

Coalition canadienne pour la recherche sur la COVID-19 basée sur les eaux usées

Principes de conception et protocoles pour un projet pilote valide visant à vérifier une hypothèse : la surveillance des eaux usées communautaires ou institutionnelles pour y détecter le SRAS-CoV-2 et compléter les données cliniques sur la prévalence de l'infection.

Contexte du projet pilote

Avant que ne survienne une deuxième ou troisième vague d'infection par la COVID-19 au Canada, il est urgent de faciliter et de coordonner des initiatives qui favorisent la reprise économique tout en réalisant une surveillance communautaire ou institutionnelle ciblée. Les tests pour détecter la présence du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées peuvent fournir un indicateur composite et intégré de la prévalence de l'infection par la COVID-19 plusieurs jours avant de tester des patients malades.

Il a déjà été démontré que l'épidémiologie virale basée sur les eaux usées (EVBEU) fournit de l'information pour assurer la surveillance des infections à poliovirus (Hovi et coll., 2012; Lago et coll., 2003). Daughton (2020) a brièvement exposé l'application possible de l'EBVEU pour le SRAS-CoV-2. Récemment, plusieurs études génératrices d'hypothèses ont été publiées (Ahmed et coll., 2020; Medema et coll., 2020; Nemudryi et coll., 2020; Randazzo et coll., 2020; Wu et coll., 2020) pour soutenir **l'hypothèse selon laquelle la surveillance des eaux usées peut fournir un indicateur économique et rapide de l'infection par la COVID-19 dans une communauté ou dans une institution**. Les Pays-Bas, l'Allemagne et la Finlande ont entrepris des programmes nationaux de surveillance communautaire en vérifiant la présence du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées.

Le présent protocole a été structuré dans le cadre stratégique de la [Coalition canadienne pour la recherche sur la COVID-19 basée sur les eaux usées](#) (Coalition eaux usées COVID-19). À ce titre, le but ultime des travaux est de contribuer à l'objectif global d'évaluation de la capacité de l'EVBEU à étayer les questions clés auxquelles sont confrontés les décideurs en matière de santé publique. Une première étape cruciale dans la vérification de l'hypothèse susmentionnée consiste à établir un protocole valide d'échantillonnage et d'analyse des eaux usées qui sera suivi par les participants à l'étude pilote, de même que par d'autres chercheurs souhaitant que leurs résultats soient pris en compte et comparés à ceux du pilote.

Principes de conception du projet pilote de la Coalition eaux usées COVID-19

En préambule voici un résumé des huit principes de conception pour l'étude pilote de la Coalition eaux usées COVID-19. Ils fournissent le cadre pour le protocole méthodologique de cette étude. Ces huit principes de conception s'inspirent des principes directeurs pour les programmes

d'échantillonnage des eaux usées établis par la Water Research Foundation (WRF, 2020) – voir l'encadré 1.

Encadré 1. Principes directeurs pour les programmes d'échantillonnage des eaux usées (WRF, 2020)

Résumé tiré de la séance de clôture du Sommet virtuel de la WRF sur la surveillance environnementale de la COVID-19 dans les bassins d'égouts : [Closing Session of the Virtual International Water Research Summit on Environmental Surveillance of COVID-19 Indicators in Sewersheds \(30 avril 2020\)](#)

- Postulat de base : station d'épuration des eaux usées (SEEU) centralisée
- Pour comparer les données, il faut une certaine uniformité en matière de pratiques et de documentation/métadonnées
- Les recommandations sont adaptables et modifiables pour répondre au mieux aux besoins
- L'intention n'est PAS d'entraver les activités des services publics pendant une pandémie
- Il faut trouver un équilibre entre les objectifs de l'étude et les considérations pratiques : ressources, capacité des opérateurs, espace de stockage des congélateurs, budget
- Certaines des meilleures pratiques pour la collecte d'échantillons s'appliquent à tous les cas, tandis que d'autres sont propres à certains cas seulement
- Il faut tenir compte de la sécurité des travailleurs dans les directives d'échantillonnage et de préparation des échantillons
- La validation du concept vise à soutenir la pratique et la recherche en rendant possible l'acquisition de nouvelles connaissances

Faisant fond sur le Sommet 2020 de la WRF et sur les travaux d'autres groupes internationaux, et compte tenu des besoins du Canada de faire avancer ce dossier important, la Coalition eaux usées COVID-19 du Réseau canadien de l'eau a élaboré pour l'étude pilote les principes de conception énumérés ci-après. Dans la section qui suit, chacun des principes est développé. En fin de document se trouvent les références citées, précédées des définitions des termes utilisés dans le présent texte.

