



Epidemiologia vírica basada en les aigües residuals

Xavier Fernández Cassi

Secció de Microbiologia

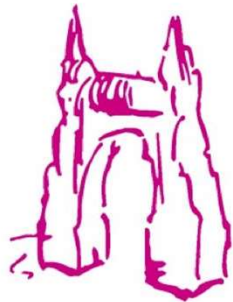
Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient

Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Facultat de Farmàcia
i Ciències de l'Alimentació



FACULTAT DE FARMÀCIA I
CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

EDUCATION

Bachelor in Human Biology

Bachelor in Food Science

Master in Microbiology

**PhD. Environmental Microbiology
and Biotechnology**

TEACHING ACTIVITIES

Pharmacy

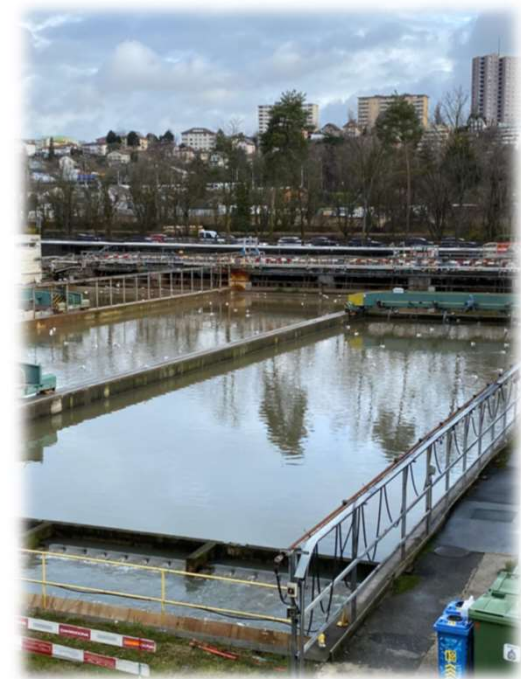
Nutrition

Food Science

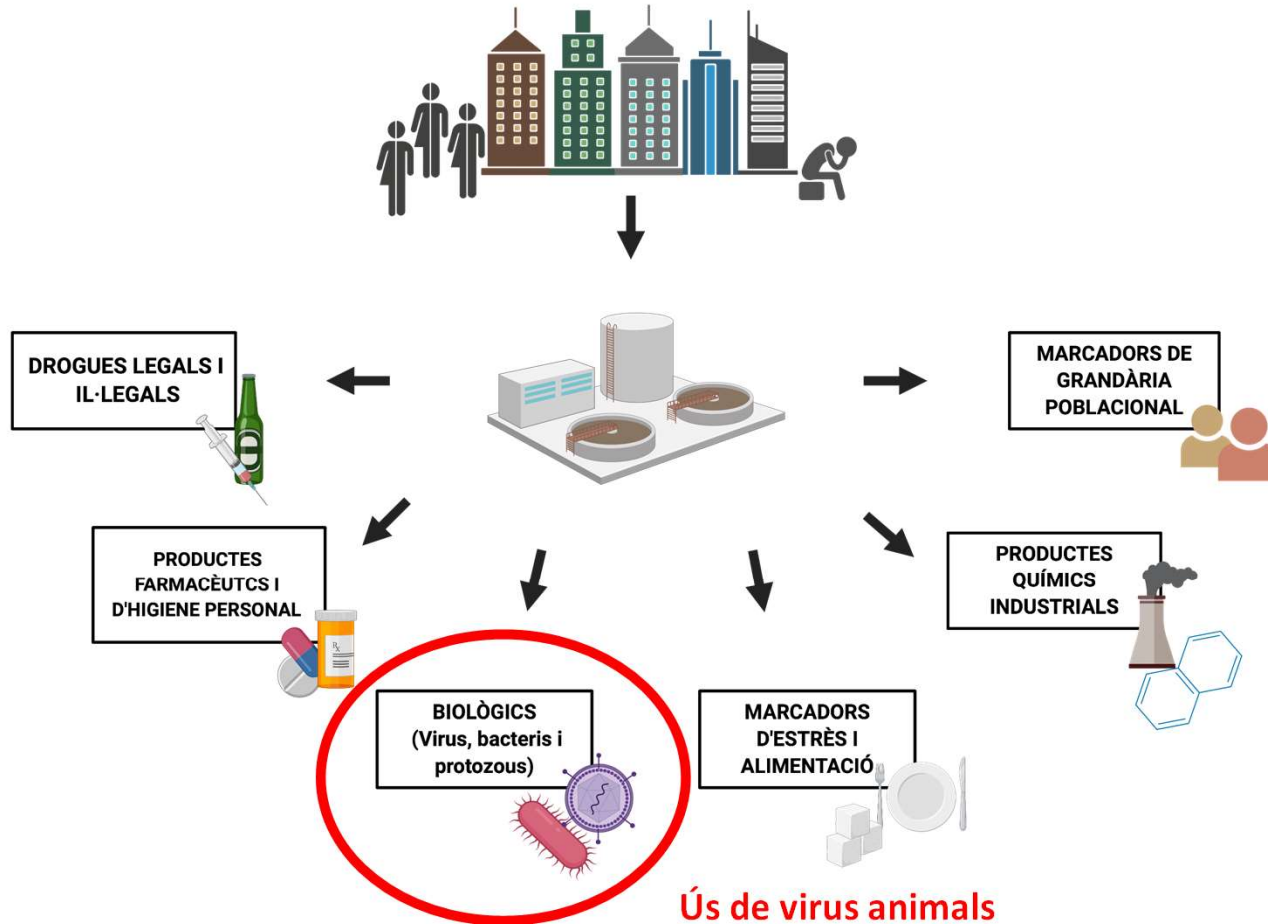
1. Aigües residuals

Las aigües residuals son qualsevol massa d'aigua la qualitat de la qual ha estat afectada negativament per l'impacte antropogènic.

