كليـــــــة الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH
MARRAKECH
جامعة القاضي عياض
UNIVERSITÉ CADI AYYAD

Année 2022 Thèse N°151

La surveillance épidémiologique de la maladie COVID-19 à travers l'analyse des eaux usées dans la ville de Marrakech

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 24/05/2022

PAR

Mlle. Manal El MOUJAHID

Née Le 07/03/1997à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS :

SARS-CoV-2 – eaux usées – WBE – alerte précoce

JURY

Mr. S. ZOUHAIR Professeur de Bactériologie-Virologie	PRESIDENT
Mr. Y. EL KAMOUNI Professeur de Bactériologie-Virologie	RAPPORTEUR
Mr. M. AMINE Professeur d'épidémiologie clinique	JUGE
Mme. N. El HILALI Directrice générale de la RADEEMA	MEMBRE ASSOCIE

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dés sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948

LISTE DES PROFESSEURS

UNIVERSITE CADI AYYAD FACULTE DE
MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRARATION

Doyen : Pr Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la cooperation : Pr. Mohamed AMINE
Vice doyen aux affaires pédagogiques :Pr. Redouane EL FEZZAZI
Vice doyen chargé de la Pharmacie : Pr. Said ZOUHAIR

Secrétaire Général : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie	ELOMRANI Abdelhamid	Radiothérapie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anésthésie-réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
ADALI Imane	Psychiatrie	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ADMOU Brahim	Immunologie	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	GHOUNDALE Omar	Urologie
AISSAOUI Younes	Anésthésie-réanimation	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT SAB Imane	Pédiatrie	JALAL Hicham	Radiologie
ALJ Soumaya	Radiologie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique

AMAL Said	Dermatologie	KHALLOUKI Mohammed	Anésthésie-réanimation
AMINE Mohamed	Epidemiologie clinique	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMRO Lamyae	Pneumo-phtisiologie	KISSANI Najib	Neurologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie-virologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie-obstétrique	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie-obstétrique	LOUHAB Nissrine	Neurologie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie générale
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato-orthopédie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie générale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENHIMA Mohamed Amine	Traumato-orthopédie	MOUAFFAK Youssef	Anésthésie-réanimation
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique	MSOUGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie-chimie	NAJEB Youssef	Traumato-orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- vasculaire	NARJIS Youssef	Chirurgie générale
BOURRAHOUAT Aicha	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anésthésie-réanimation

BOURROUS Monir	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OUALI IDRISSI Mariem	Radiologie
BSISS Mohammed Aziz	Biophysique	OUBAHA Sofia	Physiologie
CHAFIK Rachid	Traumato-orthopédie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique

CHAKOUR Mohammed	Hématologie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHELLAK Laila	Biochimie-chimie	QAMOUSS Youssef	Anésthésie-réanimation
CHERIF IDRISSI EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAROUASSI Youssef	Oto-rhino-laryngologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino-laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anésthésie-réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anésthésie-réanimation
ELAMRANI Moulay Driss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro-entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SARF Ismail	Urologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie générale	SORAA Nabila	Microbiologie-virologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie-obstétrique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	TAZI Mohamed Illias	Hématologie clinique
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	YOUNOUS Said	Anésthésie-réanimation
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie-virologie
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL IDRISSI SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anésthésie-réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZOUHAIR Said	Microbiologie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZYANI Mohammad	Médecine interne

EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDOU Abdessamad	Chirurgie Cardio- vasculaire	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie-embryologie-cytogénétique
ABIR Badreddine	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JANAH Hicham	Pneumo-phtisiologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anésthésie-réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	MARGAD Omar	Traumato-orthopédie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation Fonctionnelle	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
ARSALANE Adil	Chirurgie thoracique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BELBACHIR Anass	Anatomie patologique	NADER Youssef	Traumato-orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie-réanimation	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie réparatrice et plastique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	RHARRASSI Issam	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio- vasculaire	SEDDIKI Rachid	Anésthésie-réanimation
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie-virologie	SERGHINI Issam	Anésthésie-réanimation
EL MEZOUARI El Mostafa	Parasitologie-mycologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ESSADI Ismail	Oncologie médicale	ZARROUKI Youssef	Anésthésie-réanimation
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
HAMMOUNE Nabil	Radiologie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Psychiatrie	EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	EL-QADIRY Rabiy	Pédiatrie
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et réhabilitation fonctionnelle	FASSI FIHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
ABOUDOURIB Maryem	Dermatologie	FDIL Naima	Chimie de coordination bio-organique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	FENANE Hicham	Chirurgie thoracique
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	GEBRATI Lhoucine	Chimie physique
AHBALA Tariq	Chirurgie générale	HAJHOUJI Farouk	Neurochirurgie
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAJJI Fouad	Urologie
AKKA Rachid	Gastro-entérologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAZIME Raja	Immunologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	IDALENE Malika	Maladies infectieuses
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LACHHAB Zineb	Pharmacognosie
AZIZI Mounia	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LAHMINI Widad	Pédiatrie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCHI Asmae	Microbiologie- virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicolgie environnementale
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	JALLAL Hamid	Cardiologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	MAOUJOUD Omar	Néphrologie
BELLASRI Salah	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	MILOUDI Mouhcine	Microbiologie-virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENCHAFAI Ilias	Oto- rhino- laryngologie	MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENYASS Youssef	Traumatologie- orthopédie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	RAGGABI Amine	Neurologie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	REBAHI Houssam	Anesthésie-réanimation
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	ROUKHSI Redouane	Radiologie

CHETTATI Mariam	Néphrologie	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie-réanimation
DAMI Abdallah	Médecine légale	SALLAHI Hicham	Traumatologie-orthopédie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	SAYAGH Sanae	Hématologie
DOUIREK Fouzia	Anesthésie réanimation	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
DOULHOUSNE Hassan	Radiologie	SBAI Asma	Informatique
EL-AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL AMIRI Moulay Ahmed	Chimie de coordination bio-organique	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
ELATIQI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	WARDA Karima	Microbiologie

AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAJJI Fouad	Urologie
AKKA Rachid	Gastro-entérologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAZIME Raja	Immunologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	IDALENE Malika	Maladies infectieuses
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LACHHAB Zineb	Pharmacognosie
AZIZI Mounia	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LAHMINI Widad	Pédiatrie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCHI Asmae	Microbiologie- virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicolgie environnementale
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	JALLAL Hamid	Cardiologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	MAOUJOUD Omar	Néphrologie
BELLASRI Salah	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	MILOUDI Mouhcine	Microbiologie-virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENCHAFAI Ilias	Oto- rhino- laryngologie	MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENYASS Youssef	Traumatologie- orthopédie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie

BENZALIM Meriam	Radiologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	RAGGABI Amine	Neurologie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	REBAHI Houssam	Anesthésie-réanimation
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	ROUKHSI Redouane	Radiologie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie-réanimation
DAMI Abdallah	Médecine légale	SALLAHI Hicham	Traumatologie-orthopédie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	SAYAGH Sanae	Hématologie
DOUIREK Fouzia	Anesthésie réanimation	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
DOULHOUSNE Hassan	Radiologie	SBAI Asma	Informatique
EL-AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL AMIRI Moulay Ahmed	Chimie de coordination bio-organique	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
ELATIQI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	WARDA Karima	Microbiologie

EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	YANISSE Siham	Pharmacie galénique
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie-mycologie	ZIRAOUI Oualid	Chimie thérapeutique
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie	ZOUITA Btissam	Radiologie
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio-vasculaire
ELOUARDI Youssef	Anésthésie-réanimation		

Liste Arrêtée Le 03/03/2022

DÉDICACES

Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que je dédie cette thèse ...

A mon très cher père : HASAN EL MOUJAHID

Aucune parole ne peut être dite à sa juste valeur pour exprimer mon amour et mon attachement à toi. Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes sont-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Que Dieu te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal. Je t'aime papa.

A ma très chère mère : Najia EL BOUAMRI

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Tu n'as jamais cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir tes sacrifices. Puisse Dieu tout puissant, te préserve et t'accorde santé, longue vie et bonheur. Je t'aime maman.

A mes chères sœurs : Lamia EL MOUJAHID et Nada EL MOUJAHID

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous.

Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.

Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler.

Merci pour votre présence toujours à mes côtés.

Je vous aime !

A mon neveu Ghali Tamri

Avoir un neveu est le plus beau cadeau qu'une soeur puisse vous faire. Ton envie de parcourir le monde, ton enthousiasme, tes sourires, tes yeux brillants sont incomparables. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je t'aime gaga !

À ma grand-mère maternelle : Aicha Ezzaouini

Qui m'a accompagnée par ses prières et sa douceur. Puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans sa vie.

A la mémoire de mes grands-parents paternels et mon grand-père maternel

Le destin ne m'a pas laissé le temps pour jouir de ce bonheur avec vous et pour cueillir vos bénédictions; Puisse Allah, assurer le repos de votre âme par sa saint miséricorde.

A mes tantes et oncles maternels et paternels

J'aurais aimé vous rendre hommage un par un en témoignage de ma grande considération. J'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux. Que ce travail vous apporte l'estime et le respect que je porte à votre égard, et soit la preuve du désir que j'aie depuis toujours pour vous honorer.

A ma cousine Ouiame El Motassadeq

Il est grand temps de te dire à quel point tu es importante pour moi. Sans toi , je ne serai pas là . Tu étais là quand c'était dur de continuer et quand j'avais envie de tout laisser tomber. Tu m'as motivé et aidé à vaincre tous les obstacles pour atteindre mon objectif , tu étais là pour m'aider à passer les moments difficiles et là pour en rire lorsque ça va mieux . Ton soutien m'a énormément permis d'avancer .

Tu as toujours été là pour moi et je serai toujours là pour toi. Merci pout tout …

A ma cousine Fatma Baddaz

Tu es la personne que je suis toujours heureuse de voir parce que tu sais démontrer l'affection que tu portes aux gens. Tu es la cousine avec qui j'ai envie de partager mes bonheurs et qui saura se réjouir pour moi avec sincérité . Par ces quelques mots affectueux ,je voulais t'exprimer ma grande affection et te dédier ce travail . Jte souhaite une vie pleine de succès et de réussite .

A mon cousin Ayoub el Motassadeq

Tu as toujours été d'un grand soutien, et ce depuis le premier jour. Je te remercie pour ta gentillesse et ton aide très précieux. Je te dédie ce travail et te souhaite une vie pleine de succès et de réussite.

A mes cousines et cousins maternels et paternels,

J'aurai aimé citer chacun de vous par son nom, mais même mille pages ne sauraient suffire pour vous témoigner toute mon affection.

Mon enfance a été rythmée par vos rires et votre amour. Je vous aime de tout mon cœur et je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur.

A toute la famille EL MOUJAHID

A toute la famille EL BOUAMRI

Je vous remercie pour tout votre soutien et toutes vos prières qui m'ont accompagné durant toutes ces années. Puisse Dieu tout puissant vous procurer santé et longévité.

A mes amies :

Wiamm,Ouiame,khaoula, Aya

A tous les moments qu'on a passés ensemble, à tous nos souvenirs !

Merci d'avoir été là à tous les instants. Merci pour les heures de fous rires, de joie, de folie. Je suis honorée de vous avoir dans ma vie et je vous souhaite tout le bonheur et le succès que vous méritez.

En hommage à notre belle amitié et aux années à venir.

Que notre amitié reste éternelle, que ce lien spécial que nous avons tissé au fil du temps soit éternellement incassable.

A ma michmich

D'innombrables fois, tu as prouvé que l'amitié va au-delà des mots et englobe les actions. En tant que meilleure amie, tu n'as jamais manqué de mots de réconfort ni d'actes. Je suis reconnaissante pour ton amitié. Merci d'avoir toujours été là pour moi. Je prie pour que ce lien dure éternellement et résiste à l'épreuve du temps. Quels que soient les obstacles que la vie nous lance, nous les surmonterons toujours, car deux valent toujours mieux qu'un. Toi et moi, c'est une équipe imbattable et imparable.

Je te chéris tellement, ma très chère amie FIGHTING !

A Manal Morjani

Je te remercie pour ta gentillesse et ta générosité sans limite. Ton aide et ton soutien me sont précieux!

Tes qualités humaines, ton altruisme et ta disponibilité me vont droit au coeur. Merci pour tout.

А моей любви

Dal primo minuto…

Ai miei amici : SERGIO E PIERA

Ci sono amicizie impresse nei nostri cuori che non saranno mai diminuite dal tempo e dalla distanza .

A mes chers amis et collègues de la FMPM :

Les années de médecine auraient été tellement difficiles sans vous. Merci pour votre amitié et votre soutien infaillible, que de bons moments passés ensemble. Notre amitié s'est soudée dans la joie mais aussi dans l'adversité et les moments de doutes que ces années d'études nous ont procurés. Je ne vous oublierai jamais et j'espère que la vie, nous permettra de nous revoir plus souvent

A TOUS CEUX QUE J'AI OMIS INVOLONTAIREMENT DE CITER

REMERCIEMENTS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE
PROFESSEURSAID ZOUHAIR
PROFESSEUR DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR EN BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
VICE DOYEN CHARGE DE LA PHARMACIE
CHEF DE SERVICE DE BACTERIO-VIROLOGIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
HOPITAL MILITAIRE AVICENNE DE MARRAKECH

Nous vous remercions de l'immense honneur que vous nous avez fait en nous confiant ce sujet de thèse. Vous représentez pour nous l'exemple du professeur aux grandes qualités humaines et professionnelles. Nous vous remercions de la générosité et de l'humilité avec lesquelles vous partagez votre savoir. Votre professionnalisme, humanisme et qualités d'enseignements, sont pour nous un exemple à suivre. Veuillez accepter, cher maitre, le témoignage de notre profond respect, nos remerciements les plus sincères et de notre grande estime.

A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE
PROFESSEUR YOUSSEF EL KAMOUNI
PROFESSEUR AGREGE EN BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
HOPITAL MILITAIRE AVICENNE DE MARRAKECH

C'est avec un grand plaisir que je me suis adressée vers vous dans le but de bénéficier de votre encadrement et j'étais très touchée par l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de me confier ce travail. Votre sérieux, votre sympathie, votre modestie, votre honnêteté et toutes vos qualités humaines m'ont profondément marqué, et seront toujours pour moi un modèle et un exemple à suivre lors de l'exercice de ma profession. Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil malgré vos obligations professionnelles. Je vous remercie infiniment pour avoir consacré à ce travail votre temps précieux et de m'avoir guidé avec rigueur et bienveillance. Je suis très fière d'avoir appris auprès de vous et j'espère avoir été à la hauteur de vos attentes.

Veuillez trouver ici, cher maître, l'expression de ma haute considération, de ma sincère reconnaissance et de mes respects les plus distingués.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
PROFESSEUR MOHAMED AMINE
PROFESSEUR DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR EN EPIDEMIOLOGIE CLINIQUE
VICE DOYEN A LA RECHERCHE ET LA COOPERATION
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE MOHAMED VI

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de siéger parmi les membres de jury de notre thèse.
Votre modestie, vos qualités humaines et professionnelles ont toujours suscité notre admiration.
Veuillez trouver ici, cher Maître, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.

NOS REMERCIEMENTS VONT EGALEMENT :

AU MINISTERE DE L'INTERIEUR

Qui a lancé,dirigé et financéle projet de détection de l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées au Maroc.

A MADAME NADIA EL HILALI
DIRECTRICE GENERALE DE LA RADEEMA.

Vous nous faites l'honneur de votre présence et de votre association au jury de notre thèse.
Nous vous remercions d'avoir veiller sur le bon déroulement de la phase pré-analytique de cette étude.
Veuillez trouvez ici , le témoignage de notre grand respect et nos sincères remerciements.

ABRÉVIATIONS

LISTE DES ABRÉVIATIONS :

SARS-CoV-2 : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2.

Covid-19 : Coronavirus Disease 2019.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

WBE : Wastewater based epidemiology.

ARN : acide ribonucléique.

RT-PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

RADEEMA : Régie autonome de distribution d'eau et d'électricité de Marrakech.

HMA : Hôpital Militaire Avicenne.

LYDEC :Lyonnaise des eaux usées de Casablanca.

AMENDIS : Société d'exploitation d'eaux usées et d'assainissement des villes Tanger et Tétouan.

RADEEF : Régie autonome intercommunale de distribution d'eau et d'électricité de Fès.

LRAM : Laboratoire de recherche et d'analyses médicales de la gendarmerie royale à Rabat.

DGSN : Laboratoire de la police scientifique de la direction générale de la sureté nationale.

STEP : Station d'épuration des eaux usées de Marrakech.

ml : millilitre.

Tpm : Tours par minute.

CI : contrôle interne.

CP : contrôle positif.

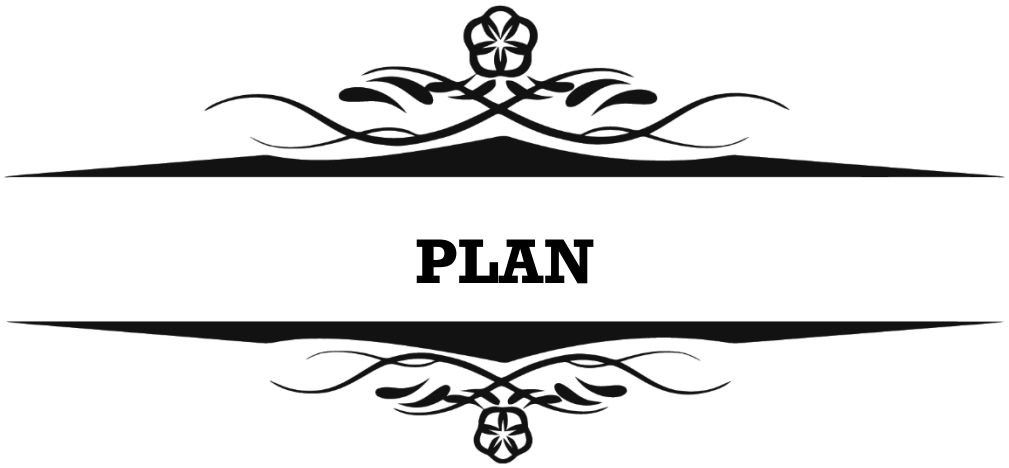
CN : contrôle négatif.

dNTP : désoxyribonucléotide triphosphate.

Ct : Cycle threshold.

IND : indéterminé.

CDC : Centers for disease control and prevention



PLAN

INTRODUCTION 1
MATERIELS ET METHODES 4
I. Type, lieu, période, partenariat et ressources de l'étude 5
II. Vue d'ensemble sur le protocole commun adopté par les villes participantes 6
III. La mise en œuvre du protocole dans la ville de Marrakech 9
RESULTATS 20
I. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech 21
1. La fréquence de détection globale du SARS-CoV-2 21
2. La fréquence de détection de chaque gène (S et RdRp) 22
II. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 par point 23
1. Au niveau des points de P1 à P18 23
2. Au niveau de l'entrée de la STEP (P19) 25
III. L'évolution de l'épidémie dans la ville de Marrakech à partir des résultats d'analyse des eaux usées 26
IV. L'évolution des cas de la maladie COVID-19 dans la ville de Marrakech 27
V. La relation entre la dynamique du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et l'évolution des cas COVID-19 28
VI. Le pouvoir anticipatif de la surveillance épidémiologique du SARS-CoV-2 à travers l'analyse des eaux usées 29
DISCUSSION 30
I. La situation épidémiologique mondiale 31
II. La situation épidémiologique au Maroc 32
III. La phase entérique du SARS-CoV-2 33
IV. L'épidémiologie basée sur les eaux usées (Wastewater Based Epidemiology : WBE) 37
1. La surveillance épidémiologique de la maladie COVID-19 37
2. Principe de l'épidémiologie basée sur les eaux usées 37
3. Les domaines d'application de la WBE 38
4. Les applications de la WBE en virologie 40
5. L'application de la WBE dans le contexte de la maladie COVID-19 41
6. Les avantages et les apports de la WBE 42
7. Les limites de la WBE 44
DISCUSSION DE NOS RESULTATS 45
I. La détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech 45
II. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech 46
III. La RT-PCR spécifique au SARS-CoV-2 49
1. Le kit d'amplification utilisé 49
2. Les gènes ciblés 49
3. La fréquence de détection de chaque gène cible (S et RdRp) 50
IV. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 par point : 51
V. La surveillance épidémiologique du SARS-CoV-2 à travers l'analyse des eaux usées 53
1. La corrélation entre la détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et 53

le nombre de cas COVID-19 déclarés
2. Le pouvoir anticipatif de la surveillance épidémiologique à travers l'analyse des eaux usées : 55
RECOMMANDATIONS 56
CONCLUSION 58
RESUMES 60
ANNEXES 66
BIBLIOGRAPHIE 70

INTRODUCTION

Le nouveau coronavirus nommé SARS-CoV-2 pour Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 est l'agent responsable de la maladie Covid-19 (Coronavirus Disease 2019) [1] . Ce virus est apparu fin décembre 2019 à Wuhan, en Chine, et s'est rapidement propagé sur tous les continents.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré l'infection au SARS-CoV-2 comme une urgence de santé publique de portée internationale le 30 janvier 2020, et comme un état de pandémie le 11 Mars 2020. [2]

La maladie COVID-19 a engendré d'importantes conséquences sanitaires, mais aussi économiques, sociales, culturelles, environnementales, politiques, scolaires et judiciaires.