Les huit principes guidant la conception de l'étude pilote de la Coalition eaux usées COVID-19

- 1. Définir clairement les objectifs du programme pilote de surveillance**
- 2. Obtenir rapidement la validation et l'adoption d'un protocole d'échantillonnage canadien cohérent**
- 3. Confirmer la validité des analyses du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées**
- 4. Assurer le potentiel de généralisabilité en comprenant parfaitement ce que les échantillons représentent**
- 5. Maximiser la valeur des résultats grâce à la conception stratégique du projet pilote**

6. Maximiser le potentiel de collaboration productive avec les services publics d'eaux usées
7. Maximiser la collaboration, la coopération et l'échange des connaissances
8. Tenir compte de l'utilisation finale et de l'éthique de l'utilisation des données dans le processus décisionnel en santé publique

Exposé des raisons et des considérations relatives aux principes de conception pour l'élaboration des protocoles de l'étude pilote

1. Définir clairement les objectifs du programme pilote de surveillance

Identifier des tendances significatives dans l'occurrence du signal du SRAS-CoV-2 dans le réseau d'égouts récepteur (le bassin d'égouts).

Où pourrait mener cet objectif? Parmi les nombreuses possibilités de dégager des éléments probants utiles (c.-à-d. qui permettront d'orienter la prise de décisions en matière de santé publique) de la surveillance efficace et fiable des eaux usées communautaires ou institutionnelles pour y détecter la présence de SRAS-CoV-2, il existe celle très intéressante d'identifier des tendances significatives dans l'occurrence du signal du SRAS-CoV-2 dans le réseau d'égouts récepteur (Daughton, 2020). Si cet objectif peut être atteint de façon fiable dans une communauté, les développements logiques de ces preuves pourraient être les suivants :

- On pourrait établir des corrélations entre les tendances temporelles mesurées dans les eaux usées d'une communauté et les résultats communautaires du dépistage collectif clinique des individus pour l'infection à la COVID-19, pour lequel le fardeau d'échantillonnage et d'analyse est comparativement modeste, pour finalement déterminer la valeur prédictive des tendances observées dans la charge virale communautaire des eaux usées que pourront utiliser les décideurs en matière de santé publique. **Pour atteindre cet objectif, il faudra une méthodologie d'échantillonnage et d'analyse pleinement validée ainsi qu'une analyse minutieuse des données pour s'assurer que les données cliniques couvrent le même bassin que le bassin d'égouts soumis à la surveillance.**
- Lorsque les objectifs principaux qui précèdent auront été atteints, il sera possible de dégager des preuves plus fines et instructives sur les taux d'infection à la COVID-19 dans une communauté ou une institution à partir de la surveillance des eaux usées, mais il faudra d'abord comprendre les recherches publiées à propos de l'ampleur et de la durée de l'excrétion virale des individus asymptomatiques, symptomatiques et guéris de la COVID-19, ainsi qu'au sujet de la persistance des indicateurs du virus SRAS-CoV-2 dans les réseaux d'égouts et de divers autres facteurs propres aux sites.

Les recherches en cours dans d'autres lieux peuvent contribuer à évaluer le potentiel de développement de telles perspectives.

2. Obtenir rapidement la validation et l'adoption d'un protocole d'échantillonnage canadien cohérent

Pour réaliser l'objectif du programme, il faut élaborer et tester rapidement un protocole d'échantillonnage des eaux usées visant à maximiser l'estimation précise, sensible et reproductible de l'évolution du titre viral du SRAS-CoV-2 dans le réseau d'égouts surveillé.

Le protocole devrait permettre la généralisabilité (principe de conception n° 4) et faciliter une collaboration maximale de la part des services publics d'eaux usées (principe de conception n° 6). La validité de l'échantillonnage va dépendre d'un bon nombre de facteurs.

- Intuitivement, le meilleur endroit de collecte d'échantillons dans une station d'épuration des eaux usées (SEEU) sera l'endroit actuel d'échantillonnage des eaux usées brutes entrant dans la station, afin d'éviter que les activités de traitement des eaux usées affectent les concentrations du virus. Toutefois, cette intuition devrait faire l'objet de vérification, si les ressources disponibles pour l'échantillonnage et l'analyse le permettent (Gundy et coll., 2009).
- Le type d'échantillon devrait être constitué si possible d'échantillons composites (avec une fréquence connue), pris à des intervalles de temps fixes au cours d'une période de 24 heures ou en fonction des augmentations du flux constant, avec une incidence minimale sur les protocoles existants d'échantillonnage des eaux usées brutes. Dans certaines situations, la prise d'échantillons instantanés simples pourrait être justifiée, mais conceptuellement, pour cette étude pilote initiale, **les échantillons composites sont nettement préférés**. Les questions concernant la stabilité du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées au fil du temps n'ont pas encore fait l'objet de tests approfondis. Pour cette étude pilote, bien que dans certaines situations il soit plus facile de recueillir des échantillons instantanés, leur collecte exigera plus de travail de la part du personnel de la station d'épuration (à moins qu'il y ait des ressources pour des échantillonneurs automatiques dédiés) que de fournir une aliquote quotidienne provenant d'un échantillonneur composite couramment utilisé pour orienter les activités de la station. Puisque des registres de flux devraient être disponibles, une certaine interprétation des échantillonneurs composites à intervalles de temps fixes peut être faite, si nécessaire, pour les comparer à d'autres sites utilisant des échantillonneurs composites intégrés au flux.
- L'utilisation d'un échantillonneur composite réfrigéré est nettement préférable et devrait être envisagée comme un investissement intéressant pour un programme de surveillance continue si ce n'est pas déjà en place.

