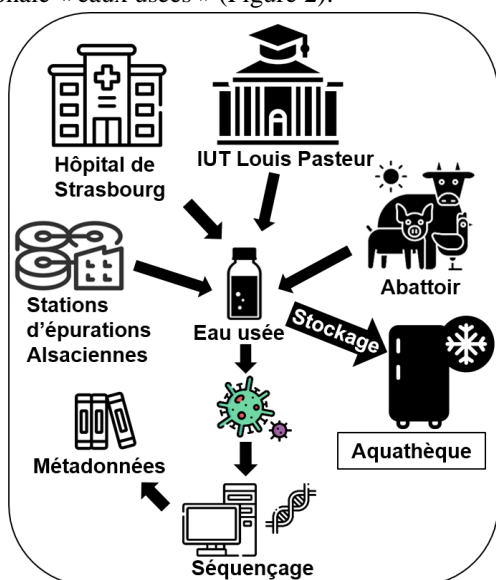


Figure 2 – Organisation d'une zone atelier et de l'aquathèque

### 3 Garder une mémoire des eaux usées : la construction d'une aquathèque nationale

La constitution d'une collection d'échantillons d'eaux usées sous forme d'aquathèques est indissociable des zones ateliers. Ces banques n'existent pas à l'échelle nationale et permettraient d'effectuer des études rétrospectives, mais aussi de garder une mémoire de la population d'organismes présents dans le cas où les techniques de concentration et de séquençage s'amélioreraient dans le futur. Cette aquathèque garderait en quelque sorte une mémoire de l'état de santé d'une population à différents moments. Le moyen de conservation privilégié des eaux usées pour l'étude des virus est sous forme congelée à  $-80^{\circ}\text{C}$ , à la manière des

échantillons biologiques provenant de tissus animaux et végétaux. Cette aquathèque formera une collection singulière, à l'instar des grandes bio-collections constituées d'échantillons provenant de patients. Les aquathèques seront localisées à proximité de chaque zone atelier pour faciliter le traitement et la conservation des échantillons. Etant donné la dilution des virus présents dans ces eaux usées, le volume conservé sera de l'ordre des centaines de mL et même du Litre, ce qui est bien plus important que les échantillons biologiques provenant de prélèvements de sang (quelques mL). Cela implique un dimensionnement important du matériel de stockage (congélateurs et contenants) qui devra donc être pensé en conséquence et homogénéisé sur le plan national. De plus, le mode de conditionnement, c'est-à-dire la dimension et le nombre des aliquots, devra être adapté aux protocoles d'extraction et d'analyse des eaux usées. Afin de pouvoir être utilisé de façon optimale, les informations permettant de caractériser l'échantillon telles des données de prélèvement, des données physico-chimiques (pH, turbimétrie, DCO...) mais aussi des données biologiques (qPCR, séquençage,...) seront centralisées sur un fichier national sécurisé.

Les métadonnées, et les échantillons conservés seront à disposition de la communauté scientifique. La diversité et la représentativité des échantillons apporteront une grande richesse à l'aquathèque ce qui permettra probablement de nombreuses études scientifiques à venir.

- [1] Y. Wu *et al.*, "Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples," *lancet. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 5, no. 5, pp. 434–435, May 2020.
- [2] G. Medema, L. Heijnen, G. Elsinga, R. Italiaander, and A. Brouwer, "Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands," *Environ. Sci. Technol. Lett.*, vol. 7, no. 7, pp. 511–516, Jul. 2020.
- [3] W. Ahmed *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.*, vol. 728, p. 138764, Aug. 2020.
- [4] <https://www.reseau-obepine.fr/donnees-ouvertes/>
- [5] S. Wurtzer *et al.*, "Monitoring the propagation of SARS CoV2 variants by tracking identified mutation in wastewater using specific RT-qPCR," Jun. 2021.
- [6] L. Barbé *et al.*, "SARS-CoV-2 Whole-Genome Sequencing Using Oxford Nanopore Technology for Variant Monitoring in Wastewaters," *Front. Microbiol.*, vol. 13, Jun. 2022.
- [7] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021H0472&from=EN>