Dans le but de gérer au mieux cette crise sanitaire, il est impératif de connaitre la dynamique réelle du virus au sein de la population.

La surveillance épidémiologique de la maladie COVID-19 par des approches centrées sur l'individu ne permet pas de dresser le vrai portrait de cette affection. En effet, les tests sont faits principalement surdes personnes symptomatiques. Tandis que les porteurs asymptomatiques contribuent à la circulation du virus tout en restant indétectables. En plus, l'approche individuelle est très coûteuse, elle est non adaptée aux ressources disponibles au Maroc et dans d'autres pays socio-économiquement vulnérables.

Bien que le SARS-CoV-2 touche principalement les voies respiratoires, des études ont confirmé la présence du génome viral dans les matières fécales des individus infectés. [3][4]

Ces observations impliquent que les eaux usées des communautés affectées peuvent contenir le virus. L'épidémiologie basée sur les eaux usées (wastewater based epidemiology : WBE) pourra fournir beaucoup d'informations sur la dynamique épidémiologique.

Dans ce sens, l'épidémiologie basée sur les eaux usées a été suggérée comme un outil complémentaire potentiellement utile pour mieux surveiller la maladie COVID-19 et par conséquent, la mieux gérer. [5][6][7]

La WBE est particulièrement utile pour l'alerte précoce des épidémies comme ça était démontré pour les virus entériques, tels que le norovirus, le virus de l'hépatite A et le poliovirus. [8][9]

La détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées se fait par amplification de cibles spécifiques de son génome , à l'aide de la RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) .Néanmoins , les eaux usées sont pleines d'impuretés et d'inhibiteurs de la PCR (Polymerase Chain Reaction) , ce qui nécessite une série d'étapes pour concentrer les échantillons , extraire l'ARN (acide ribonucléique) , éliminer les inhibiteurs de la PCR et amplifier le génome viral .

Il s'agit de la première étude sur la surveillance épidémiologique de la maladie COVID-19 à travers l'analyse des eaux usées au Maroc, elle a pour objectifs de :

- Rechercher le SARS-CoV-2 dans les eaux usées non traitées de la ville de Marrakech.
- Décrire la progression de l'épidémie à partir des résultats d'analyse des eaux usées.
- Décrire la répartition géographique du SARS-CoV-2 dans la ville de Marrakech.
- Evaluer le pouvoir anticipatif de l'approche WBE.
- Identifier les apports et les défis de cette méthode dans le contexte de la maladie COVID-19.
- Fournir des recommandations pour un meilleur déploiement.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Type,lieu,période, partenariat et ressources de l'étude :

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive portant sur 1060 échantillons d'eaux usées, collectés par la régie autonome de distribution d'eau et d'électricité de Marrakech (RADEEMA) et analysés au laboratoire de Virologie-bactériologie et biologie moléculaire de l'Hôpital Militaire Avicenne (HMA) à Marrakech, durant la période comprise entre le 18 Janvier 2021 et le 24 Février 2022 .

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une démarche nationale lancée par le Ministère de l'intérieur dans quatre villes du Royaume : Casablanca, Tanger, Marrakech et Fès. En collaboration avec :

- Les opérateurs chargés de la gestion des eaux usées, à savoir : la Lyonnaise des eaux usées de Casablanca (LYDEC),la société des eaux usées et de l'électricité du nord (AMENDIS), la RADEEMA et la régie autonome intercommunale de distribution d'eau et d'électricité de Fès (RADEEF).
- Et les laboratoires nationaux d'analyses virologiques des eaux usées, notamment le laboratoire de recherche et d'analyses médicale de la gendarmerie royale à Rabat (LRAM), le laboratoire de virologie-bactériologie et biologie moléculaire de l'Hôpital Militaire Avicenne à Marrakech et le laboratoire de la police scientifique de la direction générale de la sureté nationale (DGSN) à Casablanca.

Ces parties prenantes ont mobilisés conjointement les ressources nécessaires au déploiement de l'étude, en particulier :

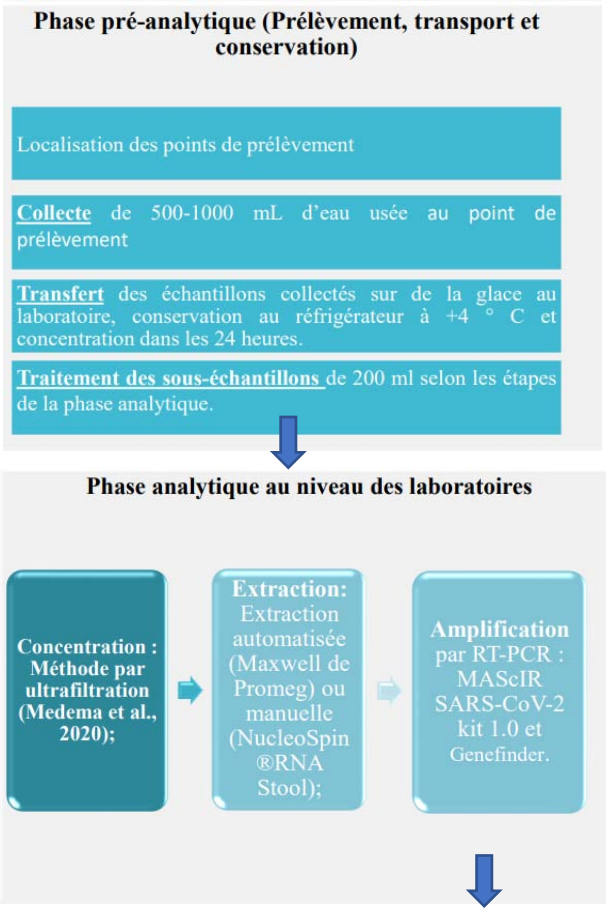
- ✓ Les moyens humains et techniques des opérateurs chargés de la gestion des eaux usées ;
- ✓ Les moyens humains et techniques des laboratoires partenaires ;
- ✓ Les moyens financiers nécessaires pour l'acquisition des réactifs et matériels nécessaires.

Figure 1 : Les principaux intervenants dans l'étude.

II. Vue d'ensemble sur le protocole commun adopté par les villes participantes :

1. Aperçu sur le protocole employé à l'échelle nationale :

Le schéma ci-après présente le processus global d'analyse des eaux usées qui a servi à la recherche du SARS-CoV-2 :



Les échantillons sont testés par PCR pour la présence de:

- ❑ Gène E (protéine de petite membrane d'enveloppe);
- ❑ Gène S (protéine de surface);
- ❑ Gène RdRp (gène codant l'ARN polymérase ARN-dépendante);
- ❑ Gène N (nucléoprotéine)

2. Localisation des points de prélèvement par ville :

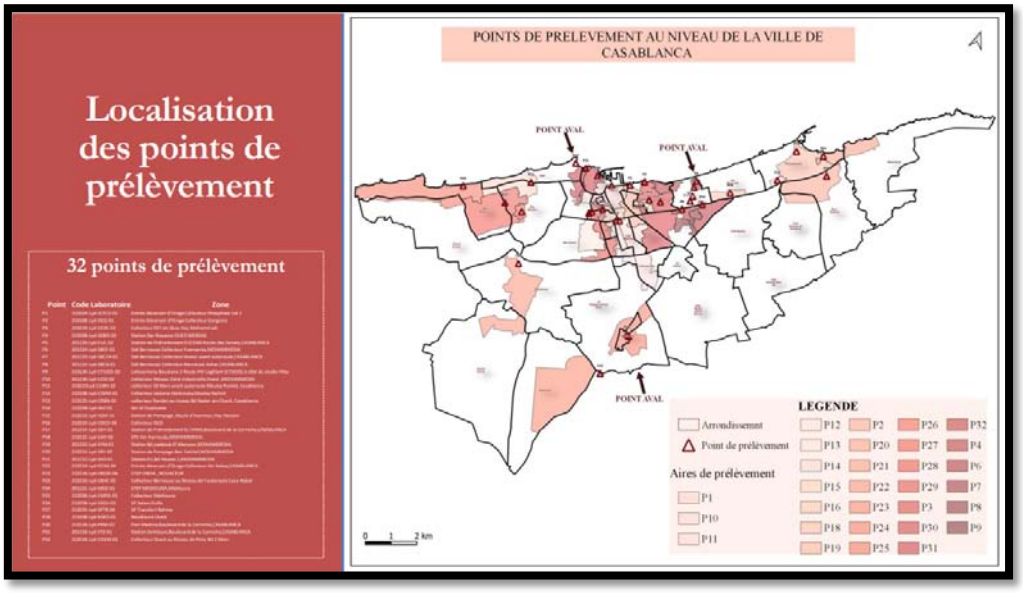


Figure 2 : Les points de prélèvement au niveau de la ville de Casablanca.

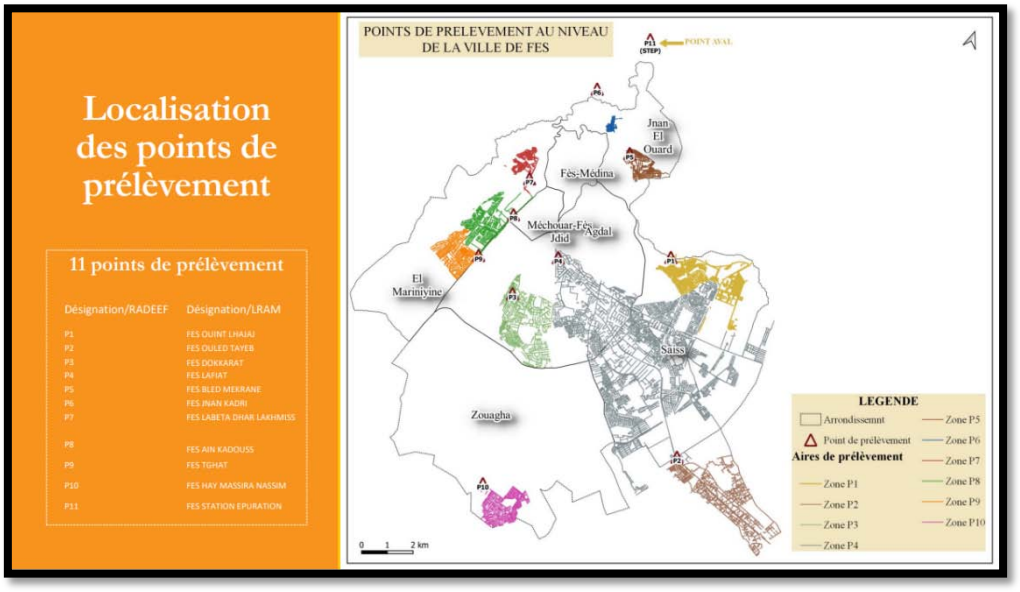


Figure 3 : Les points de prélèvement au niveau de la ville de Fès.

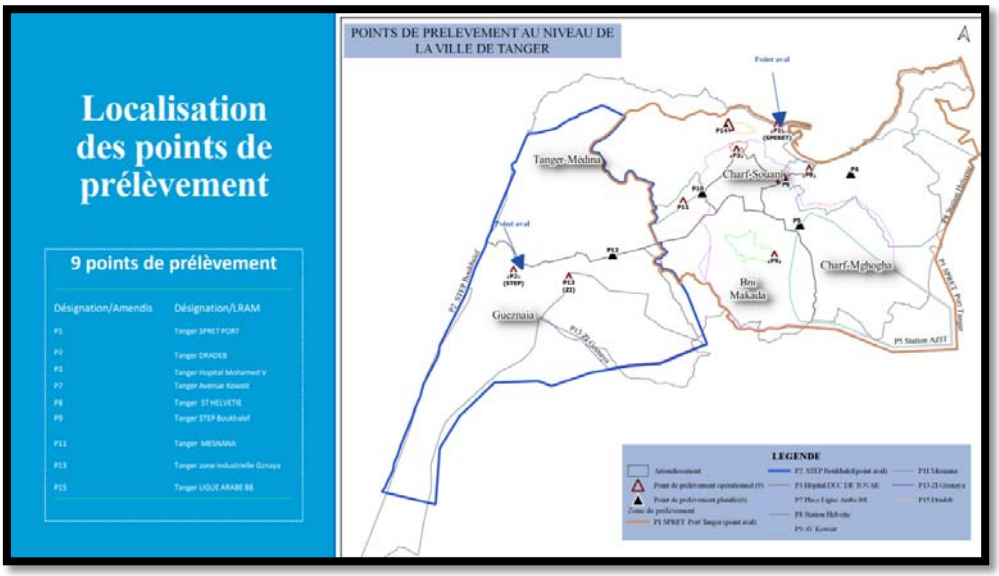


Figure 4 : Les points de prélèvement au niveau de la ville de Tanger.

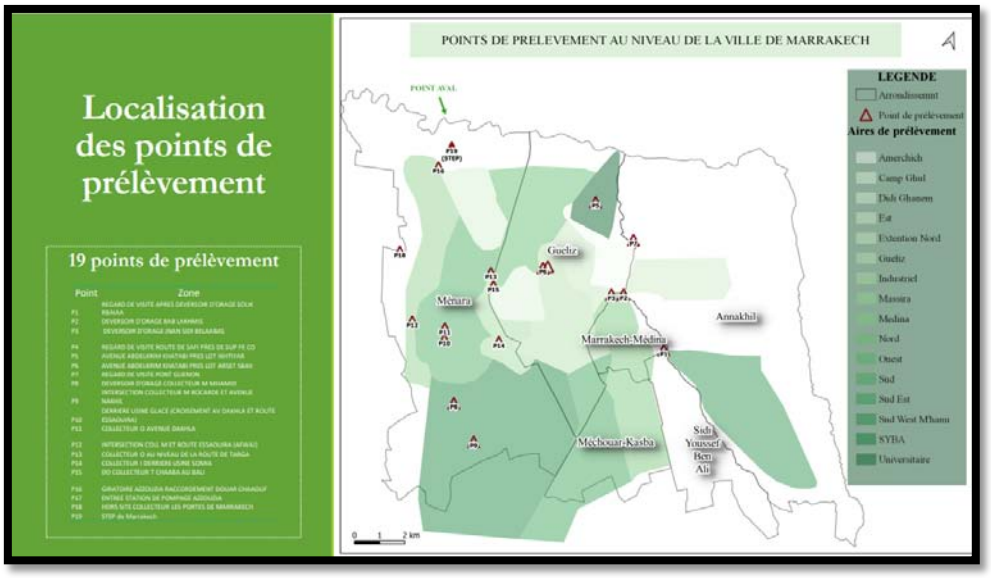


Figure 5 : Les points de prélèvement au niveau de la ville de Marrakech.

III. La mise en œuvre du protocole dans la ville de Marrakech :

1. La phase pré-analytique : L'échantillonnage des eaux usées :

Cette étape est réalisée par le personnel de la RADEEMA.

La période de l'échantillonnage a duré 14 mois du 18/01/2021 au 24/02/2022.

Les points de prélèvements des eaux usées choisis étaient en nombre de 19 (figure 6) :

- → Les points de P1 à P18 sont les principaux collecteurs des eaux usées de la ville de Marrakech, chaque point collecte les eaux usées provenant d'un ou de plusieurs quartiers, et dessert un nombre différent d'habitants (tableaul).
- → Le P19 correspond à l'entrée de la Station d'épuration des eaux usées de Marrakech (STEP), c'est le point qui regroupe toutes les eaux usées de la ville avant leurs traitements.

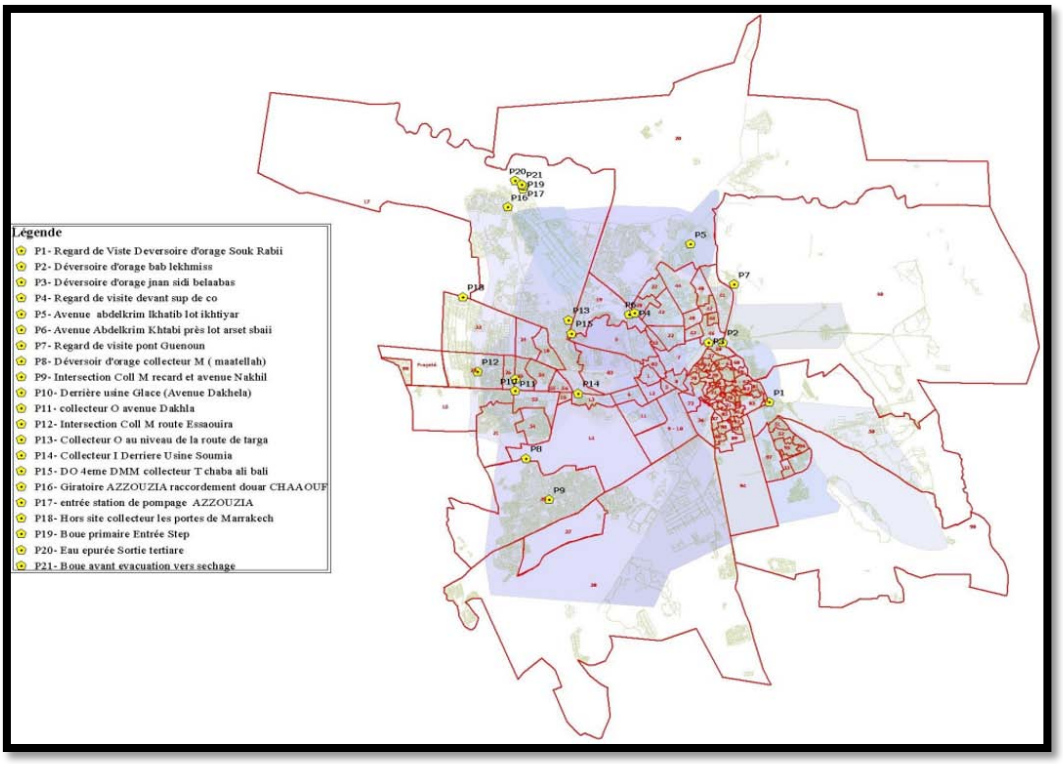


Figure 6 : Cartographie des points de prélèvement à Marrakech.

Les critères retenus par la RADEEMA pour l'élaboration de l'échantillonnage sont :

- La configuration des bassins versants d'assainissement ;
- La répartition géographique des populations ;
- Le degré d'impact de la COVID-19.

Les prélèvements ont été réalisés de façon bi-hebdomadaire de la façon suivante :

- Les lundis, au niveau des points: P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P14, P15 et **P19**.
- Les jeudis, au niveau des points: P8, P9, P10, P11, P12, P13, P16, P17, P18 et **P19**.

Durant la période étudiée, un ensemble de 1060 échantillons a été collecté.

a. De P1 à P18 : 53 échantillons ont été prélevés à partir de chaque point, soit une somme de 954 échantillons.
b. A partir de l'entrée STEP (P19) : 106 échantillons ont été collectés (vu qu'il était prélevé doublement par semaine).

L'échantillonnage s'est effectué par un préleveur automatique qui permet d'obtenir un échantillon d'un litre de volume de type composite de 24 heures.

Les eaux usées collectés pour la réalisation de cette étude sont des eaux usées non traitées.

Les échantillons ont été transportés au laboratoire de Virologie-bactériologie et biologie moléculaire de l'HMA de Marrakech dans des glacières à température entre 4°C et 8°C en moins de 8 heures.

Figure 7 : Les échantillons d'eaux usées prélevés par la RADEEMA.

TABLEAU I : Renseignements concernant les points de prélèvement des eaux usées à la ville de Marrakech (Source : la RADEEMA).

