

Informează-te doar din surse verificate și sigure!

C**VID-19**

**EXPERIENȚA FRANȚEI: FIABILITATEA SECVENȚIERII
ARN A APELOR DE CANALIZARE ȘI IMPORTANȚA
ACESTEI METODE PENTRU MONITORIZAREA APARIȚIEI
ȘI RĂSPÂNDIRII VARIANTELOR SARS-COV-2.**



Acest material apare în cadrul Proiectului "Asigurarea informării corecte și combaterea dezinformării în pandemia COVID-19", implementat de Centrul pentru Politici și Analize în Sănătate (Centrul PAS) cu suportul financiar al Fundației Soros-Moldova/Departamentul Sănătate Publică. Informațiile prezentate în acest material nu sunt împărtășite neapărat de Fundația Soros-Moldova.

Experiența Franței: Fiabilitatea secvențierii ARN a apelor de canalizare și importanța acestei metode pentru monitorizarea apariției și răspândirii variantelor SARS-CoV-2.

Un studiu publicat în revista de referință THE LANCET de *Geraldine Rios, Caroline Lacoux et al.* *Monitoring SARS-CoV-2 variants alterations in Nice neighborhoods by wastewater nanopore sequencing* a încercat să evalueze metoda de secvențiere a virusului SARS-CoV-2 în viața reală.¹ Sunt necesare noi strategii de urmărire a răspândirii variantelor virale SARS-CoV-2. Până în prezent supravegherea epidemiologică s-a bazat în mod principal pe testarea individuală prin reacția de polimerizare cantitativă în lanț în timp real (RT-qPCR) sau prin reacția de polimerizare în lanț cu picături digitale (ddPCR). Însă o abordare orientată spre pacient este dificil de susținut pentru un timp îndelungat într-o cantitate mare de populație. Testarea individuală are de asemenea limitări intrinsece. Informațiile sunt în mod principal derivate din cazurile simptomatice și deci nu reflectă în mod necesar dinamica completă a difuziei bolii COVID-19. Identificarea incompletă a cazurilor asimptomatice, pre-simptomatice și post-simptomatice prin testarea individuală poate fi depășită prin analiza eșantioanelor colective care reflectă întreaga populație.² Principalele localizări de replicare virală a SARS-CoV-2 sunt tractul respirator superior și inferior, însă virusul se replică și în intestine, fapt care duce la concentrații ridicate de SARS-CoV-2 în materiile fecale umane.³ În consecință, analiza apelor de canalizare pentru virusul SARS-CoV-2 reprezintă o cale promițătoare și cost-eficientă de efectuare a unei supravegheri epidemiologice la nivel de populație. Mai multe studii recente au studiat titrurile SARS-CoV-2 în Stațiile de Epurare a Apelor Uzate (WWTPs) prin qPCR și au demonstrat o bună corelație între rata de incidență SARS-CoV-2 și titrurile virale în apele de canalizare.^{4 5 6 7 8 9} Supravegherea apelor de canalizare a fost propusă ca un instrument epidemiologic pentru a determina prevalența și evoluția epidemiilor cu virusul SARS-CoV-2. Însă, majoritatea proiectelor de supraveghere a apelor de canalizare pentru SARS-CoV-2 au fost bazate pe măsurile qPCR a titrurilor virale și nu au luat în calcul spectrul mutațional a virusului care circulă în rândul populației.

Secvențierea de randament înalt (HTS) a SARS-CoV-2 nu este limitată în același mod ca qPCR, dat fiind faptul că aceasta permite identificarea mutațiilor cunoscute și noi din secvențele virale. HTS permite definirea abundenței relative a unor variante virale specifice într-o mostră dată și deci permite analizarea unor populații virale complexe ca de exemplu cele din mostrele din apele de canalizare.

Studiul s-a petrecut în Nice (Franța). Au fost colectate mostre de la 416 755 locuitori din conducta de la intrarea în Stația de Epurare a apei și în amonte din canalizațiile diferitor cartiere o dată pe lună între octombrie 2020 și martie 2021. În cadrul studiului s-a demonstrat că secvențierea bazată pe nanopori nu doar arată dinamica tulpinilor cunoscute ale virusului SARS-CoV-2 din orașul Nice dar a permis și identificarea noilor variante virale care ar fi putut scăpa de la identificare în cazul folosirii testelor qPCR specifice variantelor virale.

¹ [https://www.thelancet.com/journals/lanep/article/PIIS2666-7762\(21\)00179-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanep/article/PIIS2666-7762(21)00179-4/fulltext)

² Pettit S.D. Jerome K.R. Rouquié D. et al. All In': a pragmatic framework for COVID-19 testing and action on a global scale. *EMBO Mol Med.* 2020; 12: e12634

³ Zheng S. Fan J. Yu F. 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

⁴ Medema G. Been F. Heijnen L. et al. 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

⁵ Peccia J. Zulli A. Brackney D.E. et al. Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. *Nat Biotechnol.* 2020; 38: 1164-1167

⁶ La Rosa G. Iaconelli M. Mancini P. et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ.* 2020; 736139652

⁷ Ahmed W. Angel N. Edson J. 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; 728138764

⁸ Wu F. Zhang J. Xiao A. et al. SARS-CoV-2 Titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems.* 2020; 5

⁹ Wurtzer S. Maréchal V. Mouchel J.M. 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

Observația cea mai uimitoare a fost apariția variantului B.1.1.7 în Nice la începutul anului 2021. Această tulpină a fost găsită în ianuarie 2021 în "Les Moulins", reprezentând 50% din mostrele observate. B.1.1.7 a fost mai apoi detectat în "West Nice" și "Haliotis" unde a reprezentat 10-20% din populația virală. Aceste observații sunt consistente cu faptul că aceste 2 rețele de apă colectează canalizarea de la "Le Moulins". B.1.1.7 a fost detectat în nivele mai joase și în "Carras", "Nice Etoile", "Magnan" și "West Gambetta". Frația prezenței acestei tulpini a crescut în mod pronunțat în tot orașul în Februarie până la aproximativ $81 \pm 1\%$ din toate secvențierile. B.1.1.7 a predominat și în Martie, reprezentând $86 \pm 2\%$ din virușii care circulau pe teritoriu.