- Pour normaliser les données, on devrait inclure l'ajout de témoins connus – p. ex., un test pour un indicateur naturel de pollution fécale constamment présent en abondance et pertinent pour le virus enveloppé du SRAS-CoV-2, comme le virus de la marbrure bénigne du piment (*pepper mild mottled virus* – PMMoV), un virus végétal enveloppé à ARN qui est largement utilisé comme indicateur d'eaux usées (Kitajima et coll., 2018) – et l'ajout de titres connus de la souche de coronavirus 229E (α -CoV) ou OC43 (β -CoV) causant le rhume saisonnier pour étudier la question du transport et de la récupération de la méthode – voir l'aspect de contrôle et d'assurance de la qualité au principe n° 3 ci-après.
- Le traitement des échantillons doit tenir compte de la présence de matières solides dans les échantillons. Les particules virales seront associées aux solides, ce qui signifie que l'on peut s'attendre à ce que les concentrations virales mesurées varient en fonction de la teneur en matières solides. Il faudra dès que possible évaluer et normaliser les effets quantitatifs de différentes façons de traiter les échantillons pour en retirer les matières solides. Par exemple, on sait qu'un simple ajustement du pH (au pH 10,5) peut fournir les conditions propices à la dispersion des virions adsorbés à la surface des matières solides et préserver l'intégrité de l'échantillon (Conceição-Neto et coll., 2015; Ye et coll., 2016), toutefois les effets de cet ajustement du pH sur le SRAS-CoV-2 ne sont pas connus.
- Le mouvement des matières solides dans un réseau d'égouts est différent du mouvement des liquides; les temps de rétention des solides sont donc plus longs. Dans les égouts, les matières solides se déposent et reviennent en suspension selon le flux qui y circule. Les pluies peuvent entraîner une augmentation soudaine des charges solides à l'entrée de la station d'épuration des eaux usées et apporter des virus qui étaient entrés bien avant dans le réseau d'égouts. Même en temps sec, la dynamique du flux induit des changements dans la dynamique du transport des matières solides et affecte le temps de rétention dans l'égout, ce qui peut avoir une incidence sur la charge et la concentration des marqueurs génétiques.
- Il importe d'assurer la stabilisation des échantillons, ce qui se fait habituellement en veillant à conserver les échantillons à une température aussi basse que possible en les réfrigérant ou en utilisant des blocs-glace. Il peut être très utile d'archiver des échantillons pour diverses raisons, comme la contre-vérification des résultats et la validation de nouvelles connaissances. On s'attend actuellement à ce que le stockage des échantillons pendant plus d'une journée nécessite une congélation à -20°C , de préférence à -80°C si possible. Les cycles répétés de décongélation et de congélation doivent être évités (Gundy et coll., 2009).

- Il faudra veiller à ce que les échantillons ne puissent pas être contaminés par le SRAS-CoV-2 par des procédés ou des personnes participant au prélèvement ou à la manipulation de l'échantillon.

3. Confirmer la validité des analyses des eaux usées pour le SRAS-CoV-2

Pour atteindre l'objectif du programme, il faut démontrer que le protocole d'analyse des échantillons d'eaux usées fournit également une représentation précise et reproductible de l'évolution du titre viral du SRAS-CoV-2 ou de la tendance temporelle du titre viral dans le réseau d'égouts surveillé.