Points	Désignations de point de prélèvement	Zone concernée	Population desservie	Zones concernées
Points de Prélèvements partie Réseau EU				
P1	Regard de visite après déversoir d'orage souk RBAIAA	Sidi Youssef BEN ALI /Douar DLAM	**22830**	Sidi Youssef Ben Ali -Tassoultant II- Douar Koukou-Lotissement Ryad Ourika-
P2	Déversoir d'orage BAB LAKHMIS	Ancienne MEDINA (zone 1)	**11504**	Bab Dbagh-Bab Ghmat Bab Lakhmiss
P3	Déversoir d'orage JNAN Sidi BELAABAS	Ancienne MEDINA (zone 2)	**13660**	Bab Taghzout-Bab Doukala Jmaa Lafna
P4	Regard de visite près école SUP DE COMMERCE	Ancienne MEDINA (zone 3)	**22999**	Zone touristique Agdal – Kasbah- Mechouer-Berrima –Bab Hmar- Av Khalid Ben El oualid-Av Zektouni- Av Prince My Abdellah
P5	Avenue Abdelkrim Khatabi près LOT IKHTIYAR	ZONE DAOUDIAYT	**20953**	Lotiisements : Sakar-Belbakkar I et II – les unités I-II-III-IV et V-Boumasmar-Tallouj I et II –lotissement Zitouna
P6	Avenue Abdelkrim Khatabi près LOT ARSET SBAII	GUELIZ CENTER	**11246**	Guéliz Centre(Av Hassan II-Avenue Med V-Semlalia-Hivernage
P7	Regard de visite Pont Guenon	Zone ENNAKHIL	**16925**	Route de Fes -Ain Itti –(Douar El BOUN-Douar Tounasi)-El Fekhara-Quartiet El Massi-Tallaght-Ain Slim-Amelkis.
P8	Déversoir d'orage collecteur M	Zone Mhamid	**30248**	Lotissement Zerktouni- Zone M'hamid
P9	Intersection collecteur M rocade et avenue Nakhil	Zone Mhamid	**16241**	Lotissement : Annassim-Raha-Saada II et III-Hamza I et II- Imm Ittifaq- El Housna I et II
P10	Derrière usine GLACE (croisement Av Dakhla et route SAOUIRA)	Zone Massira (partie 1)	**16626**	Azli-Lotissement Ibn Tachafin-Azli Sud
P11	Collecteur O AVENUE DAKHLA	Zone Massira (partie 2)	**14277**	Lotissement Iziki-Douar Iziki –une partie de douar laaskar lakdim

P12	Intersection Coll M et route SAOUIRA	Zone Massira (partie 3)	**20741**	Sekouma-Berradi III-Douar Berrada-Arsat Lhaj Rahal
P13	Collecteur O au niveau de la Route de TARGA	Zone Massira (partie 4)	**7967**	Massira I et II – Douar Lharch-Inara- Lotissement Sofia –une partie du lotissement Palmie
P14	Collecteur I derrière usine SOMIA	Zone Palmier TARGA	**4417**	Ain MeZouar-Saada Bifra-Logement Sociaux millitaires
P15	DO collecteur T Chaba Ali BALI	Zone 114 extension Nord	**11017**	Av 4éme DMM (Zone Millitaire)
P16	Giratoire AZZOUZIA raccordement douar CHAAOUF	Zone AZZOUZIA (partie 1)	**68097**	Lotissement Masmoudi –Douar Sidi Mbark-Douar Azzozia –Douar Chaaouf
P17	Entrée Station de pompage AZZOUZIA	Zone AZZOUZIA (partie 2)	**7529**	Lotissement Azzouzia
P18	Hors Site collecteur les portes de Marrakech	Zone Portes de Marrakech	**18758**	Les Portes de Marrakech
P19	Boues primaires entré STEEP	Avoir une idée générale et convaincre les clients de réutilisation et les cimentiers en cas de réclamation sur la qualité des eaux épurées et les boues.	**336 035**	
P19	Boues primaires entré STEEP			
P19	Boues primaires entré STEEP			

2. La phase analytique :

Cette phase est réalisée par le personnel qualifié du laboratoire Virologie-bactériologie et biologie moléculaire de l'HMA à Marrakech.

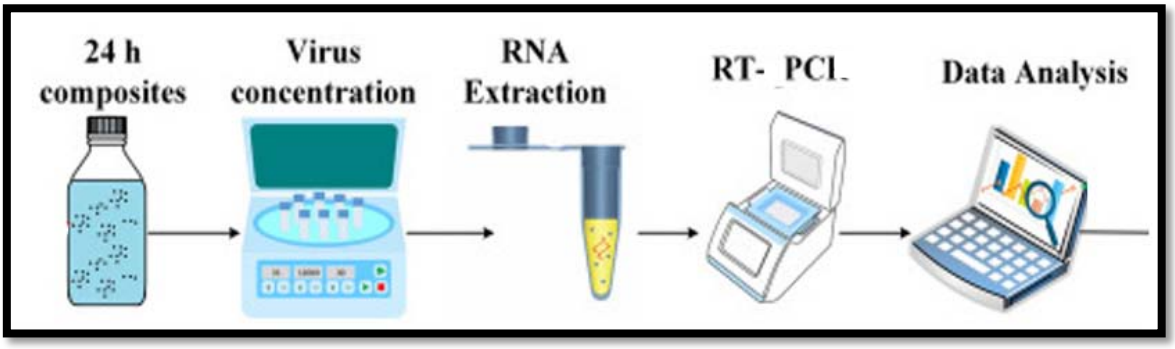


FIGURE 8 : Les étapes de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées.

2.1 La concentration de l'échantillon :

Une quantité de 200ml prélevée de chaque échantillon est déposée dans un tube à centrifuger conique. La quantité prélevée subit une centrifugation pendant 30 minutes à 6000 tours par minute (tpm). La centrifugeuse employée est : « Ohaus FC5816R Frontier™ 5000 Series Multi Pro Centrifuge ». L'objectif de cette étape est d'éliminer les grosses particules et les solides en suspension.

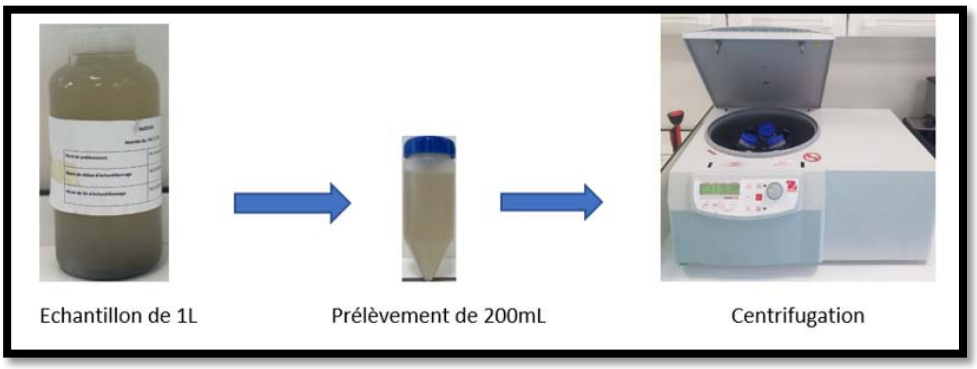


Figure 9 : La première centrifugation de l'échantillon.

Le surnageant, obtenu à la fin de la centrifugation, est filtré grâce à un système de filtration sous vide (Stericup® Merck millipore® Express plus 0,22 µm PES membrane), en s'aidant de l'aspiration. Ce système a pour avantage une filtration rapide avec un minimum de perte de protéines qui conditionne l'efficacité des étapes suivantes.

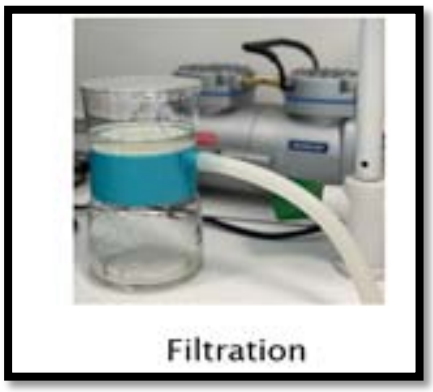


Figure 10 : La filtration de l'échantillon.

Ensuite, une quantité de 15ml du filtrat est versée dans des tubes Macrosep Pall® puis centrifugée à 5590tpm pendant 45minutes. Les tubes Macrosep Pall ® permettent une concentration rapide et efficace grâce aux membranes Oméga et polyethersulfone microporeuses dotées d'une capacité d'élimination des particules suspendues et de clarification importantes, avec une très faible liaison aux acides nucléiques.

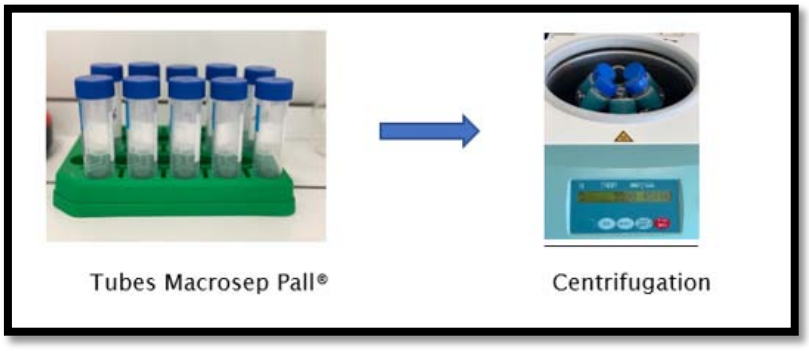


Figure 11 : La deuxième centrifugation de l'échantillon.

2.2 L'extraction de l'ARN :

2.2.1- La lyse mécanique :

Le filtrat concentré, obtenu au terme de l'étape précédente, doit d'abord subir une lyse de type mécanique pour libérer l'ARN viral. Pour ce, une quantité de 600 µl est introduite dans des MN Bead Tubes type A (Macherey-Nagel®)puis agitée au vortex pendant 30 secondes.

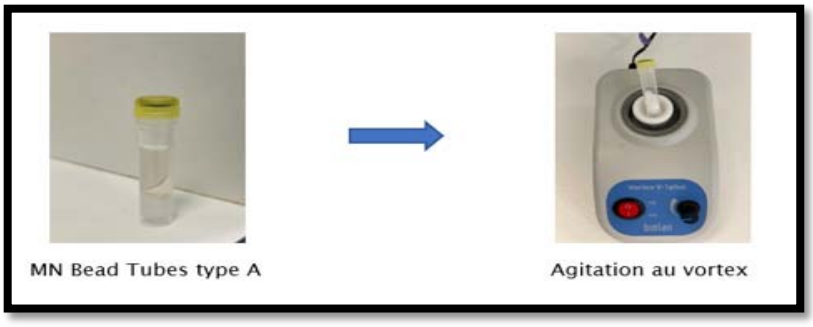


Figure 12 : Lyse mécanique de l'échantillon

2.2.2 L'extraction automatique :

Une quantité de 200 µl du lysat est utilisée pour extraire l'ARN selon le protocole de « Maxwell RSS viral total Nucleic acid purification kit®», à l'aide de l'appareil « Promega Maxwell extraction system RSC48 Instrument ® » en suivant les instructions du fabricant.

Cette étape dure 35 minutes.

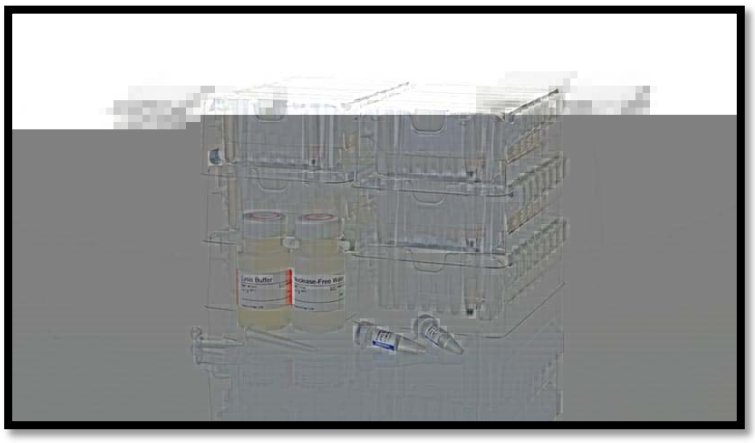


Figure 13 : Maxwell RSS viral total Nucleic acid purification kit®

Figure 14 : Promega Maxwell extraction system RSC48 Instrument ®

2.3 L'élimination des inhibiteurs de la PCR :

Ce processus est réalisé en suivant le protocole du kit OneStep™ PCR Inhibitor Removal (Zymo research) dont l'objectif est d'éliminer les inhibiteurs de la PCR présents en quantité importante au niveau des eaux usées. (Annexe 1)

L'utilisation de ce kit nécessite une préparation préalable ; puis l'ARN extrait y est ajouté et une dernière centrifugation à 16000tpm pendant 3min est réalisée. (Figure 15)

Figure 15 : OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit (Zymo research) .

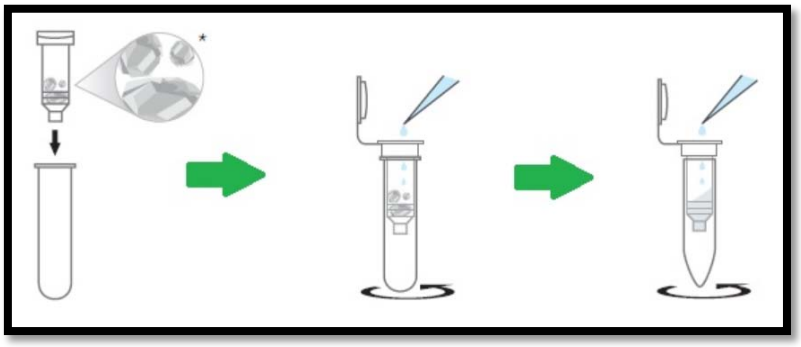


Figure 16 : Les étapes d'élimination des inhibiteurs de la PCR.

2.4 La RT-PCR spécifique au SARS-CoV-2 :

Le kit MAScIR SARS-CoV-2 M2.0 est le kit employé, il s'agit d'un test multiplex d'amplification in vitro destiné à la détection du SARS-CoV-2. C'est un kit 100% marocain validé au niveau national et international, il contient des amorces et des sondes qui ciblent le gène S et le gène RdRp du SARS-CoV-2.

2.4-1 Le mix réactionnel :

Ce kit contient :

- Un mix enzymatique (Mix1) : cocktail enzymatique + dNTP + tampon de réaction.
- Un mix des amorces et sondes (Mix 2) : S +RdRp + CI.
- Un contrôle positif (CP) : séquences contrôles : RdRp,S,CI.
- Et un contrôle négatif (CN) : eau ultrapure

Pour chaque test, un mélange réactionnel est préparé en combinant les différents composants :

→ Mix 1 + Mix 2 + ARN extrait

→ Mix 1 + Mix 2 + CP

→ Mix 1 + Mix 2 + CN

2.4-2 La RT-PCR

Les volumes réactionnels sont répartis dans une microplaque PCR adaptée au système d'amplification. Les paramètres de la RT-PCR sont programmés comme suit :

→ La transcription inverse : 50°C pendant 5 minutes.

→ L'activation : 95°C pendant 20 secondes.

→ La dénaturation : 95°C pendant 3 secondes.

→ L'élongation : 60°C pendant 30 secondes.

Le nombre de cycles est fixé à 40 cycles.

2.4-3 Les règles d'interprétation :

Le Ct, ou « Cycle threshold » est le nombre de cycles d'amplification nécessaires afin d'atteindre une valeur seuil de fluorescence, qui permet de déclarer que l'échantillon est positif au SARS-CoV-2.

-Un échantillon positif correspond à un Ct inférieur ou égal à 37, pour au moins un gène ciblé (S/RdRp).

- Un échantillon négatif correspond à un Ct supérieur à 37 ou Ct indéterminé (IND) , au niveau des deux gènes cibles .

Tableau II : Les règles d'interprétation de la RT-PCR.

Ct (RdRp)	Ct (S)	Interprétation
< 37	< 37	Positif
< 37	> 37 ou IND	Positif
> 37 ou IND	< 37	Positif
> 37 ou IND	> 37 ou IND	Négatif

Figure 17 : Le kit de la Rt-PCR : Masclr SARS-CoV-2.

Tableau III : Récapitulatif de la phase analytique de la recherche du SARS-CoV-2 dans les eaux usées.

Etape	Description
Prélèvement	- Prélèvement de 200mL d'eau usée de chaque échantillon.
Concentration	-Centrifugation à 6000tpm pendant 30minutes. -Filtration du surnageant dans un filtre millipore de 0,2µm en s'aidant de l'aspiration. -Concentration de 15ml avec un Macrosep Pall en centrifugeant à 5590 pendant 45minutes.
Lyse des échantillons concentrés	- Introduction de 600µl de l'échantillon concentré dans des MN Bead Tubes type A. -Agitation avec le vortex pendant 30secondes.
Extraction de l'ARN	Extraction automatique : - Réalisation de l'extraction de 300µl selon le protocole du Kit Promega sur le Maxwell.
Elimination des inhibiteurs de la PCR	- Selon le protocole OneStep™ PCR Inhibitor Removal (Zymo research)
RT-PCR	- utilisation du kit MAScIR SARS-COV-2 kit M 2.0

L'annexe 2 récapitule en images les étapes de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech.

Pour atteindre les objectifs de notre étude, les données suivantes ont été recueillies :

- Les valeurs du Ct de chaque gène (S et RdRp) dans chaque échantillon, pour :
  - → L'analyse qualitative : la détermination de la présence ou de l'absence du virus dans les eaux usées.
  - → L'analyse semi-quantitative : la description des tendances du virus.
- Le nombre de la population desservie par chaque station, fourni par la RADEEMA.
- Les cas infectés au SARS-CoV-2 cumulés par mois dans la ville de Marrakech.

RÉSULTATS

I. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech :

1. La fréquence de détection globale du SARS-CoV-2 :

Le SARS-CoV-2 a été retrouvé sur 923 échantillons (923/1060) ; soit une fréquence de détection de l'ordre de 87%.

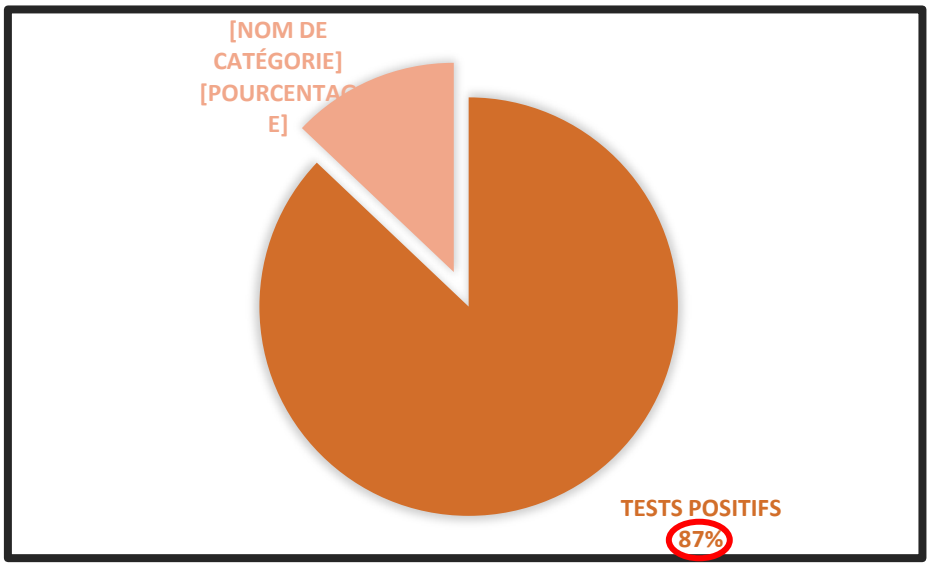


Figure 18 : La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech.

2. La fréquence de détection de chaque gène (S et RdRp) :

Le gène S a été détecté dans 97% des échantillons positifs au SARS-CoV-2, soit 898/923

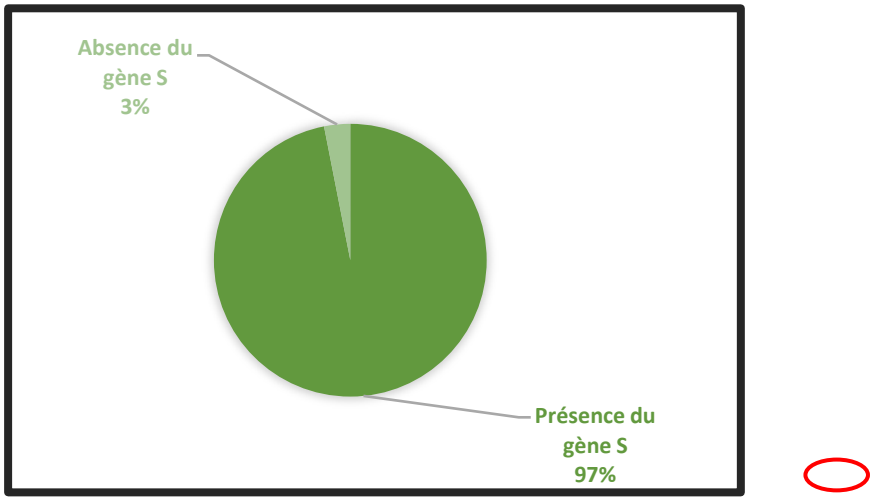


Figure 19 : La fréquence de détection du gène S.

Le gène RdRp a été détecté dans 85 % des échantillons positifs au SARS-CoV-2, soit 784/923.

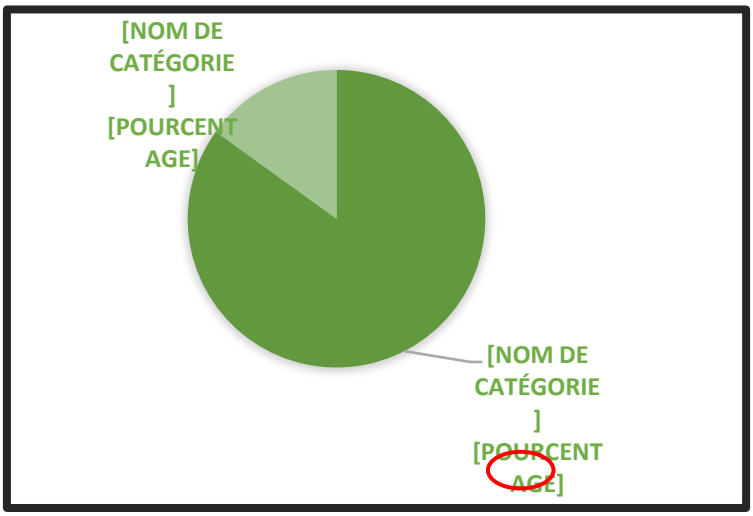


Figure 20 : La fréquence de détection du gène RdRp.

II. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 par point :

La fréquence de détection du SARS-CoV-2 a été déterminée dans chaque point de prélèvement séparément.

1. Au niveau des points de P1 à P18 :

1.1 La fréquence de détection :

La fréquence de détection variait entre 74% et 94%.

Le point le plus touché était le P12, il correspond à la zone « Massira (partie 3) » : « Sekouma, BerradiIII, Douar berrada, arsat lhaj rahal ».

Le point le moins touché était le P6, il correspond à la zone « centre Guéliz » : Av Hassan II, Avenu Med V, Semlalia et l'hivernage.

Tabeau IV : La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les points de P1 à P18.

Points	La fréquence de détection (%)
P1	85%
P2	85%
P3	87%
P4	87%
P5	87%
P6	74%
P7	83%
P8	87%
P9	87%
P10	87%
P11	91%
P12	94%
P13	84%
P14	83%
P15	87%
P16	91%
P17	89%
P18	87%

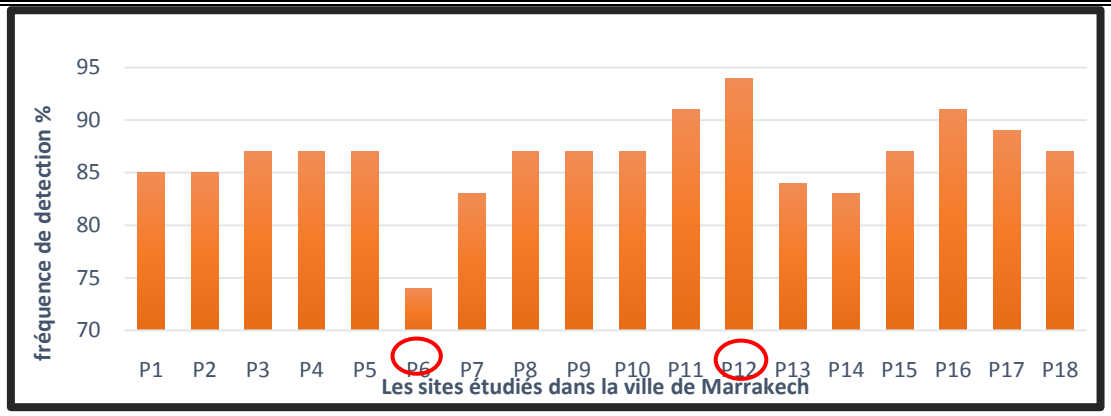


Figure 21 : La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les points de P1 à P18.

1.2 la population desservie par chaque point :

Les points de prélèvement desservent un nombre variable d'habitants allant de 4 417 à 68 079 habitants.

Le P16 dessert le plus grand nombre d'habitants.

Le P14 dessert le plus petit nombre d'habitants.

Tableau V : le nombre d'habitants desservis par chaque point : (Source : la RADEEMA)

Les points	Le nombre d'habitants
P1	22830
P2	11504
P3	13660
P4	22999
P5	20953
P6	11246
P7	16925
P8	30248
P9	16241
P10	16626
P11	14277
P12	20741
P13	7967
P14	4417
P15	11017
P16	68079
P17	7529
P18	18758

1.3 La relation entre la fréquence de détection et le nombre d'habitants par site:

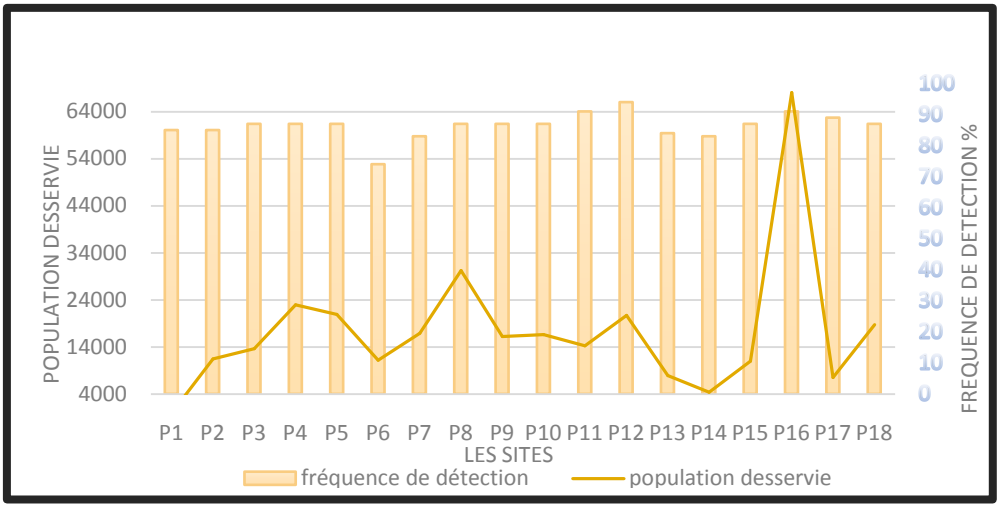


Figure 22 : La relation entre la fréquence de détection du SARS-CoV-2 et le nombre d'habitants par site.

2. Au niveau de l'entrée de la STEP (P19) :

Le SARS-CoV-2 a été détecté avec succès sur 99 échantillons (99/106), soit une fréquence de détection de l'ordre de 93 %.

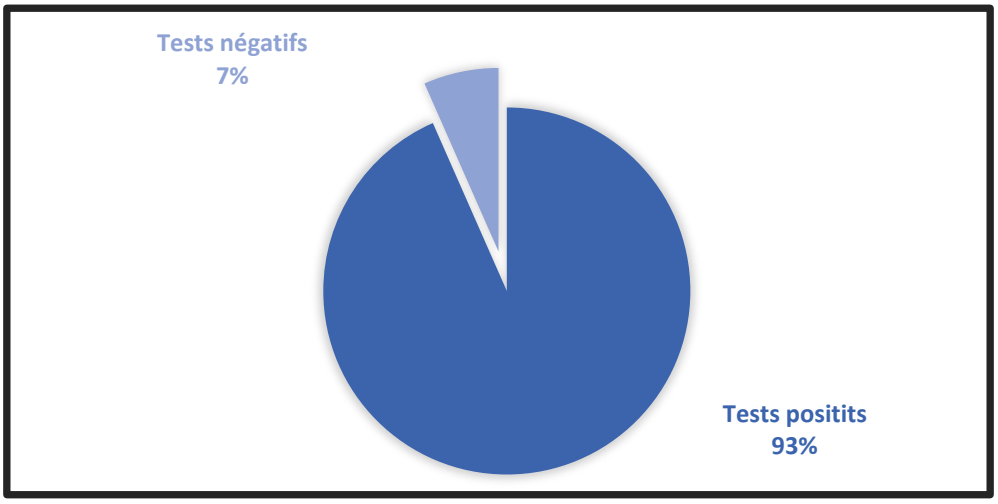
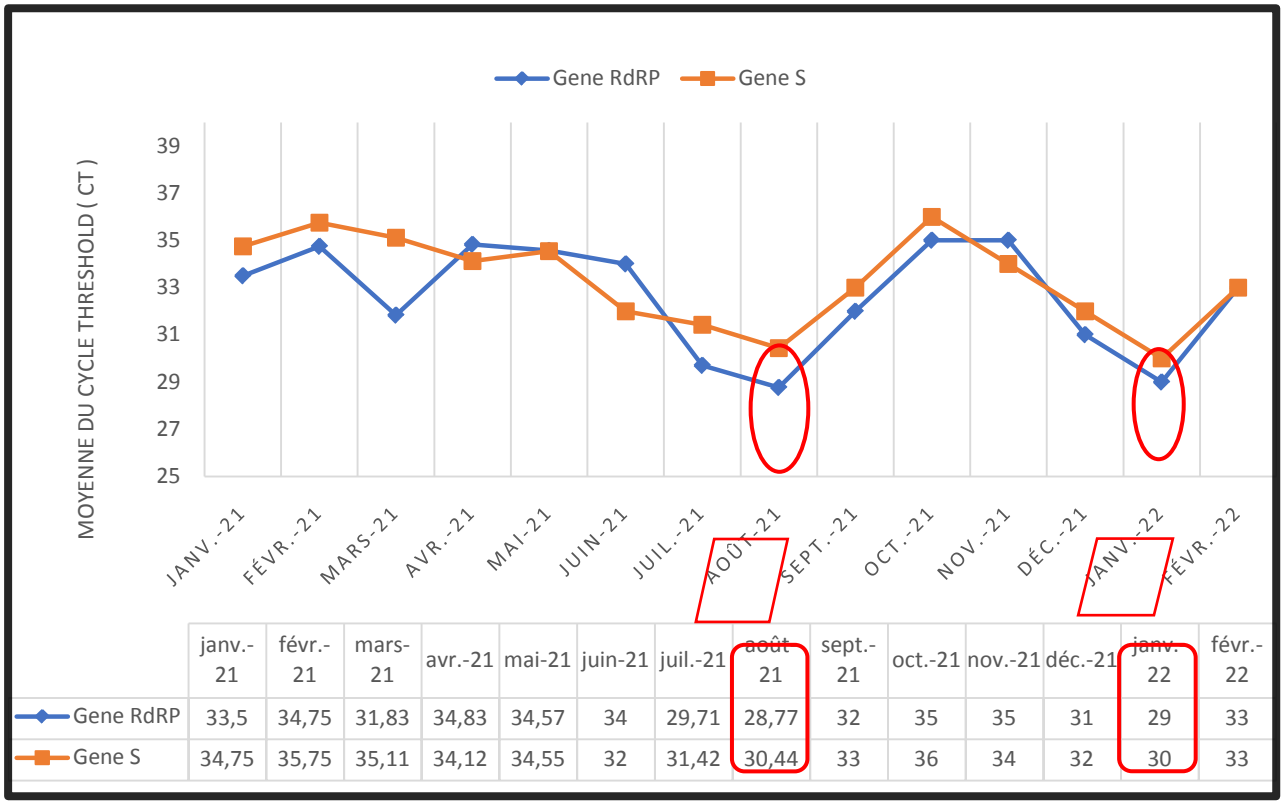


Figure 23 : La fréquence de détection dans l'entrée STEP (P19).

III. L'évolution de l'épidémie dans la ville de Marrakech à partir des résultats d'analyse des eaux usées :

Afin d'étudier l'évolution du SARS-CoV-2 dans la ville de Marrakech, le Point 19 a été choisi pour représenter la ville, vu que c'est le point qui regroupe toutes les eaux usées de la ville.

L'évolution du SARS-CoV-2 a été exprimée par l'évolution de la moyenne des Ct par mois.



	janv.-21	févr.-21	mars-21	avr.-21	mai-21	juin-21	juil.-21	août 21	sept.-21	oct.-21	nov.-21	déc.-21	janv.-22	févr.-22
Gene RdRP	33,5	34,75	31,83	34,83	34,57	34	29,71	28,77	32	35	35	31	29	33
Gene S	34,75	35,75	35,11	34,12	34,55	32	31,42	30,44	33	36	34	32	30	33

Figure 24 : L'évolution du SARS-CoV-2 dans la ville de Marrakech à travers l'analyse des eaux usées.

IV. L'évolution des cas de la maladie COVID-19 dans la ville de Marrakech :

Le nombre de cas cumulés par mois a été recensé à partir du bulletin épidémiologique quotidiennement publié dans le site officiel du Ministère de la santé au Maroc .[10]

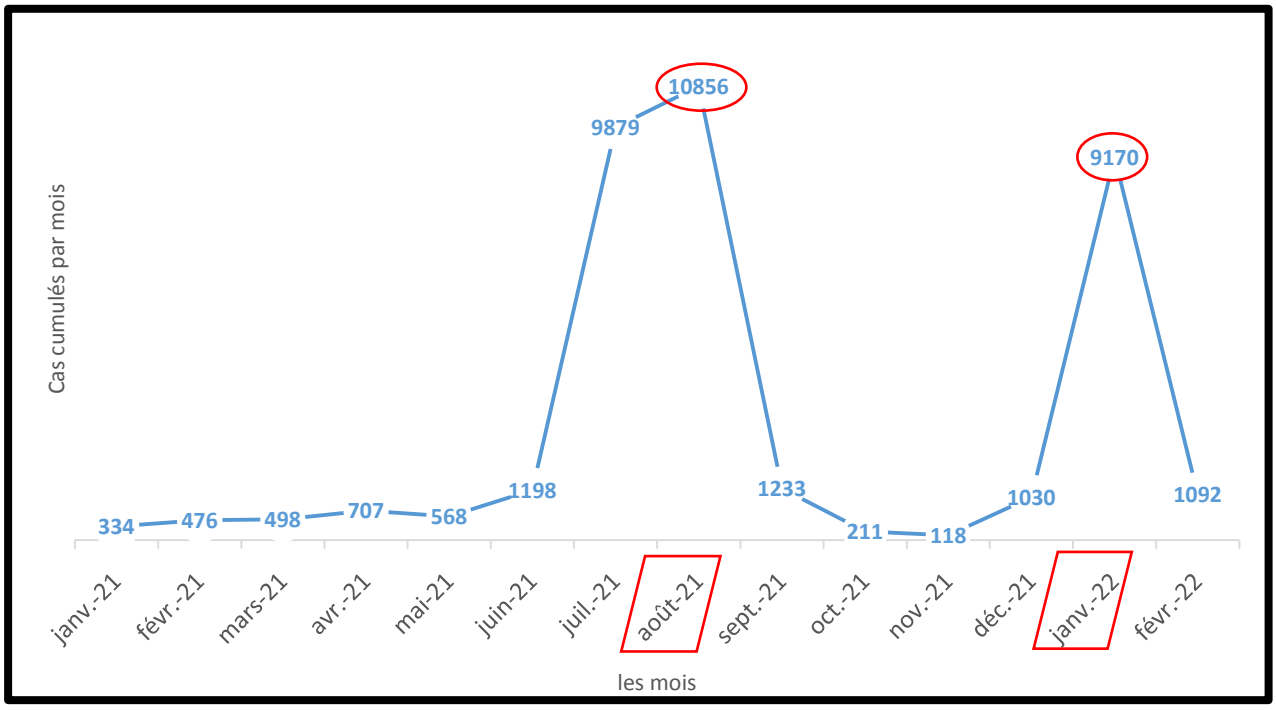


Figure 25 : L'évolution des cas COVID-19 cumulés par mois dans la ville de Marrakech.

V. La relation entre la dynamique du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et l'évolution des cas COVID-19:

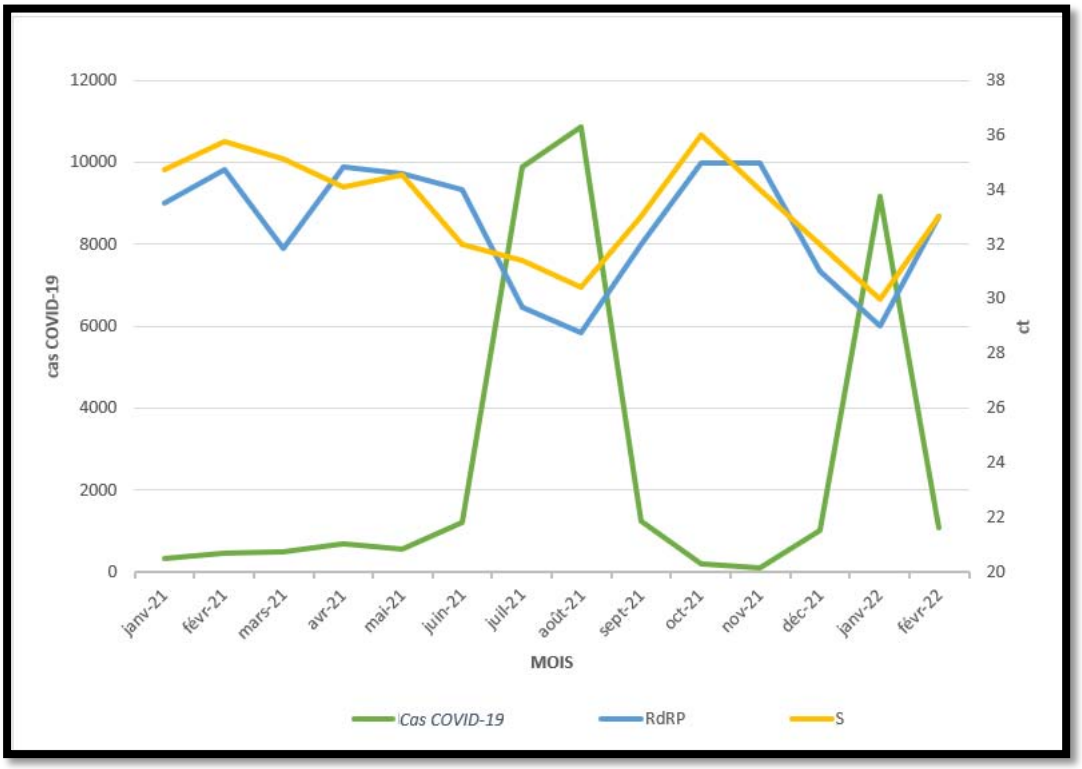


Figure 26 : La relation entre la dynamique du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et l'évolution des cas COVID-19.

VI. Le pouvoir anticipatif de la surveillance épidémiologique du SARS-CoV-2 à travers l'analyse des eaux usées :

Figure 27 : Le délai entre le début de la diminution des valeurs du Ct du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et le début de l'augmentation des cas COVID-19.

DISCUSSION

I. La situation épidémiologique mondiale :

La maladie Covid-19, propagée à tous les continents, constitue un réel danger pour la santé publique et la sécurité internationale.De ce fait, elle est placée au sommet des préoccupations des pouvoirs publiques.

A la date du 18/05/2022, l'infection au SARS-CoV-2 a touché 522 731 989personnes à travers le monde et a engendré6 269 187décès.

Le nombre de personnes complètement vaccinés est de 4 700 390 270 soit 60,4% de la popoulation mondiale .

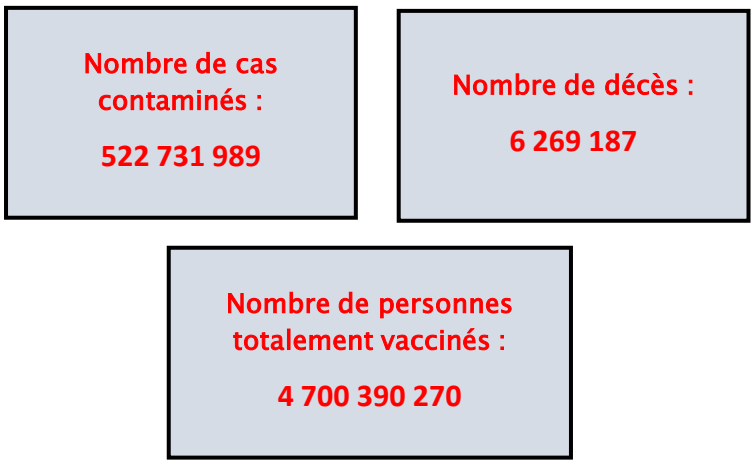


Figure 28 : La situation épidémiologique mondiale du début de la pandémie jusqu'au 18/05/2022. [11]

II. La situation épidémiologique au Maroc :

A la date du 18/05/2022, on dénombre 1 165 985 cas de contaminations et 16 071 décès liés au SARS-CoV-2 recensés depuis le début de la pandémie.

Dans notre pays, la compagne de la vaccination anti-COVID a commencé le 28/01/2021.

A la date du 18/05/2022,24 816 345 personnes ont reçu leur première dose, 23 295 957 personnes ont reçu leur deuxième dose et 6 319 183personnes ont reçu leur troisième dose.