De notat faptul că majoritatea variantului B.1.1.7 care a apărut în Ianuarie în Nice a avut o mutație adițională A522S(G23126T) în proteina spike. Mutația A522S a proteinei spike a fost raportată doar în 226 din 27 268 (0.8%) și în 207 din 385,840 (0.05%) de către inițiativa GISAID privind secvențierile B.1.1.7 din Franța și respectiv Marea Britanie.¹⁰ Acest variant a rămas predominant în Februarie și a suferit un declin în Martie. Prevalența inițială a acestei mutații care este rară în alte locuri a variantului B.1.1.7 în Nice sugerează faptul că variantul B.1.1.7 a fost introdus de unul sau mai mulți purtători și răspândit inițial în cartierul "Les Moulins" și mai apoi în tot orașul. Acest variant a fost mai apoi diluat în mod treptat de variantul B.1.1.7 fără mutația A522S care este predominant în Franța. Declinul mutației A522S în Martie sugerează de asemenea că această mutație spike adițională nu oferă rezistență sau avantaje în comparație cu tulpina originală B.1.1.7. Fapt consecvent cu un model recent de modelizare privind interacțiunea SARS-CoV-2/ACE 2 în cadrul căruia s-a depistat doar o mică creștere a afinității receptorului SARS-CoV-2 pentru mutația A522S.¹¹

În contrast, circularea altor variante virale (VOC), așa precum B.1.351 și P.1 a rămas mult mai scăzută. Unele mutații asociate cu aceste tulpini virale puteau fi detectate la sfârșitul anului 2020. Însă datorită faptului că doar o mică parte de mutații care definesc aceste variante virale (VOC) au fost detectate, s-a concluzionat că acestea nu erau specifice variantelor virale (VOC) în acea perioadă de timp. În doar câteva cazuri, o amprentă consistentă cu destule mutații specifice variantelor virale au putut fi identificate. De exemplu cazul variantului "B.1.351" în "Carras", "East Nice" și "Harbor" în Februarie 2021. Prezența acestui variant a fost în continuare demonstrată de detectarea a 2 mutații specifice variantului B.1.351. Tulpina P.1 a reprezentat aproximativ 10% în "La Madeleine" în Februarie 2021, însă nu a mai fost detectată în martie în aceeași regiune.

A fost comparată componența tulpinilor din mostrele de apă de canalizare din Octombrie cu mostrele clinice respective. Au fost analizate mostrele tampon a 1481 pacienți care trăiesc în Nice care au fost testate de către Biogroup în timpul perioadei corespunzătoare colectării de probe din apele de canalizare (între 19 octombrie și 23 octombrie, săptămâna 43). Au existat 1327 probe negative și 154 cazuri pozitive SARS-CoV-2 RT-qPCR. S-a făcut secvențierea PCR a 81 probe pozitive care au putut fi atribuite fără ambiguitate unei din cele câteva zone de colectare a apelor de canalizare și a fost posibilă determinarea tulpinilor. S-au observat procente similare pentru 4 cele mai abundente tulpini în apele de canalizare și în probele clinice care au fost colectate în aceeași săptămână și în aceeași regiune.

¹⁰ Elbe S. Buckland-Merrett G. Data, disease and diplomacy: GISAID's innovative contribution to global health. *Glob Chall.* 2017; 1: 33-46

¹¹ Wang R. Chen J. Gao K. et al. Vaccine-escape and fast-growing mutations in the United Kingdom, the United States, Singapore, Spain, India, and other COVID-19-devastated countries. *Genomics.* 2021; 113: 2158-2170

În concluzie, rezultatele studiului demonstrează fiabilitatea secvențierii ARN a apelor de canalizare și importanța acestei metode pentru monitorizarea apariției și răspândirii variantelor SARS-CoV-2. Monitorizarea virală în apele de canalizare în mod clar nu se limitează doar la supravegherea pandemiei COVID-19 curente. Metoda de supraveghere poate fi ușor pusă în funcțiune și transferată pentru utilizare în alte programe epidemiologice, țintind alți viruși care pot apărea în viitor. Deci, această metodă reprezintă un important instrument de analiză a eficienței măsurilor sanitare care încearcă să limiteze transmiterea virală.

Studiul a ilustrat cum situația poate varia între diferite cartiere ale aceluiași oraș. Creșterea variantului B.1.1.7 în "Le Moulins" în Ianuarie coincide cu o creștere a A.27 în "Bon Voyage" și o creștere a B.1.474 în "Las Planas". Apariția acestor tulpini specifice în 3 cartiere social defavorizate a avut loc imediat după Crăciun, o perioadă în care călătoriile sunt foarte active. Acest fapt în mod posibil subliniază existența unei conexiuni între inegalitățile socio-economice existente între diferite cartiere și răspândirea virusului.¹² În acest context, epidemiologia apelor de canalizare ar putea reprezenta în viitor un instrument foarte util pentru a face față unor situații similare.

¹² Horton R. Offline: COVID-19 is not a pandemic. *Lancet*. 2020; 396: 874