Pour y parvenir, il faut déterminer tous les effets négatifs importants qu'il pourrait y avoir sur l'analyse, comme ceux découlant du traitement et du stockage des échantillons, et de l'inhibition du signal causée par les matrices d'échantillons d'eaux usées. Nous recommandons les principes d'échantillonnage suivants :

- Une démarche d'assurance qualité fondamentale qu'il faut privilégier dans toute la mesure du possible est la validation par essais inter-laboratoires (essais circulaires) par le plus grand nombre possible de laboratoires compétents.
- On devrait avoir recours à un unique laboratoire de référence pour coordonner les essais circulaires afin de faciliter la comparaison des résultats des laboratoires, améliorer les performances des laboratoires et soutenir la conception des études, y compris un projet pilote national.
- Pour satisfaire aux objectifs du programme, il faudra être en mesure de démontrer et vérifier la très grande spécificité et sensibilité de l'analyse. Les méthodes d'analyse qui tentent de mesurer des fragments viraux à l'état de traces dans une matrice complexe comme les eaux usées peuvent donner lieu à des niveaux élevés de faux négatifs, et des faux positifs peuvent être générés par la contamination lors de la manipulation sur le terrain ou en laboratoire. Pour ces raisons, des contrôles appropriés doivent être appliqués.
- Étant donné la complexité de la matrice et le potentiel d'amplification imprévue résultant de la PCR (surtout avec des protocoles simplifiés), il faudrait tester aléatoirement un certain nombre de résultats positifs par séquençage haut débit. Cela réduira la dépendance aux blancs de terrain négatifs locaux appropriés qui peuvent être limités en fonction des ressources locales.
- Le contrôle ou l'assurance de la qualité (CQ/AQ) exige l'examen des faux négatifs et des faux positifs en utilisant des normes internes et externes pour vérifier la récupération du SRAS-CoV-2 et des blancs de terrain afin de s'assurer de l'absence de contamination externe, principalement due à toute exposition à des concentrations

- élevées et possiblement à du personnel infecté par la COVID-19. Idéalement, on devrait utiliser une série de blancs de terrain et de témoins d'ajouts connus pour chaque échantillon afin d'évaluer dans son ensemble la manipulation de l'échantillon, l'efficacité de l'extraction (incluant la préparation et la filtration de l'échantillon) et la préservation. Bien que les publications scientifiques font état de l'utilisation de plusieurs normes différentes, le meilleur procédé de contrôle par ajout connu pour un virus enveloppé demeure à déterminer.
- Idéalement, on devrait valider la matrice par ajout d'échantillon connu afin d'évaluer l'efficacité globale du test et de la manipulation de l'échantillon, incluant la filtration. Le procédé par ajout connu devrait être fait pour chaque nouveau site d'essai. Le meilleur procédé de contrôle par ajout connu pour un virus enveloppé reste toutefois à déterminer. En raison de la complexité de la matrice et du potentiel d'amplification imprévue de la méthode PCR (surtout dans le cas des protocoles simplifiés), à des fins de vérification il faudrait tester aléatoirement un certain nombre de résultats positifs par séquençage haut débit. L'utilisation de blancs de terrain négatifs locaux appropriés peut être limitée par la capacité du personnel des stations d'épuration à assumer des tâches supplémentaires.
 - Il existe un certain nombre de causes potentielles d'obtention de faux négatifs avec la RT-qPCR, notamment la faible récupération de virus due à une technique inadéquate, la dégradation de l'échantillon, l'interférence de la matrice avec la récupération de l'ARN et l'inhibition des réactifs de la PCR. Le dopage d'échantillons avec quelque chose comme de l'ADN de sperme de saumon peut être utilisé pour détecter l'inhibition.
 - Ahmed et coll. (2020), Lodder et de Roda Husman (2020), Medema et coll. (2020) et Wu et coll. (2020) ont tous démontré la capacité de détecter le SRAS-CoV-2 dans les eaux usées dans des communautés qui avaient un nombre négligeable de cas de COVID-19 confirmés en laboratoire. Il est prouvé que les patients rétablis de la COVID-19 continuent également à excréter le virus même lorsque les tests faits à partir d'expectorations et d'écouvillons nasaux donnent des résultats négatifs (Ali et coll., 2020; Cheung et coll., 2020; Xu et coll., 2020). De plus, des eaux usées brutes donnent des résultats positifs par la méthode RT-PCR, alors que les résultats de la RT-PCR et des cultures sont négatifs lorsqu'il s'agit d'eaux usées désinfectées (Wang et coll., 2020).
 - Il faudra quantifier l'incertitude dans l'estimation de la concentration du SRAS-CoV-2 et la variabilité de la limite de détection pour l'évaluation quantitative du risque microbien (EQRM) et pour déterminer quand un changement de tendance réel peut

être détecté (par rapport à l'estimation des personnes infectées contribuant aux eaux usées).