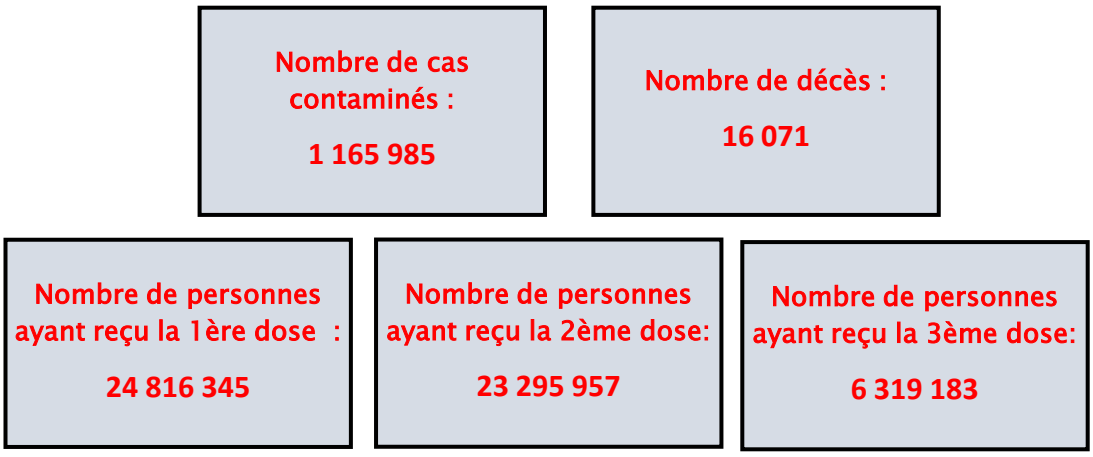


Figure 29 : La situation épidémiologique au Maroc depuis le début de l'épidémie jusqu'au 18/05/2022.[10]

III. La phase entérique du SARS-CoV-2 :

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN qui touche principalement les voies respiratoires. Il engendre des pneumonies allant de formes bénignes aux formes fatales.

Néanmoins, le cycle viral admet également une phase entérique qui aboutit à la libération du virus dans les selles. [12]

Figure 30 : Le tube digestif est une cible du SARS-CoV-2. [13]

En effet , une étude récente a rapporté que le SARS-CoV-2 infecte les cellules épithéliales glandulaires gastro-intestinales [14] .L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2

(ACE2) qui est connue pour être le récepteur cellulaire du SARS-CoV-2[15] est abondamment exprimé dans l'intestin grêle [16].

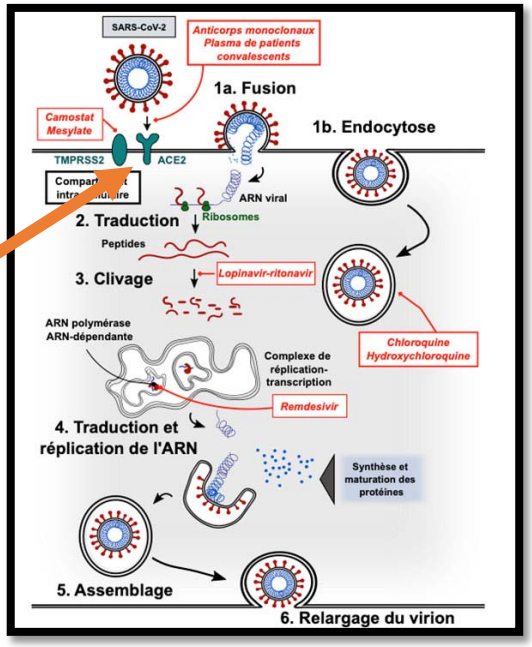


Figure 31 : Le cycle infectieux du SARS-CoV-2 au niveau des organes exprimant le récepteur cellulaire ACE. [17]

La phase entérique s'exprime cliniquement chez 2 à 10 % des patients atteints de la maladie COVID-19. [18][19]

Figure 32 : Les signes digestifs de la maladie COVID-19. [20]

L'ARN viral a été détecté dans des échantillons d'excréments et des écouvillons anaux/rectaux avec une fréquence de détection qui varie considérablement. [21][22][3][23][24][25]

Tableau VI : La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les selles .

Specimen	Country	Method	Positive rate	Remarks	Reference
Feces or anal/rectal swab	China	qPCR	14/31 (45%)		(W. Zhang et al., 2020b)
		qPCR	8/22 (36%)		(J. Zhang et al., 2020)
		qPCR	9/17 (53%)	Day 0–11; 550–1.21 × 10^5 gene copies/mL	(Pan et al., 2020)
		qPCR	8/10 (80%)	Pediatric patients; Positive for a mean of 21 (range: 5–28) days	(Y. Xu et al., 2020a)
		qPCR	5/6 (83%)	Day 3–13	(Jiehao et al., 2020)
		qPCR	54/66 (82%)		(Ling et al., 2020)
		qPCR	39/73 (53%)		(Xiao et al., 2020)
		qPCR	1/1 (100%)	Asymptomatic	(A. Tang et al., 2020a)
		qPCR	41/74 (55%)	Positive for a mean of 27.9 days (range: 8–48)	(Y. Wu et al., 2020a)
		qPCR	12/19 (63%)		(Chen et al., 2020c)
		qPCR	10/10 (100%)		(Lo et al., 2020)
		Cell culture	1/1 (100%)	Culturable virus isolated	(Zhang et al., 2020a)
		qPCR	44/153 (29%)		(W. Wang et al., 2020c)
		Cell culture	2/4 (50%)	Culturable virus isolated	
	USA	qPCR	1/1 (100%)	Day 7	(Holshue et al., 2020)
	Singapore	qPCR	4/8 (50%)		(Young et al., 2020)
	Germany	qPCR	8/9 (89%)	Up to 10^8 copies/g-feces	(Wölfel et al., 2020)
		Cell culture	0/4 (0%)	No culturable virus isolated	
	France	qPCR	2/5 (40%)	6.3 × 10^5–1.3 × 10^8 gene copies/g-feces	(Lescure et al., 2020)

L'ARN du SARS-CoV-2 a été détecté également dans les fèces d'individus asymptomatiques.[3][23][4][26][27]

La durée de l'excrétion virale varie selon les patients avec des moyennes de 14 à 21 jours [28][29]. Cette durée est plus longue que dans les voies respiratoires .[30]

La quantité excrétée du virus peut varier considérablement de 10^2 à 10^8 copies d'ARN par gramme. [23][31][32]

La découverte de l'ARN viral dans les selles n'implique pas que le virus soit viable et infectieux. Cependant, il faut adopter les mesures d'hygiène nécessaires pour lutter contre une éventuelle transmission féco-orale.

Au total, la détection du SARS-CoV-2 (le virus viable ou l'ARN viral) dans les selles est une arme à double tranchant. D'un côté, elle a donné naissance à l'idée de le chercher dans les eaux usées. D'un autre côté, elle a réveillé les soupçons sur un éventuel risque de transmission féco-orale et à partir des eaux usées.

La surveillance du SARS-CoV-2 dans les eaux usées pourrait être avantageusement exploitée comme outil complémentaire pour étudier la circulation du virus dans les populations humaines.

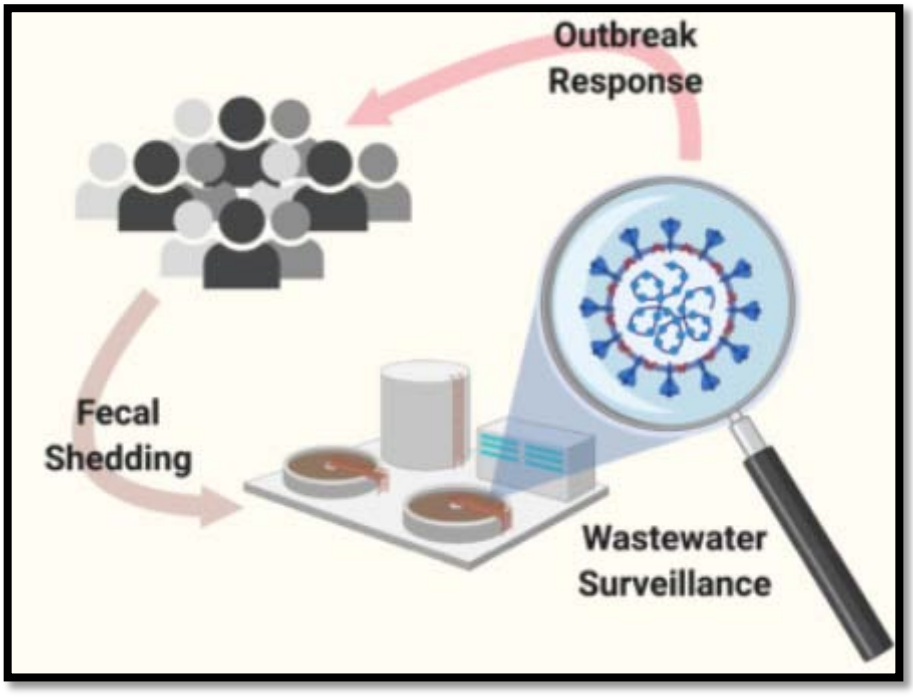


Figure 33: L'épidémiologie basée sur les eaux usées.

IV. L'épidémiologie basée sur les eaux usées (Wastewater Based Epidemiology : WBE) :

1. La surveillance épidémiologique de la maladie COVID-19 :

Les épidémies virales nécessitent un suivi d'indicateurs fiables et pertinents, afin de gérer au mieux la circulation du virus et d'éviter un rebond dangereux des contaminations.

Durant la pandémie du SARS-CoV-2, le suivi de la dynamique virale au sein de la population par les approches centrées sur l'individu s'est révélé peu pratique, coûteux et fortement influencé par les porteurs asymptomatiques.

Dans ce contexte, d'autres indicateurs de suivi épidémiologique global ont été proposés. La recherche du virus dans les eaux usées, via des outils de biologie moléculaire, s'est très vite révélée comme un indicateur de suivi de la Covid-19 innovant et objectif.

Cet indicateur est recommandé par l'Union européenne depuis mars 2021. [33]

2. Principe de l'épidémiologie basée sur les eaux usées :

En principe, les eaux usées collectives représentent des échantillons de matière fécale et d'urine anonymes provenant de milliers de personnes.

L'approche WBE se base sur le fait que les excrétions humaines résultantes de l'exposition à des composés chimiques étrangers (par exemple : drogues illicites, toxiques alimentaires et environnementaux et agents infectieux) sont collectées et mises en commun par le réseau d'égouts

Ceci fournit une idée précise de la quantité et du type de composés chimiques (xénobiotiques) auxquels une population a été exposée.

Cette méthode permet de collecter des informations sur l'exposition aux agents externes et aux maladies définies dans des groupes de population sans recourir à des dépistages individuels.

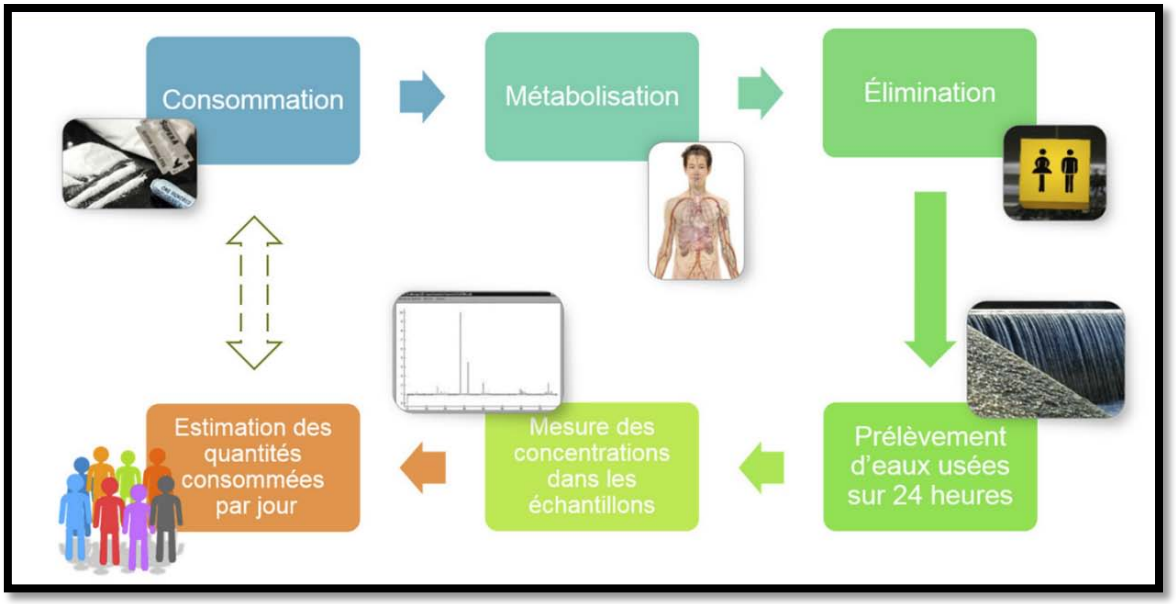


Figure 34 :Le principe de l'épidémiologie basée sur les eaux usées. [34]

3. Les domaines d'application de la WBE :

La WBE est appliquée dans plusieurs domaines notamment dans la consommation de drogues illicites ,l'usage/l'abus de produits pharmaceutiques, la pollution de l'eau et l'apparition de gènes de résistance aux antimicrobiens [35][36][37][38] .

Plus récemment cette discipline s'est étendue à la détection et l'évaluation de la prévalence de l'exposition à des composés chimiques comme les phtalates et pesticides, et même à la détection de biomarqueurs liés au diabète ou au cancer.

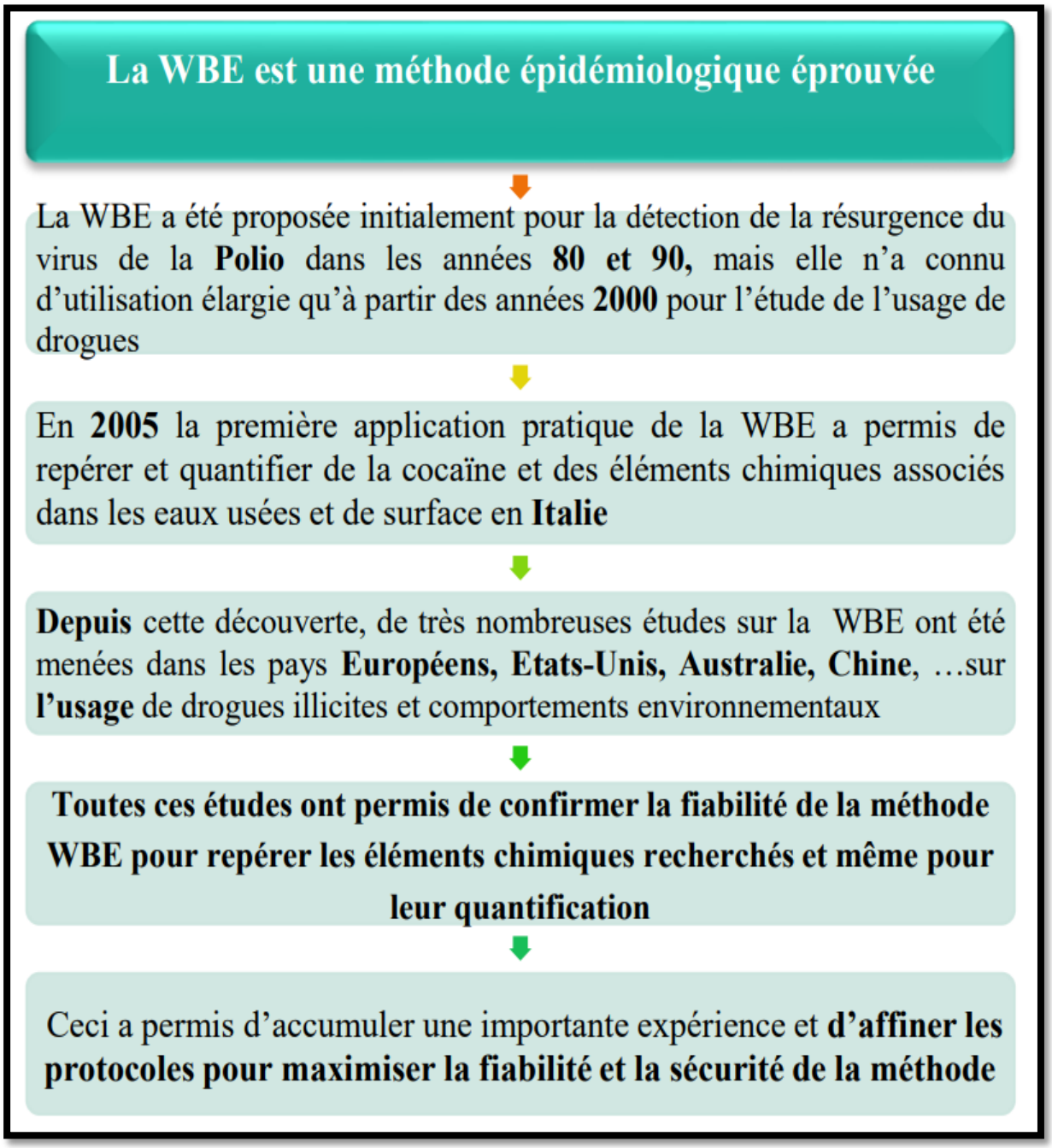


Figure 35 :L'histoire de la WBE (Source : rapport reçu du Ministère de l'intérieur)

4. Les applications de la WBE en virologie :

En virologie,la WBE a été utilisée pour faire progresser notre compréhension de l'émergence et de l'épidémiologie des virus pathogènes tels que les virus entériques (par exemple , les norovirus) [9][39][40], le virus de l'hépatite E zoonotique réémergent [41][42] , et le poliovirus au cours du programme d'éradication [43].

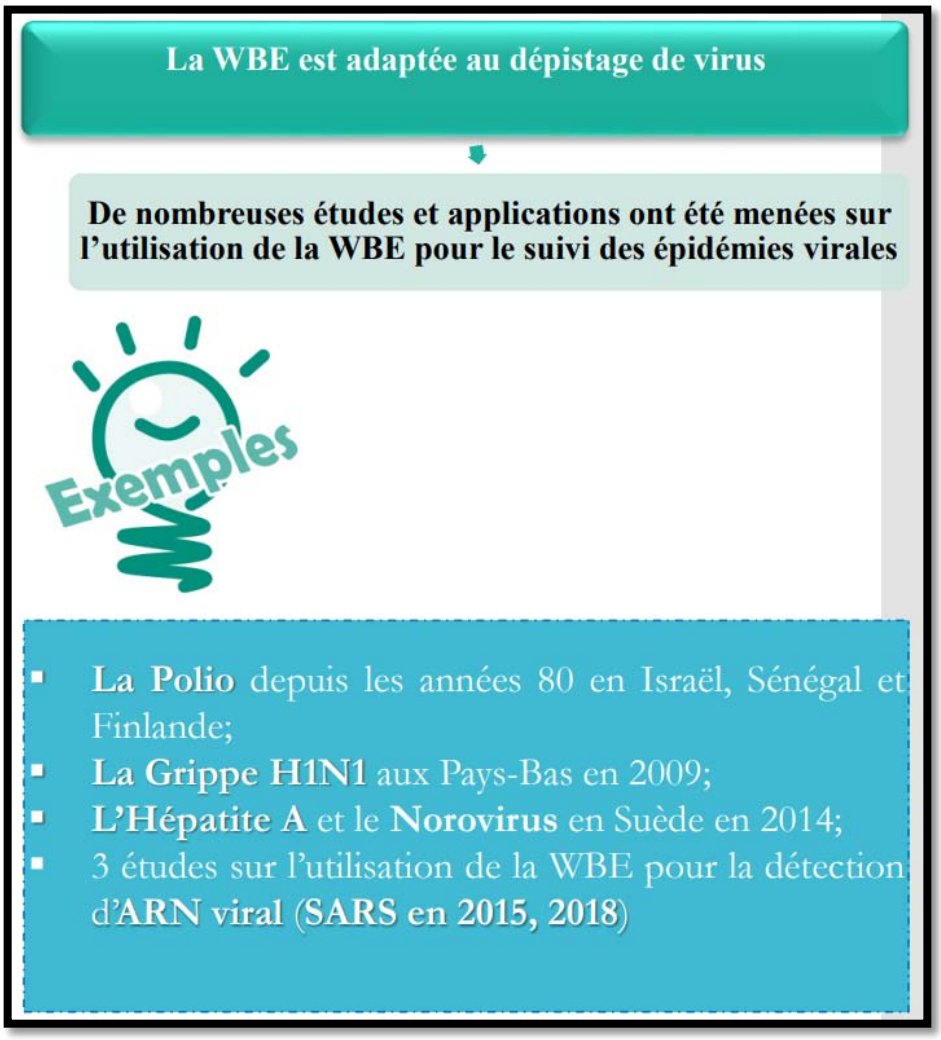


Figure 36 : L'application de la WBE en virologie. (Source : rapport reçu du Ministère de l'intérieur)

5. L' application de la WBE dans le contexte de la maladie COVID-19:

Actuellement, diverses études ont recherché l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées à travers le monde.

Figure 37 : Carte géographique indiquant les pays ayant appliqué la WBE dans le contexte de la maladie COVID-19 à travers le monde .[44]

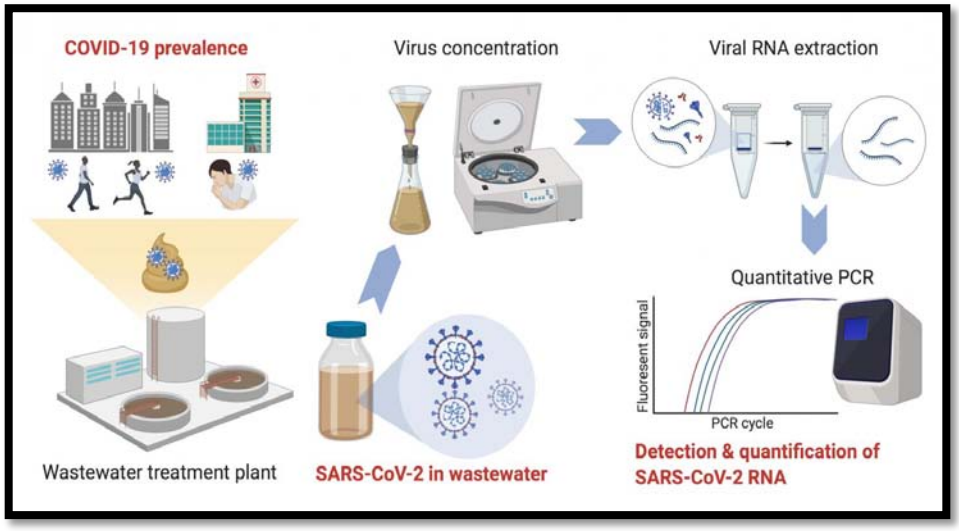


Figure 38 : Le concept de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées (de Masaaki Kitajima/Biorender (2020))

6. Les avantages et les apports de la WBE :

Sur la base des expériences menées, la WBE s'est avérée avantageuse sur plusieurs plans.

L'épidémiologie basée sur les eaux usées permet de réaliser :

- ➔ Une analyse qualitative : déterminer la présence ou l'absence du virus dans les eaux usées desservant une population ;
- ➔ Une analyse semi-quantitative : exprimer les tendances globales de l'infection au sein de la population en interprétant les valeurs du Ct ;
- ➔ Une analyse quantitative : mesurer la charge virale ; c'est le nombre de copies d'ARN viral par millilitre ;
- ➔ Un séquençage de l'ARN viral détecté afin d'identifier d'éventuelles mutations et de rechercher de nouveaux variants.

Techniquement, Il s'agit d'un outil non invasif et le recueil des échantillons est relativement plus simple par rapport aux prélèvements individuels.

Sur le plan économique et financier, cette méthode est peu coûteuse ; elle permet d'étudier un grand nombre d'individus en ayant recours à de faibles ressources techniques et humaines. En guise d'exemple, un échantillon de 1 litre prélevé automatiquement peut renseigner sur l'état de la circulation du virus parmi des millions d'habitants.

Ethiquement,ce moyen ne touche pas aux libertés individuelles, limitant ainsi les problèmes éthiques.

En termes de veille épidémiologique, cette approche est dotée d'un pouvoir anticipatif ; elle octroie une marge d'avance :

- ➔ Aux autorités, pour mieux adapter leurs stratégies de riposte et leurs mesures de protection sanitaire ;
- ➔ Aux responsables et professionnels de santé, pour fournir les ressources humaines et techniques nécessaires au niveau des établissements de soin ;
- ➔ Aux citoyens, pour se préparer à un éventuel confinement ou à une limitation des déplacements entre les villes avec moins de dégâts secondaires aux décisions imprévisibles (embouteillages, accidents de la voie publique, les grands rassemblements dans les centres commerciaux …).

Ce pouvoir anticipatif permettra de diminuer le taux d'incidence de l'infection, le taux de létalité et de minimiser les perturbations socio-économiques.

Les prélèvements réalisés sont répartis sur les différentes zones de la ville. Ceci permet d'identifier les points chauds (hotspots)de l'infection et de les isoler des zones exemptes de virus. Par conséquent, le confinement ciblera un ou quelques quartiers au lieu de l'appliquer à toute une ville et d'engendrer de lourdes répercussions.

Les porteurs de virusasymptomatiques, paucisymptomatiques et présymptomatiques excrètent le virus dans les selles. Ce groupe d'individus contribue à la circulation du virus tout en restant indétectable par la surveillance clinique. Ce phénomène est connu sous le nom de la pyramide de surveillance (figure 38).[45] L'approche individuelle ne capte alors que le sommet de l'iceberg (les personnes symptomatiques diagnostiquées au laboratoire) , tandis que la surveillance des eaux usées permet de saisir toute l'étendue de la maladie au niveau communautaire [46] .

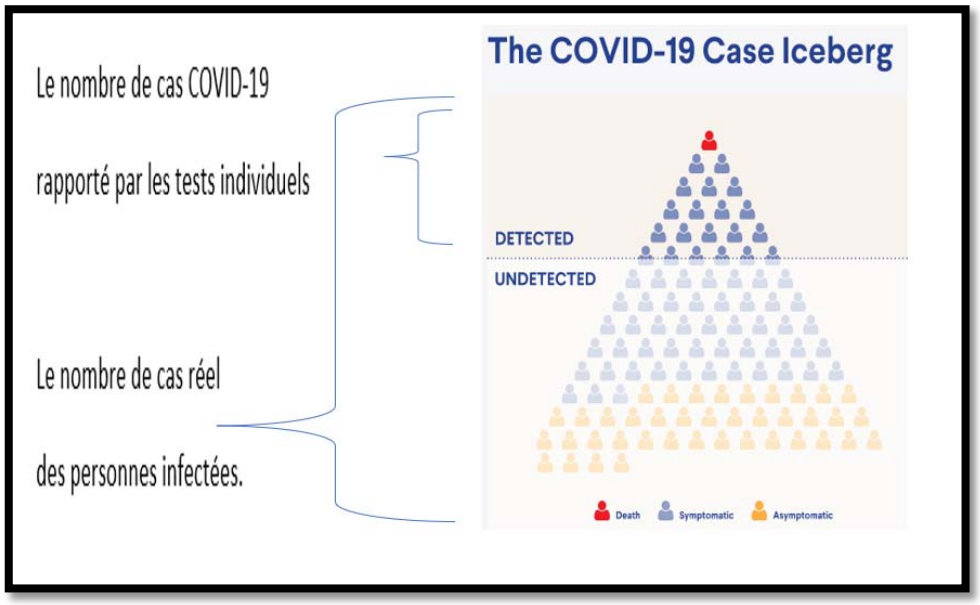


Figure 39 : la pyramide de surveillance de la maladie COVID-19 [47] modifiée

7. Les limites de la WBE :

La WBE présente quelques limites :

- ✓ Les eaux usées sont pleines d'impuretés et d'inhibiteurs qui perturbent les réactions moléculaires, même si divers protocoles et procédés sont introduits dans le protocole pour les nettoyer.
- ✓ Les évènements météorologiques tels que la pluie peuvent diluer la charge virale dans les eaux usées surtout dans les zones à faible prévalence et être responsables de résultats faux négatifs.
- ✓ Certains lieux ne sont pas raccordés au réseau sanitaire et ne peuvent pas être étudiés par cette approche.
- ✓ Le manque d'informations sur la fréquence des personnes infectées qui excrètent le virus et sur la quantité du virus excrétée par chaque individu. Ceci complique l'aboutissement à des modélisations mathématiques qui permettront de convertir la charge virale en nombre d'individus infectés.

DISCUSSION DE NOS RESULTATS :

I. La détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech :

Dans notre étude, nous avons réussi à détecter le SARS-CoV-2 dans les eaux usées non traitées de la ville de Marrakech.

Plusieurs études menées à l'échelle internationale, ont également détecté le SARS-CoV-2 dans les eaux usées. (Figure 36 et Tableau VII).

Tableau VII : les études ayant détecté le SARS-CoV-2 dans les eaux usées (liste non exhaustive) :

PAYS	Référence
Pays bas	[48]
Australie	[49]
France -Paris	[50]
Espagne	[51]
Italie	[46]
Chine	[52]
États-Unis - Louisiane	[53]
Japan	[54]
France-Montpellier	[55]
Afrique du sud	[56]
Tunisie	[57]
Allemagne	[58]
Ukraine	[59]
Inde	[60]
Brésil	[61]
Emirates arabes unis	[62]
Tehran- Iran	[63]
Turquie-Istanbul	[64]
Qatar	[65]
Tchèque	[66]
Finlande	[67]
MAROC -Marrakech	Notre étude

A l'échelle nationale, trois autres études ont été menées en parallèle à la nôtre dans les villes deCasablanca, Fès et Tanger. Ces études nationales ont également réussi à détecter le SARS-CoV-2 dans les eaux usées selon une note de synthèse reçue de la part du ministère de l'intérieur.

Le nombre des études réalisées dans ce sens est important et il est toujours en augmentation. Ceci démontre l'importance de l'épidémiologie basée sur les eaux usées dans la surveillance de la circulation du SARS-CoV-2 au sein d'une population.

II. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech :

Nous déclarons un échantillon positif au SARS-CoV-2 quand au moins un des deux gènes cibles est détecté (S ou RdRp). Dans notre étude, la fréquence de détection est de 87% soit 923/1060.

Le tableau VIII montre la fréquence de détection obtenue dans d'autres études.

Tableau VIII : La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées obtenue dans d'autres études :

Pays	Fréquence de détection	Référence
Pays bas	58 % (14/24)	[68]
Australie	22 % (2 / 9)	[49]
France – Paris	100 %	[50]
Espagne – Murcia	83 % (35 /42)	[51]
Italie	50 % (6/12)	[46]
États-Unis- Louisiane	13 % (2/15)	[53]
Allemagne	100 % (9/9)	[58]
Iran	81,8 % (9/11)	[63]
Tunisie	Deux périodes différentes : - la 1ère : 61,1 % (11/18) - la 2ème : 25 % (8 /13)	[57]
Turquie	100 % (9/9)	[64]
Maroc	87 % (923/1060)	Notre étude

Notre résultat et les différents résultats rapportés par les autres études, susmentionnées dans le tableau, sont très variables.

Les facteurs suivants peuvent expliquer cette différence :

a) Le moment et le lieu de l'étude : l'état de la pandémie (en vague ou en inter-vague) et le niveau de restriction (confinement,déconfinement, couvre-feu, port de masque…) au moment de la réalisation de l'étude dans un pays ou une ville.

b) Le nombre de cas positifs dans la zone étudiée : Selon une étude japonaise[69], lorsque le nombre de cas confirmés dépasse 10/10 000 , la fréquence de détection augmente. Au-dessous de ce seuil (10/10 000), elle diminue.

c) La taille de l'échantillon.

d) Le type de l'échantillon ponctuel ou composite de 24h. L'échantillon ponctuel peut sous-estimer la présence du virus quand le prélèvement est réalisé à un moment de la journée où la quantité du virus excrétée est faible. Cependant l'échantillon composite de 24h couvre toute la journée.

e) La nature des eaux usées : elles sont classées en eaux usées non traitées, secondairement traitées et effluents finaux.

i. Le SARS-CoV-2 a toujours été détecté dans les eaux usées non traitées.

ii. Dans les eaux usées secondairement traitées :

- → Kumar et al.[60],Hasan et al.[70], Sherchan et al. [53] et Balboa et al.[71] n'ont pas pu détecter le virus.
- → Cependant Wurtzer et al.[50], Westhaus et al. [58], Haramoto et al. [54] , Tanhaei et al. [63] et Baldovin et al. [72]ont réussi à le détecter.

iii. Aucune étude n'a détecté le virus dans les effluents finaux.

f) La méthode de concentration : une palette de techniques de concentration a été implémentée dont : séparation en deux phases (méthode PEG-dextran), ultrafiltration par centrifugeuse, adsorption-extraction utilisant une membrane électronégative suivie d'une ultrafiltration par centrifugeuse, adsorption-précipitation de l'hydroxyde d'aluminium. (Tableau IX)

g) La stratégie d'extraction : l'extraction peut être manuelle ou automatique.

h) La procédure d'élimination des inhibiteurs de la PCR présents dans les eaux usées.

i) Les tests RT-PCR, les gènes qu'ils ciblent (N,S,RdRp,ORF, M …) et la sensibilité et la spécificité des amorces/sondes employées.

Tableau IX : La méthode de concentration employée dans d'autres études.

Pays	Méthode de concentration	Référence
Pays bas	Ultrafiltration	[68]
Australie	2 méthodes : -adsorption-extraction -ultrafiltration	[49]
Espagne	Adsorption-précipitation de l'hydroxyde d'aluminium	[51]
Italie	Séparation en deux phases (Méthode PEG-dextran)	[46]
USA Louisiana	2 méthodes : - Ultrafiltration -adsorption-élution utilisant une membrane électronégative.	[53]
Japan	Membrane électronégative Adsorption-extraction	[54]
Japan	PEG - précipitation	[69]
Maroc	Ultrafiltration	Notre étude

III. La RT-PCR spécifique au SARS-CoV-2 :

1. Le kit d'amplification utilisé :

Nous avons recherché l'ARN viral par RT-PCR en utilisant le kit MAScIR SARS-CoV-2 M 2.0. C'est un kit 100 % marocain validé à l'échelle nationale et internationale.

La plupart des études , notamment [51],[53],[54],[56],[68],[69] et [73], ont opté pour le kit de diagnostique fourni par les centres de contrôle et de prévention des maladies (centers for disease control and prevention : CDC) car il est conçu spécialement pour la détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées .

2. Les gènes ciblés :

Le kit que nous avons employé cible le gène S et le gène RdRp.

Rosa et al.[46] et Haramoto et al.[54] ont également ciblé le gène S.

Rosa et al.[46], Wurtzer et al.[50], Jmii et al.[57], Westhaus et al. [58] ont également ciblé le gène RdRp.

La plupart des études [68], [49],[51],[53],[54],[55],[56] et[57] ont choisi de cibler le gène N.

Cependant, Westhaus et al. [58] ont montré que le N est moins spécifique.

Le tableau X montre les gènes ciblés par chaque étude.

Tableau X : les gènes ciblés dans d'autres études .

Pays	Gènes	Référence
Pays bas	CDC N1 N2 N3 E_SARBECO	[68]
Australie	N_SARBECO NIIID_2019nCOV_N	[49]
France Paris	E RdRp	[50]
Espagne	CDC N1 N2 N3	[51]
Italie	ORF1ab,RdRp,S	[46]
États-Unis Louisiane	CDC N1, N2	[53]
Japan	N_SARBECO NIIID_2019-nCOV_N CDC N1, N2 ORF1a,S	[54]
Japan	CDC N2, N3 NIIID_2019-nCOV_N	[69]
France Montpellier	CDC N1, N3	[73]
Sud d'Afrique	CDC N1,N2	[56]
Tunisie	E,N, RdRp	[57]
Allemagne	M,RdRp	[58]
Maroc - Marrakech	S,RdRp	Notre étude

3. La fréquence de détection de chaque gène cible (S et RdRp) :

Le gène S a été détecté dans 97% des échantillons positifs au SARS-CoV-2. Le gène RdRp a été détecté dans 85% de ces échantillons.

Nous pouvons déduire que l'amorce/sonde S est plus sensible que l'amorce/sonde RdRp.

Ce résultat ne concorde pas avec celui rapporté par une étude italienne qui a trouvé que l'amorce/sonde RdRp est plus sensible que l'amorce/sonde S . [46]

L'écart observé dans notre étude entre la sensibilité des amorce/sonde utilisées est également rapporté par Medema et al.[68] , Rosa et al.[46] , Randazzo et al.[51] et Westhaus et al.[58]

Cet écart est expliqué par les raisons suivantes :

- La sensibilité et la spécificité de chaque amorce/sonde .
- L'absence de l'un des gènes ciblés dans l'échantillon .[69]
- Les séquences des amorces/sondes sont partiellement identiques aux séquences ciblées du SARS-CoV-2.[69]
- Les inhibiteurs de la PCR présents dans les eaux usées . [51]
- La faible concentration du gène cible [49].
- La possibilité de présence de faux positifs [69].Cette hypothèse peut être exclue par le séquençage des amplicons . [74]

IV. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 par point :

Dans notre étude , nos échantillons ont été prélevés à partir de 19 sites de la ville.

Nous avons déterminé la fréquence de détection du SARS-COV-2 dans chaque site séparément. Elle variait entre 74% et 94% .

Le point le plus touché était le P12 , il correspond à la zone « Massira (partie 3) » : « Sekouma ,Berradi III , Douar Berrada , arsat l'Haj Rahal ». Il dessert 20 741 habitants. C'est une zone de quartiers populaires caractérisés par un faible niveau socio-économique.

Le point le moins touché était le P6 , il correspond à la zone « centre Guéliz » : « Avenu Hassan II , Avenu Mohamed V , Semlalia et l'hivernage » . Il dessert 11 246 habitants et il s'agit d'une zone d'un haut niveau socio-économique.

Dans les points P3, P4, P5, P8, P9, P10, et P15 , nous avons trouvé la même fréquence de détection (87%). Ces points desservent un nombre d'habitants variable (13 660, 22 999, 20 953 ,30 248, 16 241, 16 626, 11 017 respectivement), mais dont le niveau socio-économique est plus au moins rapproché.

Dans notre étude, nous avons remarqué que le nombre d'habitants n'influence pas la fréquence de détection par site (figure20), probablement du fait des mouvements de la population entre les zones. Ce lien sera donc mieux apprécié dans une période de confinement

Par contre, le niveau socio-économique et culturel des habitants influence la fréquence de détection. En effet , la vie sociale diffère entre les quartiers « populaires » et les quartiers « bourgeois ». Ces derniers ont des contacts limités entre eux et respectent plus les mesures de restriction et la distanciation sociale, ce qui diminue la propagation du virus au sein de leur zone.

Notre résultat concorde avec les études menées par Backer et al. [75], Singu et al.[76] , Bustrom et al.[77] et Abrams et al . [78] qui ont montré que le risque d'être exposé au coronavirus est inégalement réparti entre les différentes classes sociales.

Des travaux antérieurs sur des pandémies précédentes comme la grippe espagnole ou la grippe H1N1, ou d'autres maladies infectieuses comme la tuberculose ou la rougeole, rapportent également l'impact des différents facteurs d'inégalités sociales sur la dynamique spatiale des pandémies.[79]

V. La surveillance épidémiologique du SARS-CoV-2 à travers l'analyse des eaux usées :

1. La corrélation entre la détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et le nombre de cas COVID-19 déclarés :

Dans notre étude, la figure 24, qui exprime l'évolution du virus dans les eaux usées, est parallèle à la figure 25 qui exprime l'évolution des cas COVID-19 diagnostiqués par des tests individuels. En effet, quand les valeurs Ct étaient basses (signifiant que la charge virale était augmentée), le nombre des cas était élevé. A l'inverse, quand les valeurs Ct étaient élevées, le nombre des cas était faible.

Sur les deux figures, nous notons deux pics ; le 1er au mois d'août 2021 et le 2ème au mois janvier 2022. Ces deux pics correspondent respectivement à la 2ème et à la 3ème vague de la maladie COVID-19 à Marrakech et au Maroc globalement. Autrement dit, l'analyse des eaux usées a permis avec succès d'identifier la vague Delta (dont le pic était effectivement en août 2021) et la vague Omicron (dont le pic était en janvier 2022).

Ceci prouve la fiabilité de l'épidémiologie basée sur les eaux usées qui a réussi à reproduire la dynamique de l'épidémie.

Dans notre étude, nous avons établi le lien entre l'évolution du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et l'évolution des cas COVID-19 à travers l'analyse semi-quantitative qui se base sur les valeurs du Ct. Nous n'avons pas mesuré la charge virale, ceci est un objectif à réaliser ultérieurement dans une étude quantitative.

D'autres études ont identifié la charge du virus dans les eaux usées et l'ont comparé au nombre de cas COVID-19 positifs :

→ Wurtzer et al. ont trouvé que l'évolution du SARS-CoV-2 dans les eaux usées est parallèle à la dynamique de l'épidémie. [50]

- → Sherchan et al. ont montré que le SARS-CoV-2 n'était pas détectable dans les eaux usées avant l'apparition du premier cas COVID-19. Puis il est devenu détectable suite à l'apparition et l'augmentation des cas positifs. [53]
- → Trottier et al. ont objectivé que l'augmentation de la charge virale du SARS-CoV-2 dans les eaux usées est associée à l'augmentation des cas COVID-19. [73]
- → En Afrique du Sud, les valeurs du Ct et la charge virale correspondaient au nombre des cas COVID-19. [56]
- → En Tunisie, l'augmentation de la quantité de la charge virale (est associée à l'augmentation des cas Covid-19 dans la zone étudiée . [57]
- → Rosa et al.[46] et Kumar et al. [60] ont également rapportés une corrélation entre la charge virale dans les eaux usées et le nombre des personnes infectées.

Malgré le grand nombre d'études qui supportent cette corrélation , Randazzo et al.[51] rapporte un écart entre la charge virale dans les eaux usées et le nombre des cas COVID-19.

Nous pouvons expliquer cet écart par le fait que le vrai nombre de cas infectés est inconnu du fait du grand nombre de cas paucisymptomatiques et asymptomatiques qui ne réalisent pas le test de diagnostique. Ces personnes constituent 80 % de la totalité des patients COVID-19 et peuvent eux aussi excréter le virus dans les eaux usées. [57]

En outre, les patients infectés n'excrètent pas tous le virus, et quand ils le font , la quantité et la durée de l'excrétion varient d'un individu à l'autre et dans le temps . [50][51]

En plus , plusieurs variables environnementales peuvent retentir sur la charge du virus dans les eaux usées , par exemple la pluie , la température et le temps de rétention hydraulique dans les égouts.[51]

2. Le pouvoir anticipatif de la surveillance épidémiologique à travers l'analyse des eaux usées :

Dans notre étude, nous avons trouvé que les valeurs du Ct du SARS-CoV-2 dans les eaux usées ont commencé à diminuer 10 jours avant le début de l'augmentation des cas. Ceci suggère que les personnes infectées au SARS-CoV-2 excrètent le virus dans leurs selles avant l'apparition des signes respiratoires.