- Des modèles stochastiques, utilisant des données publiées en Chine, en Europe et aux États-Unis sur la variabilité de l'excrétion humaine du SRAS-CoV-2 (c'est-à-dire la concentration, la durée d'excrétion ainsi que la fraction des individus infectés qui ont le virus dans leurs selles) peuvent être développés pour travailler à rebours à partir des données de santé publique sur la prévalence afin de fournir des limites critiques dans les eaux usées, ainsi que l'inverse, à partir des estimations des titres de virus surveillés dans les eaux usées pour estimer la prévalence dans la population, incluant l'incertitude de cette estimation.

4. Assurer le potentiel de généralisabilité en comprenant parfaitement ce que les échantillons représentent

Pour atteindre l'objectif du programme, il faut pouvoir généraliser les résultats obtenus et les tendances cernées pour représenter de façon exacte et reproductible le système ou réseau qui fait l'objet de l'échantillonnage.

Il convient d'examiner attentivement le lieu de prélèvement de l'échantillon, ainsi que les incidences de la méthode d'échantillonnage, pour que les résultats de l'échantillon représentent avec exactitude les informations recherchées. L'objectif initial est de détecter les tendances du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées qui peuvent être liées aux tendances de la prévalence de l'infection par la COVID-19 dans la communauté.

- L'examen comparatif des tendances temporelles des eaux usées entre communautés par rapport à leurs tendances temporelles respectives dans les résultats de l'échantillon clinique agrégé doit tenir compte des différences inévitables dans les réseaux d'égouts communautaires respectifs (p. ex., la proportion d'égouts unitaires et la dilution du flux par temps de pluie, le flux entrant et l'infiltration, la plage des temps de parcours entre la source d'eaux usées et la station d'épuration, la variabilité dans les charges d'excrétion par individu infecté et la dispersion du SRAS-CoV-2 dans la matrice d'eaux usées, l'impact de la température de l'eau sur le taux de décroissance du signal pendant le transport dans les égouts, les caractéristiques démographiques et les taux variables d'excrétion virale). Compte tenu de toutes ces complications, les attentes en matière de comparaisons intercommunautaires doivent être réalistes, même si les tendances au sein des réseaux peuvent être très instructives.
- Il importera de recueillir de très bonnes métadonnées sur les échantillons (flux, solides totaux en suspension, pH, indicateurs de dilution, etc.) sur les conditions de

terrain et les conditions de l'échantillon. En outre, ces métadonnées devraient inclure des variables descriptives du bassin d'égouts.

5. Maximiser la valeur des résultats grâce à la conception stratégique du projet pilote

La valeur de l'information que l'on peut générer à partir de la surveillance du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées communautaires ou institutionnelles sera mieux démontrée par la sélection de sites du programme pilote qui conceptuellement peuvent présenter des différences significatives dans l'occurrence du SRAS-CoV-2 qui sont utiles pour informer la prise de décision en matière de santé publique.

- Il faut identifier et sélectionner des communautés ou des institutions de grande ou moyenne taille qui présentent de grandes différences dans les taux d'infection communautaire à la COVID-19, d'après les résultats agrégés de la surveillance clinique individuelle, afin de maximiser la plage potentielle des résultats des eaux usées et donc de maximiser les possibilités de trouver une corrélation significative entre les taux d'infection, la maladie et la charge virale des eaux usées (en tenant compte des caractéristiques du réseau d'égouts).
- Il faut identifier les sites d'étude de cas viables où sont survenues des éclosions dont l'étiologie est connue ou fortement suspectée, pour déterminer s'il est possible d'assurer une alerte précoce dans d'autres sites à haut risque d'éclosion, et pour faire le suivi des vagues secondaires plus susceptibles d'être associées à une transmission communautaire.
- Il serait instructif de prélever des échantillons dans une communauté ou une institution au tout début d'une éclosion (sachant qu'il sera difficile de l'identifier assez tôt) ou lorsqu'elle se résout pour établir les tendances temporelles et les délais prévus au fur et à mesure que l'on contrôle l'éclosion.

6. Maximiser le potentiel de collaboration productive avec les services publics d'eaux usées

Le plein potentiel de la surveillance des eaux usées au service de la prise de décision en matière de santé publique ne sera réalisé que si les responsables des programmes de surveillance comprennent les besoins, les contraintes et les préoccupations de ceux qui exploitent les services des eaux usées partenaires.

- La fourniture d'échantillons devrait, dans toute la mesure du possible, s'inscrire dans le cadre des programmes d'échantillonnage normaux des services publics d'eaux usées et viser à minimiser la nécessité d'une manipulation supplémentaire d'échantillons par leur personnel.
- Les services publics de traitement des eaux usées doivent à juste titre se préoccuper des exigences imposées à leur personnel et veiller à leur sécurité. Par exemple, il est

moins dérangent de fournir des aliquotes provenant des échantillons composites de routine du service public que d'exiger la collecte d'échantillons instantanés supplémentaires ou de superviser du personnel extérieur venu pour recueillir de tels échantillons.