Notre résultat concorde avec une étude espagnole qui a détecté le SARS-CoV-2 dans les eaux usées 12 à 16 jours avant la déclaration des cas positifs. [51]

Trottier et al. ont également remarqué une augmentation de la quantité du virus dans les eaux usées 2 à 3 semaines avant l'augmentation des cas COVID-19. [73]

L'épidémiologie basée sur les eaux usées s'avère être une opportunité d'information unique pour contrôler la dynamique épidémiologique en octroyant une marge d'avance aux décideurs en cas de résurgence. Cette possibilité d'anticipation est un gain de temps et de ressources décisif pour mettre en place les mesures adéquates à même de contrer efficacement les risques épidémiologiques.

Figure 40 : La WBE est un moyen d'alerte précoce.

RECOMMANDATIONS

A l'issu de notre travail, nous nous permettons de proposer des recommandations qui semblent pertinentes pour le déploiement optimal de l'épidémiologie basée sur les eaux usées:

1. Commencer, le plutôt possible, l'analyse quantitative qui consiste à mesurer la charge virale dans les eaux usées.

2. Collaborer avec des épidémiologistes, des ingénieurs et des modélisateurs mathématiques afin d'établir une formule qui permettra de déterminer le nombre d'individus infectés à partir de la charge du virus dans les eaux usées.

3. Créer une plateforme digitale pour faciliter le processus d'échange de données à l'échelle nationale et internationale , comme le site « *covid19wbec.org* »[80].

4. Etudier le retentissement des évènements météorologiques (pluie, température …) sur la détection du SARS-CoV-2 dans les eaux usées.

5. Etendre cette expérience pour cibler d'autres villes du royaume.

6. Utiliser cette méthode pour rechercher les nouveaux variants.

7. Intégrer ce dispositif dans le plan national de veille et de riposte contre l'épidémie de COVID-19 et d'autres virus entériques.

CONCLUSION

Au Maroc, la surveillance épidémiologique du SARS-CoV-2 à travers l'analyse des eaux usées (WBE) a été lancée dans quatre villes du Royaume.

Notre travail est la première preuve qui démontre la possibilité de détecter l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées non traitées de la ville de Marrakech.

Dans notre étude, nous avons réussi à détecter le génome viral dans 87% des échantillons malgré l'importance des impuretés et des inhibiteurs de la PCR présents dans les eaux usées.

Nous avons surveillé l'évolution du virus dans la ville de Marrakech sans recourir aux tests individuels. Cette surveillance a permis de reproduire le portrait de la maladie et notamment de détecter les vagues Delta et Omicron de la pandémie.

L'analyse des eaux usées nous a permis d'anticiper de 10 jours la survenue de la vague Delta. Cette marge d'avance est un gain de temps et de ressources décisif pour mettre en place les mesures nécessaires à la meilleure gestion d'une éventuelle vague.

L'étude de chaque site de prélèvement séparément nous a permis d'identifier les zones les plus infectées par le virus dans la ville (hotspots). Cette information est utile pour un éventuel ciblage des quartiers à confiner. De plus, nous avons remarqué que le virus était inégalement réparti entre les différentes classes sociales de la ville.

Aussi importants que soient les apports incontestables de la méthode WBE, il demeure essentiel de relever quelques défis afin d'optimiser son application et d'obtenir davantage de résultats.

Au regard de ces résultats encourageants et au vu de la densité du réseau d'assainissement national (80%) propice à la mise en œuvre du protocole d'analyse des eaux usées, cette approche devrait s'élargir pour inclure d'autres milieux urbains mais aussi ruraux du royaume.

RÉSUMÉS

Résumé

Introduction: La surveillance épidémiologique des virus à tropisme entérique à travers l'analyse des eaux usées (WBE) est un outil qui fournit des informations fiables sur la dynamique virale. A cet égard, la WBEa été proposée pour surveiller le SARS-CoV-2. Cetravail a pour objectif de rechercher et de décrire la dynamique temporelle et spatiale du SARS-CoV-2 dans les eaux usées de la ville de Marrakech.

Matériel et méthodes: Il s'agit d'une étude prospective et descriptive portant sur 1060 échantillons d'eaux usées collectés à partir de 19 stations de la ville de Marrakech.La durée de l'étude est de 14 mois comprise entre le 18/01/2021 et le 24/02/2022.

Tous les échantillons ont été analysés au laboratoire de Bactériologie-Virologie et Biologie moléculaire de l'HMA de Marrakech, en suivant les étapes suivantes : Concentration de l'échantillon, extraction de l'ARN , élimination des inhibiteurs de la PCR et amplification de deux gènes (S et RdRp) par RT-PCR.

Résultats et discussion: Nous avons détecté le génomedu SARS-CoV-2 dans les eaux usées non traitées de la ville de Marrakech.Un échantillon est déclaré positif au SARS-CoV-2 lorsqu'au moins un des deux gènes (S/RdRp) est retrouvé. La fréquence de détection du SARS-CoV-2 était de 87% (923/1060). Nous avons trouvé le gène S dans 97% des échantillons positifs au SARS-CoV-2 (898/923) et le gène RdRp dans 85% de ces échantillons (784/923). Nous pouvons déduire que l'utilisation d'un test multiplexe maximise les chances de détection du virus et que l'amorce/sonde S est plus sensible que l'amorce/sonde RdRp.

Nous avons trouvé que les tendances du virus dans les eaux usées étaient parallèles aux tendances des cas COVID-19 déclarés. En guise d'exemple, les valeurs du Ct ont diminué en Août 2021 et en Janvier 2022 parallèlement à la survenue des vagues Delta et Omicron de la pandémie.

Le résultat le plus important était la diminution des valeurs du Ct dans les eaux usées 10 jours avant le début de l'augmentation des cas au cours de la vague Delta. La WBE est un moyen d'alerte précoce utile pour la préparation des stratégies de riposte adéquates.

La fréquence de détection du SARS-CoV-2 dans chaque site séparemment (19 sites) variait entre 74% et 94 %. D'une part, ceci nous a permis de mettre en évidence l'inégalité de la circulation du virus entre les différents quartiers, qui est très probablement la conséquence des inégalités socio-économiques. D'autre part, le suivi en temps réel de la

répartition spatiale du virus serviraà répartir les mesures de restriction au lieu de les appliquer à toute une ville.

Conclusion: La WBE est un outil complémentaire à la surveillance individuelle. C'est une approche moins coûteuse et plus facile à réaliser qui permet un monitorage fiable de la pandémie. Elle fournit les résultats avec une marge d'avance (10jours) qui fait d'elle un outil unique et prometteur d'une meilleure gestion de la pandémie.

Abstract

Introduction: Epidemiological surveillance of enteric viruses through wastewater analysis (WBE) is a tool that provides reliable information on viral dynamics. In this regard, the WBE has been proposed to monitor SARS-CoV-2. The objective of this work is to research SARS-CoV-2 in the wastewater of the city of Marrakechand describe its temporal and spatial dynamics using the WBE.

Material and methods: This is a prospective and descriptive study of 1060 wastewater samples collected from 19 stations in the city of Marrakech. The duration of the study is 14 months between 18/01/2021 and 24/02/2022.

All samples were analyzed in the laboratory of Bacteriology-Virology and Molecular Biology of the military hospital of Marrakech, following the next steps: sample concentration, RNA extraction, removal of PCR inhibitors and amplification by RT-PCR targeting two genes (S and RdRp).

Results and discussion: We detected the SARS-CoV-2 genome in untreated wastewater from the city of Marrakech. A sample is declared positive for SARS-CoV-2 when at least one of the two targeted genes (S/RdRp) is found. The detection frequency of SARS-CoV-2 was 87% (923/1060). We found the S gene in 97% of positive samples (898/923) and the RdRp gene in 85% of them (784/923). We can infer that the use of a multiplexed assay maximizes the chances of virus detection and that the S primer/probe is more sensitive than the RdRp primer/probe.

We found that the virus trends in wastewater were parallel to the trends in reported COVID-19 cases. As an example, Ct values decreased in August 2021 and January 2022 in parallel with the occurrence of the Delta and Omicron waves of the pandemic.

The most important result was the decrease in Ct values 10 days before the begining of the increase in cases during the Delta wave. The WBE is an early warning tool that allows to prepare appropriate response strategies.

The detection frequency of SARS-CoV-2 in each site separately (19 sites) varied between 74% and 94%. On the one hand, this allowed us to highlight the inequality of virus circulation between the different neighborhoods, which is most likely the consequence of socio-economic inequalities between them. On the other hand, real-time monitoring of the spatial distribution of the virus will be used to distribute restriction measures instead of applying them to a whole city.

Conclusion: WBE is a complementary tool to individual surveillance. It's a cheaper and an easier approach that allows a reliable monitoring of the pandemic. It provides results with a margin of advance (10 days)that makes it a unique and promising tool for better management of the pandemic.

ملخص

مقدمة: تعدمصداقية المعلومات حول الحالة الوبائية لفيروس كورونا المستجد ضرورية لإدارة جائحةكوفيد -19. إن رصد مجموع السكان، وخاصة الحالات التي لا تظهر عليها أعراض،مكلف وصعب التنفيذ. لكن، بمجرد إفراز العامل الممرض في البراز، يمكن أن يكون رصد مياه الصرف الصحي من خلال طريقة علم الأوبئة القائم على مياه الصرف الصحي أداة مكملة للرصد الفردي. الهدف من هذا العمل هو البحث عن فيروس كورونا المستجدووصف تغيراته الزمنية والمكانية في مياه الصرف الصحي لمدينة مراكش ودراسة فوائد وتحديات علم الأوبئة القائم على مياه الصرف الصحي.

المواد والأساليب: هذه دراسة استشرافية وصفية ل 1060 عينة من مياه الصرف الصحي تم جمعها من 19 محطة في مدينة مراكش.

دامت الدراسة 14 شهرا بين 2021/01/18 و 2022/02/24.

تم تحليل جميع العينات في مختبر علم الجراثيم والفيروسات والبيولوجيا الجزيئية بمشفى ابن سينا العسكري بمراكش، باتباع الخطوات التالية: تركيز العينة، استخراجالحمض الريبي، القضاء على مثبطات تفاعل البوليميراز المتسلسل(PCR)،والتضخيم بواسطة *تفاعل البوليميراز المتسلسل* للنسخ العكسي (RT-PCR)من خلال استهداف جينين (SوRdRp).

النتائج والمناقشات: اكتشفناوجود جينوم فيروس كورونا المستجد في مياه الصرف الصحي غير المعالجة بمدينة مراكش. وجدنا الجين S في 97٪ من العينات والجين RdRp في 85٪ من العينات. يتم إعلان عينة حاملة لفيروس كورونا المستجد عند العثور علىجين واحد على الأقل، وبالتالي فتردد الكشف الكلي هو 87٪. يمكننا أن نستنتج أن استخدام اختبار متعدد الاستهداف يزيد من فرص اكتشاف الفيروس وأن التمهيدي / المسبار S أكثر حساسية من التمهيدي / المسبار pRdR.

بعد ذلك، قمنا بقياس تردد الكشف في كل موقع (19 موقع). من ناحيةأولى، سمح لنا ذلك بتسليط الضوء على عدم المساواة في انتشار الفيروس بين الأحياء المختلفة، وهو على الأرجح نتيجة عدم المساواة الاجتماعية والاقتصادية. ومن ناحية أخرى، إن الرصد في الوقت الحقيقي للتوزيع المكاني للفيروس سيجعل من الممكن توزيع تدابير التقييد بدلا من تطبيقها على مدينة بأكملها.

بالإضافة إلى ذلك، وجدنا أن تطورات الفيروس في مياه الصرف الصحي كانت مطابقة لتطورات حالاتكوفيد-19 المسجلة. وعلى سبيل المثال، انخفضت قيم Ct في شتنبر 2021 ويناير 2022 بالتوازي مع حدوث موجتي دلتا وأوميكرون من الوباء.

وكانت النتيجة الأكثر أهمية هي انخفاض قيم Ct في مياه الصرف الصحي 10 أيام قبل بداية ارتفاع الحالات خلال موجة دلتا. ويشكل هذا إنذارا مبكرا مفيدا لإعداد استراتيجيات الاستجابة المناسبة.

الاستنتاج: إن برنامج علم الأوبئة القائم على مياه الصرف الصحي أداة مكملة للرصد الفردي. هذا النهجأقل تكلفةوأسهل في الأداء ويسمح بمراقبة موثوقة للجائحة. كما أنه يجعل من الممكن دراسة التوزيع الجغرافي للفيروس.

وبالإضافة إلى ذلك، فإنه يوفر النتائج مع هامشمن التقدم (10 أيام)يجعله أداة فريدة وواعدة لتحسين إدارة الجائحة. ومع ذلك، هناك بعض التحديات التي يلزم رفعها من أجل استعمال أمثلهذه الوسيلة.

ANNEXES

Annexe 1 :

OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit

Cat. No. D6030 (50 spin columns/purifications)

ZYMO RESEARCH

The Beauty of Science is to Make Things Simple

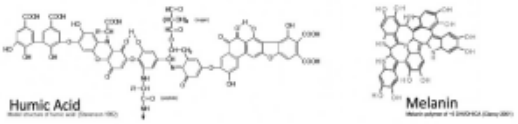
Protocol

Features:

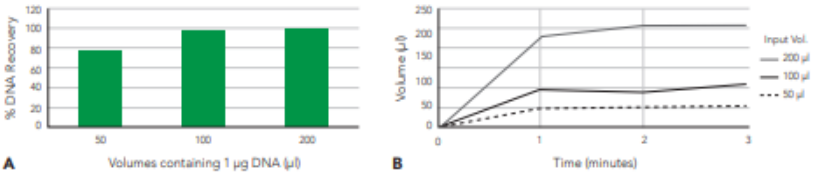
- For high quality DNA or RNA that is free of enzymatic inhibitors including polyphenolics, humic/fulvic acids, tannins, melanin, etc.
- Fast, one-step procedure for "cleaning" impure samples prior to PCR, sequencing, RT, etc.

Description:

The *OneStep*™ PCR Inhibitor Removal Kit contains all the components needed to efficiently remove contaminants from DNA/RNA preparations that can inhibit downstream enzymatic reactions such as PCR and RT. The column matrix has been specifically designed for efficient removal of polyphenolic compounds, humic/fulvic acids, tannins, melanin, etc. from most impure DNA and RNA preparations. Sample cleanup is as simple as: applying, spinning and recovering a sample from the column.

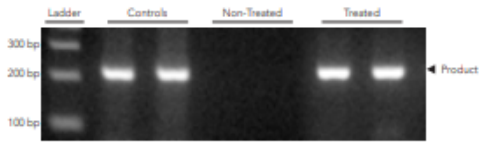


Performance Characteristics of the Zymo-Spin™ III-HRC Column



Figures A & B (above) depict the performance characteristics of the Zymo-Spin™ III-HRC Column. Figure A shows that some loss of DNA can occur with lower (50 µl) input volumes. However at higher input volumes, the recovery approaches 100%. Figure B shows that input volume recovery is complete after 1 minute for the input volumes tested. In all cases, data were plotted as the mean from experiments performed in triplicate.

DNA sample containing Humic Acid



DNA is efficiently amplified by PCR following humic acid removal with the *OneStep*™ PCR Inhibitor Removal Kit. The figure shows amplification of a 200 bp product from DNA containing humic acid that was "treated" with the kit. Alternatively, PCR amplification was completely inhibited in the case of the "non-treated" sample. In each case, equal amounts of DNA were used for each PCR and equivalent amounts of the reaction were then analyzed in a 2.0% (w/v) agarose/TAE/EtBr gel. The ladder is a 100 bp DNA marker (Zymo Research). Hot start PCR was performed using ZymoTaq™ PreMix (Zymo Research).

References:

Clancy, C.M.R. et al. (2001) *Biochemistry*, 40, 13353-13360.

Stevenson, F.J. (1982) *Humus Chemistry*. Wiley-Interscience, New York.

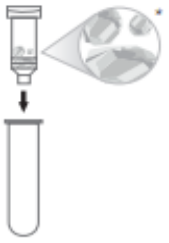
OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit

Cat. No. D6030 (50 spin columns/purifications)

ZYMO RESEARCH
The Beauty of Science is to Make Things Simple

Protocol

Protocol:



Column Preparation:

Zymo-Spin™ III-HRC Columns need to be prepared prior to use:

1. Insert column into a Collection Tube.
   **Please note that matrix in the column may appear dehydrated, or powdery. This is normal.*

2. Open the cap, add 600 µl of Prep-Solution and centrifuge at 8,000 *x g* for 3 minutes.

Inhibitor Removal:

3. Transfer the prepared column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. Add 50 - 200 µl DNA or RNA (in water, TE, or similar) to the Zymo-Spin™ III-HRC Column and centrifuge at 16,000 *x g* for 3 minutes.

The filtered DNA (or RNA) is suitable for PCR, (RT), and other downstream applications.

Kit Contents:

	Qty.	Storage Temp.
Zymo-Spin™ III-HRC Columns	50	Room Temp.
Collection Tubes	50	Room Temp.
Prep-Solution	30 ml	Room Temp.
Protocol	1	-

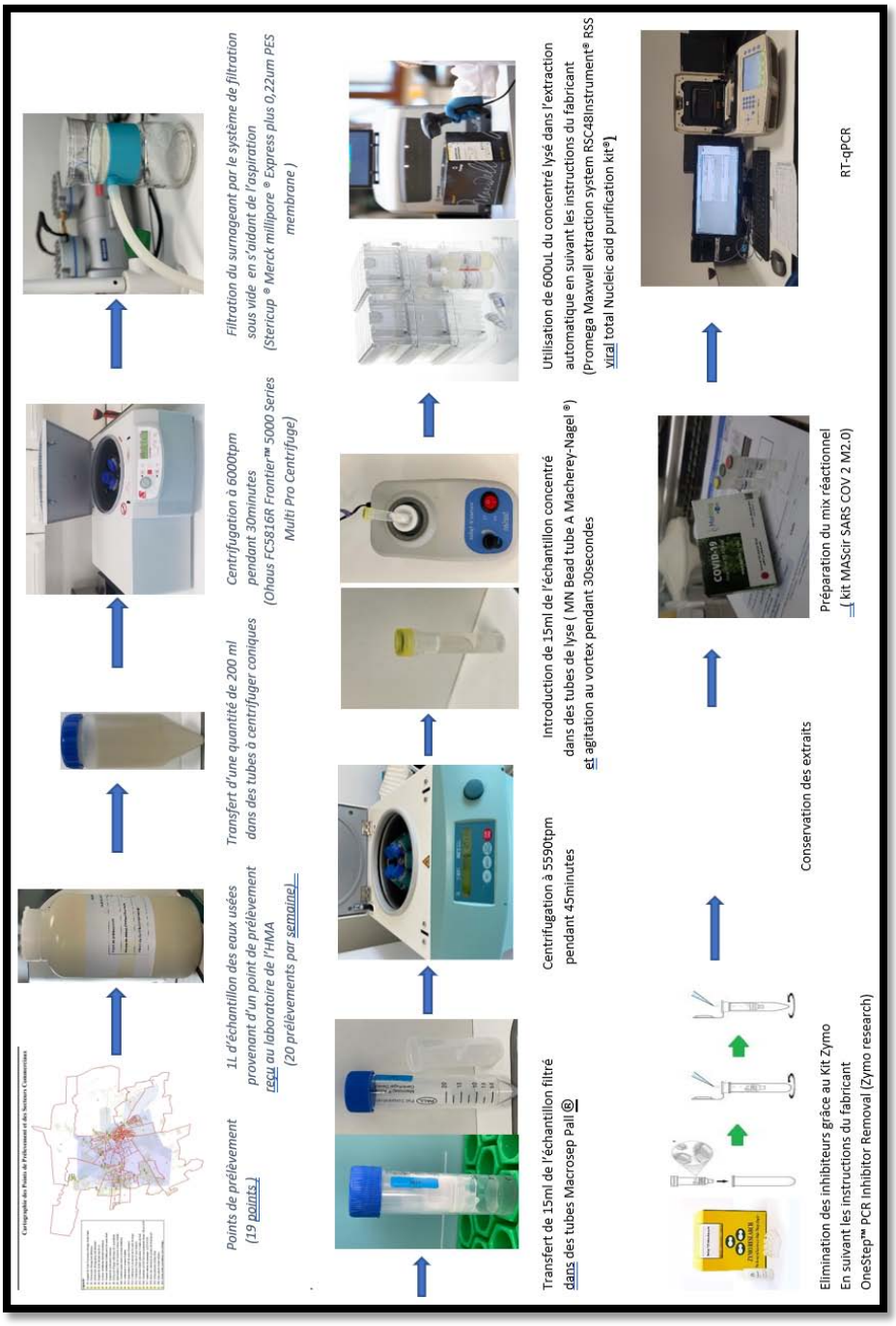
Also Available:

	Qty.	Cat. No.
OneStep-96™ PCR Inhibitor Removal Kit	2 x 96 well plates	D6035

	E2003 (50 rxns.)	**E2004** (200 rxns.)	Conc.	Storage Temp.
ZymoTaq™ PreMix	2 x 625 µl	8 x 625 µl	2X	-20°C

Ver. 2.0.2

Annexe2


Points de prélèvement (19 points)
1L d'échantillon des eaux usées provenant d'un point de prélèvement reçu au laboratoire de l'HMA (20 prélèvements par semaine)
Transfert d'une quantité de 200 ml dans des tubes à centrifuger coniques
Centrifugation à 6000tpm pendant 30minutes (Ohaus FC5816R Frontier™ 5000 Series Multi Pro Centrifuge)
Filtration du surnageant par le système de filtration sous vide en s'aidant de l'aspiration (Stericup ® Merck millipore ® Express plus 0,22um PES membrane)
Transfert de 15ml de l'échantillon filtré dans des tubes Macrosep Pall ®
Centrifugation à 5590tpm pendant 45minutes
Introduction de 15ml de l'échantillon concentré dans des tubes de lyse (MN Bead tube A Macherey-Nagel ®) et agitation au vortex pendant 30secondes
Utilisation de 600uL du concentré lysé dans l'extraction automatique en suivant les instructions du fabricant (Promega Maxwell extraction system RSC48Instrument® RSS viral total Nucleic acid purification kit®)
Conservation des extraits
Elimination des inhibiteurs grâce au Kit Zymo En suivant les instructions du fabricant OneStep™ PCR Inhibitor Removal (Zymo research)
Préparation du mix réactionnel (kit MAScir SARS COV 2 M2.0)
RT-qPCR

BIBLIOGRAPHIE

1. « Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it ». https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it (consulté le 9 mai 2022).
2. «Chronologie de l'action de l'OMS face à la COVID-19 ». https://www.who.int/fr/news/item/29-06-2020-covidtimeline (consulté le 9 mai 2022).
3. A. Tang *et al.* « Detection of Novel Coronavirus by RT-PCR in Stool Specimen from Asymptomatic Child, China », *Emerg Infect Dis*, vol. 26, nº 6, p. 1337-1339, juin 2020, doi: 10.3201/eid2606.200301.
4. W. Zhang *et al.*

« Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes », *Emerg Microbes Infect*, vol. 9, nº 1, p. 386389, 2020, doi: 10.1080/22221751.2020.1729071.