- La compréhension de la nature d'un réseau d'égouts doit reposer sur la collecte auprès du service public des eaux usées des informations pertinentes concernant la configuration et la fonction des éléments du réseau (stockage, stations de pompage, etc.).

7. Maximiser la collaboration, la coopération et l'échange de connaissances

L'impact mondial de la pandémie de COVID-19 a suscité un effort scientifique international sans précédent visant l'application de la recherche afin de relever les défis de santé publique afférents. C'est en maximisant l'apprentissage de ce que d'autres font au Canada et dans le monde dans toutes les disciplines pertinentes que l'on pourra optimiser l'utilisation de la recherche dans ce domaine pour éclairer la prise de décision en matière de santé publique.

- Les Pays-Bas, la France, l'Angleterre, l'Espagne, l'Australie, l'Allemagne, la Finlande, l'Union européenne et les États-Unis ont déjà entrepris des études sur l'utilité de la surveillance du SRAS-CoV-2 dans les eaux usées communautaires, et d'autres pays envisagent de faire de même. Les chercheurs canadiens peuvent certainement tirer grandement profit de l'expérience de ces efforts de recherche novateurs.
- Pour les décideurs canadiens en matière santé publique, les retombées positives des efforts déployés par le Canada pour mettre en œuvre la surveillance des eaux usées pour le SRAS-CoV-2 seront optimisées en garantissant les meilleures pratiques, dans tous les aspects susmentionnés. La capacité essentielle à comparer les résultats entre différents endroits dans les provinces et dans l'ensemble du Canada est une composante cruciale de l'approche de l'étude pilote; elle dépendra de l'obtention de méthodes comparables pour cette surveillance.

8. Tenir compte de l'utilisation finale et de l'éthique de l'utilisation des données dans le processus décisionnel en santé publique

L'objectif final d'informer le processus décisionnel en santé publique requiert des décideurs qu'ils participent activement à la planification et à la mise en œuvre de l'étude. Il convient de tenir pleinement compte, dès le départ, de la façon dont les données de surveillance des eaux usées sont susceptibles d'être diffusées et utilisées. Cela entraînera inévitablement des considérations d'ordre éthique concernant la collecte, la disponibilité et l'utilisation des données. Ces questions éthiques doivent être soupesées dans la perspective du bien public, et elles différeront selon les administrations.

- Les décisions difficiles qui sont prises pendant la pandémie sont au cœur des rapports entre les droits individuels et les besoins collectifs de la société. Face à des choix sociétaux difficiles, pour lesquels il n'y a pas de simple réponse « noir ou blanc », un cadre éthique accepté fournira des orientations importantes pour trouver un équilibre entre les droits et les responsabilités sociétales en concurrence.
- Les données relatives à la santé sont parmi les plus sensibles pour la protection de la vie privée des individus, ce qui entraîne les niveaux élevés de protection exigés pour ces données. Il est peu probable que les données sur les niveaux d'infection communautaire par la COVID-19 suscitent des préoccupations éthiques majeures lorsqu'elles sont obtenues pour des zones de population vastes et diversifiées, mais à mesure que la taille ou la diversité de la population communautaire capturée par un échantillon d'eaux usées diminue, les préoccupations éthiques concernant l'utilisation et la diffusion des données peuvent augmenter en conséquence.
- Les enquêteurs doivent respecter le fait que le risque que pose la COVID-19 n'est pas uniforme dans toute la société, les secteurs vulnérables reconnus étant confrontés à un risque manifestement élevé. Inévitablement, plus la population qui contribue à un échantillon d'eaux usées est petite, plus on peut s'attendre à ce que l'impact d'un secteur vulnérable se reflète dans le signal du SRAS-CoV-2 qui est mesuré dans les eaux usées.
- Les circonstances de la crise actuelle exigent davantage, et non moins, de rigueur et d'attention aux détails scientifiques et un examen attentif des préoccupations éthiques potentielles.

Définitions

Nombre des définitions suivantes sont celles utilisées en épidémiologie et en science médicale (par exemple, Gordis, 2000) plutôt que celles couramment utilisées en science environnementale (par exemple, Hruddy et Leiss, 2003), la terminologie étant modifiée selon les besoins de l'application actuelle.

SRAS-CoV-2 : le nouveau coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère qui cause la maladie pandémique connue sous le nom de COVID-19.

Vrais positifs et faux positifs : la détection d'un virus quand le virus est réellement présent dans un échantillon est un vrai positif (VP), tandis que la détection d'un virus qui n'est pas présent dans un échantillon est un faux positif (FP).