5. F. Q. Wu *et al.*
« SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases ». medRxiv, p. 2020.04.05.20051540, 7 avril 2020. doi: 10.1101/2020.04.05.20051540.
6. P. M. Choi *et al.*
« Wastewater-based epidemiology biomarkers: Past, present and future », *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 105, p. 453-469, août 2018, doi: 10.1016/j.trac.2018.06.004.
7. J. Rodriguez-Manzano *et al.*
« Analysis of the evolution in the circulation of HAV and HEV in Eastern Spain by testing urban sewage samples », *Journal of Water and Health*, vol. 8, nº 2, p. 346354, nov. 2009, doi: 10.2166/wh.2009.042.
8. H. Asghar *et al.*
« Environmental Surveillance for Polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative », *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 210, nº suppl_1, p. S294-S303, nov. 2014, doi: 10.1093/infdis/jiu384.
9. M. Hellmér *et al.*
« Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis A virus and norovirus outbreaks », *Appl Environ Microbiol*, vol. 80, nº

10. « البوابةالرسميةلفيروسكورونابالمغرب ».
http://www.covidmaroc.ma/Pages/LESINFOAR.aspx (consulté le 26 avril 2022).
11. H. Ritchie *et al.*
« Coronavirus Pandemic (COVID-19) », *Our World in Data*, mars 2020, Consulté le: 26 avril 2022. [En ligne]. Disponible sur: https://ourworldindata.org/coronavirus

12. R. Wölfel *et al.*
« Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019 », *Nature*, vol. 581, nº 7809, p. 465-469, mai 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
13. «image.axd(1200×800)».https://www.news-medical.net/image.axd?picture=2021%2F5%2Fshutterstock_1423101956.jpg (consulté le 26 avril 2022).
14. « Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2 - PMC ».
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7130181/?msclkid=3e13410fc4c111ecb046231e6cb58a8c (consulté le 25 avril 2022).

15. « Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 ». https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb2762?msclkid=16337abcc4c311ec98a4d665cdd5a1d5 (consulté le 25 avril 2022).

16. Hamming I. et al.
(2004) Tissue Distribution of ACE2 Protein, the Functional Receptor for SARS Coronavirus. A First Step in Understanding SARS Pathogenesis. The Journal of Pathology, 203, 631. - References- Scientific Research Publishing ».
https://www.scirp.org/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2769732&msclkid=323f9431c4c211ec9f790fa423077d04 (consulté le 25 avril 2022).

17. Y. Tian, L. Rong, W. Nian, et Y. He
« Review article: gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission », *Aliment Pharmacol Ther*, vol. 51, nº 9, p. 84851, mai 2020, doi: 10.1111/apt.15731.

18. Y. Chen *et al.*
« The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients », *J Med Virol*, vol. 92, nº 7, p. 833-840, juill. 2020, doi: 10.1002/jmv.25825.

19. A. Haridas et P. Mukker
« Gastrointestinal Symptoms and Immune Response in COVID 19 - Review of a Cat and Mouse Game Theory », *AJMCR*, vol. 9, nº 1, p. 24-31, oct. 2020, doi: 10.12691/ajmcr-9-1-8.

20. INFOGRAPHIES.
Quels sont les effets du "Covid long" sur le corps ?», *Francesinfo*, 17 mai 2021. https://www.francetvinfo.fr/sante/maladie/coronavirus/infographies-quels-sont-les-effets-du-covid-long-sur-le-corps_4555235.html (consulté le 26 avril 2022).

21. « First Case of Covid-19 in the United States », *N Engl J Med*, vol. 382, nº 19, p. e53, mai 2020, doi: 10.1056/NEJMc2004794.

22. C. Jiehao *et al.*
« A Case Series of Children With 2019 Novel Coronavirus Infection: Clinical and Epidemiological Features », *Clin Infect Dis*, vol. 71, nº 6, p. 1547-1551, sept. 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa198.

23. R. Wölfel *et al.*
« Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019 », *Nature*, vol. 581, nº 7809, p. 465-469, mai 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.

24. F. Xiao *et al.*
« Infectious SARS-CoV-2 in Feces of Patient with Severe COVID-19 », *Emerg Infect Dis*, vol. 26, nº 8, p. 1920-1922, août 2020, doi: 10.3201/eid2608.200681.

25. L. Lin *et al.*

« Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection », *Gut*, vol. 69, nº 6, p. 997-1001, juin 2020, doi: 10.1136/gutjnl-2020-321013.

26. Z. Gao *et al.*
« A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19 », *J Microbiol Immunol Infect*, vol. 54, nº 1, p. 12-16, févr. 2021, doi: 10.1016/j.jmii.2020.05.001.

27. M. L. Holshue *et al.*
« First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States », *N Engl J Med*, vol. 382, nº 10, p. 929-936, mars 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2001191.

28. Y. Wu *et al.*
« Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples », *Lancet Gastroenterol Hepatol*, vol. 5, nº 5, p. 434-435, mai 2020, doi: 10.1016/S2468-1253(20)30083-2.

29. « Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding - PubMed ». https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32284613/ (consulté le 25 avril 2022).

30. J. Zheng
« SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat », *Int J Biol Sci*, vol. 16, nº 10, p. 1678-1685, 2020, doi: 10.7150/ijbs.45053.

31. F.-X. Lescure *et al.*
« Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series », *Lancet Infect Dis*, vol. 20, nº 6, p. 697-706, juin 2020, doi: 10.1016/S1473-3099(20)30200-0.

32. Y. Pan, D. Zhang, P. Yang, L. L. M. Poon, et Q. Wang
« Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples », *Lancet Infect Dis*, vol. 20, nº 4, p. 411-412, avr. 2020, doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4.

33. L. Moulin *et al.*
« L'épidémiologie basée sur les eaux usées, un outil innovant pourle suivi sanitaire des populations : l'exemple du réseau Obépine, sentinelle de l'épidémie de Covid-19: Wastewater-based epidemiology, an innovative tool for population health monitoring:example of the Obépine network, sentinel of the Covid-19 outbreak », *TSM*, nº COVID-19, p. 21-30, nov. 2021, doi: 10.36904/tsm/2021C1921.

34. « Le Courrier des Addictions / N° 3 septembre 2014 ». https://www.edimark.fr/courrier-addictions/n_3_09-2014?msclkid=029b56e5c55511ecae02a33191f62f57 (consulté le 26 avril 2022).

35. « Wastewater-based epidemiology biomarkers: Past, present and future - ScienceDirect ». https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993618301444?msclkid=42299a9bc4ca11eca6c1f9e578d48d4c (consulté le 25 avril 2022).

36. M. de L. Aguiar-Oliveira *et al.*
« Wastewater-Based Epidemiology (WBE) and Viral Detection in Polluted Surface Water: A Valuable Tool for COVID-19 Surveillance—A Brief Review », *Int J Environ Res Public Health*, vol. 17, nº 24, p. 9251, déc. 2020, doi: 10.3390/ijerph17249251.
37. M. Lorenzo et Y. Picó
« Wastewater-based epidemiology: current status and future prospects », *Current Opinion in Environmental Science & Health*, vol. 9, -84, juin 2019, doi: 10.1016/j.coesh.2019.05.007.
38. M. S *et al.*
« Wastewater-based monitoring of illicit drug consumption in Istanbul: Preliminary results from two districts », *The Science of the total environment*, vol. 656, mars 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.345.
39. « Large scale survey of enteric viruses in river and waste water underlines the health status of the local population - ScienceDirect ».
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412015000550?via%3Dihub (consulté le 25 avril 2022).
40. C. Santiso-Bellón *et al.*
« Epidemiological Surveillance of Norovirus and Rotavirus in Sewage (2016-2017) in Valencia (Spain) », *Microorganisms*, vol. 8, nº 3, p. 458, mars 2020, doi: 10.3390/microorganisms8030458.
41. T. Miura *et al.*
« Detection of Hepatitis E Virus in Sewage After an Outbreak on a French Island », *Food Environ Virol*, vol. 8, nº 3, p. 194-199, sept. 2016, doi: 10.1007/s12560-016-9241-9.
42. « Frontiers | HEV Occurrence in Waste and Drinking Water Treatment Plants | Microbiology ».
https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02937/full (consulté le 25 avril 2022).
43. A. H *et al.*
« Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative », *The Journal of infectious diseases*, vol. 210 Suppl 1, janv. 2014, doi: 10.1093/infdis/jiu384.
44. « Publication Map »
covid19wbec.org. https://www.covid19wbec.org/publication-map (consulté le 26 avril 2022).
45. M. G. Martínez Wassaf *et al.*
« First detection of hepatitis E virus in Central Argentina: environmental and serological survey », *J Clin Virol*, vol. 61, nº 3, p. 334-339, nov. 2014, doi: 10.1016/j.jcv.2014.08.016.
46. G. L. Rosa *et al.*
« FIRST DETECTION OF SARS-COV-2 IN UNTREATED WASTEWATERS IN ITALY », p. 27.
47. « The COVID-19 Case Iceberg », *Prevent Epidemics*.

https://preventepidemics.org/covid19/science/insights/covid-19-case-iceberg/ (consulté le 26 avril 2022).

48. R. Izquierdo-Lara *et al.*
« Monitoring SARS-CoV-2 Circulation and Diversity through Community Wastewater Sequencing, the Netherlands and Belgium », *Emerging Infectious Diseases*, vol. 27, nº 5, p. 11, 2021.
49. 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 », *Science of the Total Environment*, p. 8, 2020.
50. S. Wurtzer *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 », p. 7.
51. W. Randazzo, P. Truchado, E. Cuevas-Ferrando, P. Simón, A. Allende, et G. Sánchez
« SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area », *Water Research*, vol. 181, p. 115942, août 2020, doi: 10.1016/j.watres.2020.115942.
52. J. Wu *et al.*
« Technical framework for wastewater-based epidemiology of SARS-CoV-2 », *Sci Total Environ*, vol. 791, p. 148271, oct. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.148271.
53. S. P. Sherchan *et al.*
« First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA », *Science of The Total Environment*, vol. 743, p. 140621, nov. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140621.
54. E. Haramoto, B. Malla, O. Thakali, et M. Kitajima
« First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan », *Sci Total Environ*, vol. 737, p. 140405, oct. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140405.
55. « Post-lockdown detection of SARS-CoV-2 RNA in the wastewater of Montpellier, France - ScienceDirect ».https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352771420302585?msclkid=f2de9d04c56011ecbfeb0457d0f7184f (consulté le 26 avril 2022).
56. R. Johnson *et al.*
« Qualitative and quantitative detection of SARS-CoV-2 RNA in untreated wastewater in Western Cape Province, South Africa », *IN PRACTICE*, vol. 111, nº 3, p. 5, 2021.

57. H. Jmii, H. Gharbi-Khelifi, R. Assaoudi, et M. Aouni
« Detection of SARS-CoV-2 in the sewerage system in Tunisia: a promising tool to confront COVID-19 pandemic », *Future Virol.*, p. 10, 2021.
58. S. Westhaus *et al.*

« Detection of SARS-CoV-2 in raw and treated wastewater in Germany – Suitability for COVID-19 surveillance and potential transmission risks », *Science of The Total Environment*, vol. 751, p. 141750, janv. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141750.

59. L. S. Hillary *et al.*
« Monitoring SARS-CoV-2 in municipal wastewater to evaluate the success of lockdown measures for controlling COVID-19 in the UK », *Water Res*, vol. 200, p. 117214, juill. 2021, doi: 10.1016/j.watres.2021.117214.

60. M. Kumar *et al.*
« First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2 », *Sci Total Environ*, vol. 746, p. 141326, déc. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141326.

61. G. Fongaro *et al.*
« SARS-CoV-2 in Human Sewage and River Water from a Remote and Vulnerable Area as a Surveillance Tool in Brazil », *Food Environ Virol*, juill. 2021, doi: 10.1007/s12560-021-09487-9.

62. A. Albastaki
« First confirmed detection of SARS-COV-2 in untreated municipal and aircraft wastewater in Dubai, UAE: The use of wastewater based epidemiology as an early warning tool to monitor the prevalence of COVID-19 », p. 5.

63. M. Tanhaei *et al.*
« The first detection of SARS-CoV-2 RNA in the wastewater of Tehran, Iran », *Environ Sci Pollut Res*, vol. 28, nº 29, p. 38629-38636, août 2021, doi: 10.1007/s11356-021-13393-9.

64. B. A. Kocamemi, H. Kurt, A. Sait, F. Sarac, A. M. Saatci, et B. Pakdemirli
« SARS-CoV-2 Detection in Istanbul Wastewater Treatment Plant Sludges », Infectious Diseases (except HIV/AIDS), preprint, mai 2020. doi: 10.1101/2020.05.12.20099358.

65. J. Saththasivam *et al.*
« COVID-19 (SARS-CoV-2) outbreak monitoring using wastewater-based epidemiology in Qatar », *Science of The Total Environment*, vol. 774, p. 145608, juin 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145608.

66. H. Mlejnkova, K. Sovova, P. Vasickova, V. Ocenaskova, L. Jasikova, et E. Juranova
« Preliminary Study of Sars-Cov-2 Occurrence in Wastewater in the Czech Republic », *Int. J. Environ. Res. Public Health*, p. 9, 2020.

67. « Detection and quantification of SARS-CoV-2 RNA in wastewater influent in relation to reportedCOVID-19 incidence in Finland - PubMed ».
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35248908/ (consulté le 26 avril 2022).

68. G. Medema, L. Heijnen, G. Elsinga, R. Italiaander, et 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, p. 511-516, juill. 2020, doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.

69. A. Hata
« Detection of SARS-CoV-2 in wastewater in Japan during a COVID-19 outbreak », *Science of the Total Environment*, p. 9, 2021.

70. S. W. Hasan *et al.*
« Detection and quantification of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and treated effluents: Surveillance of COVID-19 epidemic in the United Arab Emirates », *Science of The Total Environment*, vol. 764, p. 142929, avr. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142929.

71. « The fate of SARS-COV-2 in WWTPS points out the sludge line as a suitable spot for detection of COVID-19 - PubMed ». https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33556806/ (consulté le 3 mai 2022).

72. T. Baldovin *et al.*
« SARS-CoV-2 RNA detection and persistence in wastewater samples: An experimental network for COVID-19 environmental surveillance in Padua, Veneto Region (NE Italy) », *Sci Total Environ*, vol. 760, p. 143329, mars 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143329.

73. J. Trottier *et al.*
« Post-lockdown detection of SARS-CoV-2 RNA in the wastewater of Montpellier, France », *One Health*, vol. 10, p. 100157, déc. 2020, doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100157.

74. 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 », *Science of The Total Environment*, vol. 728, p. 138764, août 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.

75. S. Backer, A. Rezene, P. Kahar, et D. Khanna
« Socioeconomic Determinants of COVID-19 Incidence and Mortality in Florida », *Cureus*, vol. 14, nº 2, p. e22491, févr. 2022, doi: 10.7759/cureus.22491.

76. S. Singu, A. Acharya, K. Challagundla, et S. N. Byrareddy
« Impact of Social Determinants of Health on the Emerging COVID-19 Pandemic in the United States », *Front Public Health*, vol. 8, p. 406, 2020, doi: 10.3389/fpubh.2020.00406.

77. B. Burström et W. Tao
« Social determinants of health and inequalities in COVID-19 », *Eur J Public Health*, vol. 30, nº 4, p. 617-618, août 2020, doi: 10.1093/eurpub/ckaa095.

78. E. M. Abrams et S. J. Szefler
« COVID-19 and the impact of social determinants of health », *Lancet Respir Med*, vol. 8, nº 7, p. 659-661, juill. 2020, doi: 10.1016/S2213-2600(20)30234-4.

79. S. C. Quinn et S. Kumar

« Health inequalities and infectious disease epidemics: a challenge for global health security », *Biosecur Bioterror*, vol. 12, nº 5, p. 263-273, oct. 2014, doi: 10.1089/bsp.2014.0032.

80. « COVID-19 Wastewater Epidemiology SARS-CoV-2 », *covid19wbec.org*. https://www.covid19wbec.org (consulté le 10 mai 2022).

كليـــــــة الـطب
و الصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

MARRAKECH
جامعة القاضي عياض
UNIVERSITE CADI AYYAD

قسم الطبيب

أقْسِمبِاللـهالعَظِيم

أنأراقبَاللـهفيمِهْنَتِي.

وأنأصُونَحياةالإنسانفيكآفّةِأطوَارهَافيكلالظروف

والأحَوالباذلةوسْعِيفيإنقاذهامِنالـهَلاكِوالمرَضِ

والألَموالقَلَق.

وأنأحفَظَلِلنَاسِكرَامَتهُم،وأسْترعَوْرَتهُم،وأكتمَسِرَّهُمْ.

وأنأكونَعَلىالدوَاممنوسائِلرحمةالله،

باذلةرعَايَتيالطبيةللقريبوالبعيد،للصالحوالطالح،والصديقوالعدو.

وأنأثابرعلىطلبالعلم،وأسَخِّرَهلِنَفْعِالإنْسَانلاالأذَاه.

وأنأُوَقِّرَمَنعَلَّمَني،وأُعَلِّمَمَنيَصْغرَني،وأكونأخْتا لِكُلِّزَميلِفيالمِهنَةِالطِّبِّيَةمُتعَاونِينَعَلىالبرِّوالتقوى.

وأنتكونحياتيمِصْدَاقإيمَانيفيسِرّيوَعَلانيَتي،نَقِيَّةمِمّايُشينهَاتجَاهَ

اللـهوَرَسُولِهِوَالمؤمِنين.

واللـهعلىمـاأقولشهيد

سنة 2022 أطروحةرقم151

الترصد الوبائي لجائحة فيروس كورونا المستجد عن طريق تحليل مياه الصرف الصحي بمدينة مراكش

الأطروحة

قدمتونوقشتعلانيةيوم 2022/05/24

منطرف

الآنسة:منال المجاهيد

المزدادة في07 مارس1997 بمراكش

لنيلشهادةالدكتوراهفيالطب

الكلماتالأساسية:

فيروس كورونا المستجد – مياه الصرف الصحي – علم الأوبئة القائم على مياه الصرف الصحي – إنذار مبكر

اللجنة

السيد	س.زوهير أستاذ في علم الجراثيم والفيروسات	الرئيس
السيد	ي.الكموني أستاذ في علم الجراثيم والفيروسات	المشرف
السيد	م.أمين أستاذفيعلم الأوبئة السريري	الحكام
السيدة	ن. الهلالي المديرة العامة للوكالة المستقلة لتوزيع الماء والكهرباء بمراكش	عضو مشارك