Vrais négatifs et faux négatifs : la non-détection d'un virus qui est réellement absent dans un échantillon est un vrai négatif (VN), tandis que la non-détection d'un virus quand le virus est réellement présent dans un échantillon est un faux négatif (FN).

α : le taux de FP, la fraction du nombre total de positifs qui sont faux.

β : le taux de FN, la fraction du nombre total de négatifs qui sont faux.

Sensibilité (Se) : la probabilité conditionnelle que l'analyse d'un échantillon PERMETTE de détecter le virus, ÉTANT DONNÉ que le virus EST présent dans l'échantillon. La **Se** peut se quantifier comme suit : $1 - \beta = VP / (VP + FN)$. Il s'agit d'une différence subtile par rapport à la conception commune des sciences environnementales et analytiques selon laquelle la sensibilité est considérée comme la concentration la plus faible du virus qui peut être détectée.

Spécificité (Sp) : la probabilité conditionnelle que l'analyse d'un échantillon NE PERMETTE PAS de détecter le virus, ÉTANT DONNÉ que le virus N'EST PAS présent dans l'échantillon. La **Sp** peut se quantifier comme suit : $1 - \alpha = VN / (FP + VN)$. C'est une différence subtile par rapport à la compréhension générale des sciences environnementales et analytiques selon laquelle la spécificité, plutôt que d'être énoncée quantitativement comme une probabilité conditionnelle, est simplement considérée comme la confiance que la méthode peut distinguer le virus cible d'autres signaux non cibles (bruit).

Exactitude : l'étroitesse de l'accord entre une quantité mesurée du virus et la quantité réelle du virus (JCGM, 2008; Taylor, 1999).

Précision : le degré de concordance entre les quantités mesurées du virus obtenues par des mesures reprises dans le même échantillon (JCGM, 2008; Taylor, 1999).

L'exactitude et la précision sont toutes deux importantes pour bien orienter les décisions, mais la précision sans l'exactitude, surtout en ce qui concerne l'exactitude de la direction que prennent les tendances, peut être trompeuse.

Étiologie : la raison ou l'explication de la cause d'un phénomène observé, souvent utilisée dans le contexte de l'explication de la cause d'une maladie.

Récupération de la méthode : la fraction du virus détecté par rapport au contenu total réel dans un échantillon.

RT-qPCR : transcription inverse quantitative suivie d'une réaction en chaîne de la polymérase; une technique de biologie moléculaire pour détecter et quantifier une cible génétique précise à partir d'un ARN de départ.

ARN : acide ribonucléique, simple brin de code génétique.

E-ARN : ARN en milieu aqueux

ADN : acide désoxyribonucléique, code génétique à double hélice.

C-ADN : ADN complémentaire.

E-ADN : ADN en milieu aqueux.

Dopage ou ajout connu : l'ajout d'une concentration connue d'un substitut de la cible d'intérêt (virus) pour estimer la récupération de la méthode (Li et coll., 2019).

Variabilité : la variation intrinsèque du paramètre ciblé dans l'échantillon de population. L'augmentation de l'échantillonnage ne réduira pas la variabilité, mais permettra simplement de mieux la définir.

Incertitude : l'incertitude se quantifie par une distribution de probabilité qui dépend de l'information dont on dispose sur la probabilité de la valeur réelle du paramètre. On peut réduire l'incertitude en augmentant l'information concernant l'échantillon.

Bassin d'égouts : le terme a récemment été adapté pour décrire le réseau d'égouts d'une communauté ou d'une institution donnée.

Références

- Ahmed, W., N. Angel, J. Edson, K. Bibby, A. Bivins, J.W. O'Brien, P.M. Choi, M. Kitajima, S.L. Simpson, et J. Li. (2020). « 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 », *Science of the Total Environment*, vol. 728. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764
- Ali, M., M. Zaid, M.A.N. Saqib, H. Ahmed et M.S. Afzal. (2020). « SARS-CoV-2 and the hidden carriers - Sewage, feline, and blood transfusion », *Journal of Medical Virology*. doi: 10.1002/jmv.25956
- Cheung, K. S., I.F. Hung, P.P. Chan, K. Lung, E. Tso, R. Liu, Y. Ng, M.Y. Chu, T.W. Chung et A.R. Tam. (2020). « Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from the Hong Kong cohort and systematic review and meta-analysis », *Gastroenterology*. doi: 10.1053/j.gastro.2020.03.065.
- Conceição-Neto, N., M. Zeller, H. Lefrère, P. De Bruyn, L. Beller, W. Deboutte, C. Yinda, R. Lavigne, P. Maes, M. Van Rans, E. Heylen et J. Matthijssens. (2015). « Modular approach to customize sample preparation procedures for viral metagenomics: A reproducible protocol for virome analysis », *Scientific Reports*, vol. 5. doi: 10.1038/srep16532
- Daughton, C. (2020). « The international imperative to rapidly and inexpensively monitor community-wide Covid-19 infection status and trends », *Science of the Total Environment*, vol. 726. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138149
- Finkel, A. (2020). *Advice on the feasibility of monitoring wastewater for early detection and monitoring of COVID-19 in the population*. Rapport du scientifique en chef de l'Australie au ministre australien de la Santé, Canberra (Australie). Tiré de : https://www.chiefscientist.gov.au/sites/default/files/2020-04/Monitoring%20wastewater%20to%20detect%20COVID-19_0.pdf
- Gordis L. (2000). *Epidemiology* (2^e ed.). Philadelphia: WB Saunders.
- Gundy, P., C. Gerba et I. Pepper. (2009). « Survival of coronaviruses in water and wastewater », *Food and Environmental Virology*, vol. 1., p. 10–14. doi: 10.1007/s12560-008-9001-6
- Hovi, T., M. Stenvik, M.H. Partenan et A. Kangas. (2001). « Poliovirus surveillance by examining sewage specimens. Quantitative recovery of virus after introduction into sewerage at remote upstream location », *Epidemiology & Infection*, vol. 127, p. 101–106. doi: 10.1017/s0950268801005787
- Hrudey, S.E. et W. Leiss. (2003). « Risk management and precaution – insights on the cautious use of evidence », *Environmental Health Perspectives*, vol 111, n° 13, p. 1577-1581. doi: 10.1289/ehp.6224
- Joint Committee for Guides in Metrology. (2008). *International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM)*. JCGM 200:2008. Tiré de : https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf
- Kitajima, M., H.P. Sassi et J.R. Torrey. (2018). « Pepper mild mottle virus as a water quality indicator », *npj Clean Water*, vol. 1. doi: 10.1038/s41545-018-0019-5.

- Lago, P., H.E. Gary, L.S. Perez et coll. (2003). « Poliovirus detection in wastewater and stools following an immunization campaign in Havana, Cuba », *International Journal of Epidemiology*, vol. 32, p. 772–777. doi: 10.1093/ije/dyg185
- Lamers, M., J. Buemer, J. van der Vaart et coll. (2020). « SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes », *Science*. doi: 10.1126/science.abc1669.
- Li, Q., Y. Qiu, X.L. Pang et N.J. Ashbolt. (2019). « Spiked virus level needed to correctly assess enteric virus recovery in water matrices », *Applied and Environmental Microbiology*. doi:10.1128/AEM.00111-19.
- Lodder, W. et A.M. de Roda Husman. (2020). « SARS-CoV-2 in wastewater: Potential health risk, but also data source », *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. doi: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30087-X](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30087-X)
- Medema, G., L. Heijnen, G. Elsinga, R. Italiaander et A. Brouwer (2020). « Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage », *medRxiv*. doi:10.1101/2020.03.29.20045880
- Nemudryi, A., A. Nemudraia, K. Surya, T. Wiegand, M. Buyukyoruk, R. Wilkinson et B. Wiedenheft. (2020). « Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater », *medRxiv*. doi.org/10.1101/2020.04.15.20066746.
- Randazzo, W., P. Truchado, E. Cuevas-Ferrando, P. Simón, A. Allende et G. Sánchez. (2020). « SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area », *Water Research*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>
- Taylor, J.R. (1999). *An Introduction to error analysis: The study of uncertainties in physical measurements*. University Science Books.
- Wang, J., H. Feng, S. Zhang, Z. Ni, L. Ni, Y. Chen, L. Zhuo, Z. Zhong et T. Qu. (2020). « SARS-CoV-2 RNA detection of hospital isolation wards hygiene monitoring during the Coronavirus Disease 2019 outbreak in a Chinese hospital », *International Journal of Infectious Diseases*, vol. 94, p. 103-106. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.024
- Wu, F., A. Xiao, J. Zhang, X. Gu, W.L. Lee, K. Kauffman, W. Hanage, M. Matus, N. Ghaeli et N. Endo. (2020). « SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases », *medRxiv*. doi: doi.org/10.1101/2020.04.05.20051540.
- Xu, Y., X. Li, B. Zhu, H. Liang, C. Fang, Y. Gong, Q. Guo, X. Sun, D. Zhao et J. Shen. (2020). « Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding », *Nature Medicine*, vol. 26, p. 502–505. doi: 10.1038/s41591-020-0817-4
- Ye, Y., R. Ellenberg, K. Graham et K. Wigginton. (2016). « Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater », *Environmental Science and Technology*, vol. 50, p. 5077–5085. doi: 10.1021/acs.est.6b00876