- Domèstiques (agua residual urbana)
- Industrials, comercials...
- D'ús agrícola, ramader o pecuari...
- O la barreja de les anteriors amb aigua escorrentia superficial / aigua de pluja



1. Aigües residuals urbanes com a mostra comunitària



L'anàlisi d'aigües residuals s'ha utilitzat per al monitoratge de compostos químics d'origen humà com per exemple fàrmacs, drogues, metalls i productes derivats de la indústria, entre altres...

L'epidemiologia basada en aigües residuals s'ha postulat com una eina útil **per controlar la presència de patògens** i altres indicadors de la salut d'una determinada **població o comunitat**.

2. Avantatges i inconvenients de les aigües residuals

Mostra clínica



- Representatives d'una població o comunitat
- Anonimitzades
- Anàlisi conjunta de la infecció
- Cost-benefici baix
- Gran cobertura de població i territori

VS.

Mostra d'aigua residual



- Mostres complexes
- No tots els virus s'excreten
- Variabilitat factors externs (pluviometria, químics interferents, problemes EDAR...)

3. Incidència vs. notifikacions

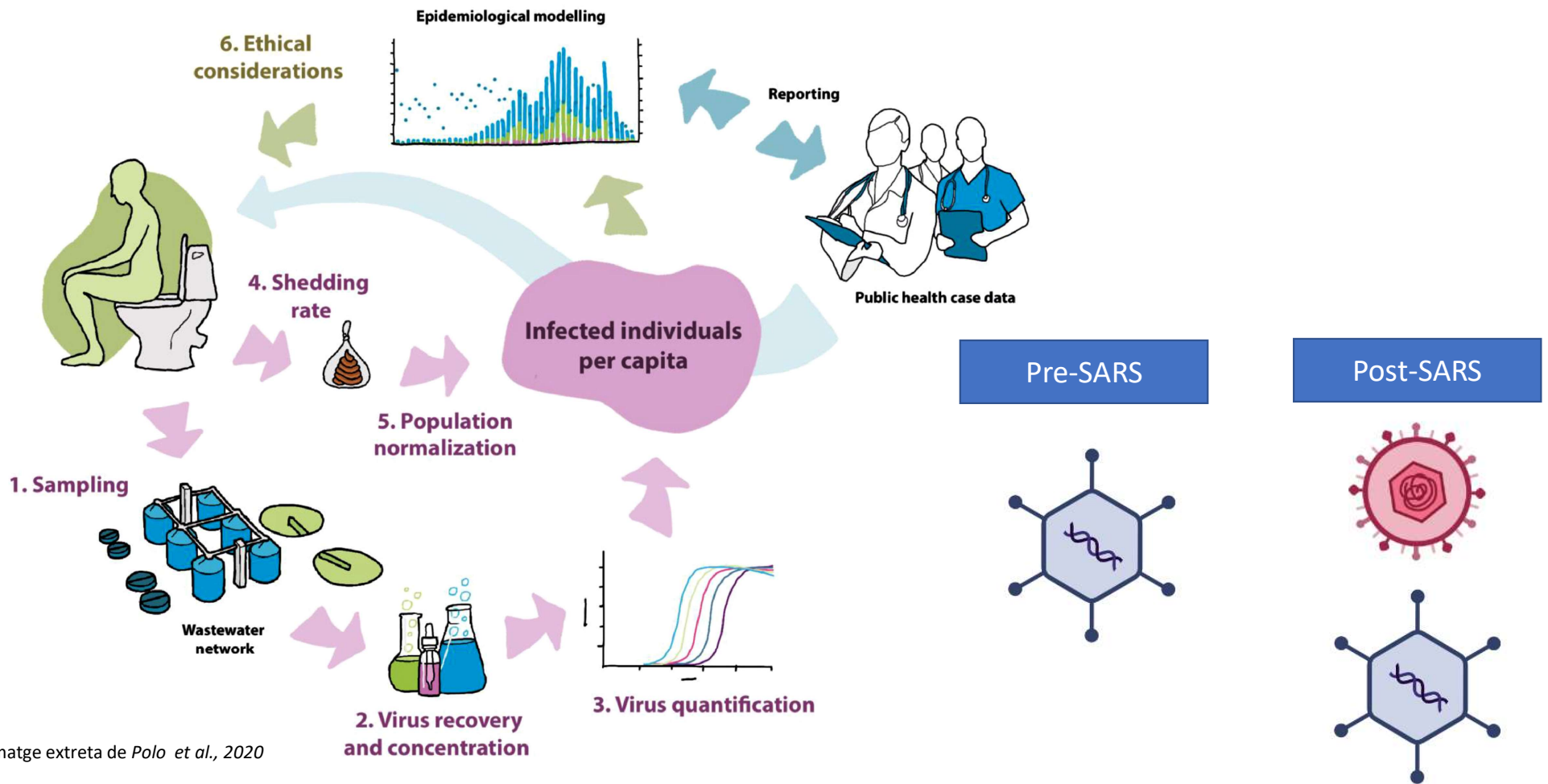
Estimem 6.454.951 contagis acumulats enfront dels 721.245 casos confirmats (1.9% vs. 0.2% de la població) als **Estats Units Amèrica fins al 18 d'abril del 2020**, això significa que hi ha de **3 a 20 vegades superior** al nombre de casos confirmats. Sean L. Wu, 2020. *Nature communications*

CLINICAL REPORTING

ENVIRONMENTAL SURVILLANCE

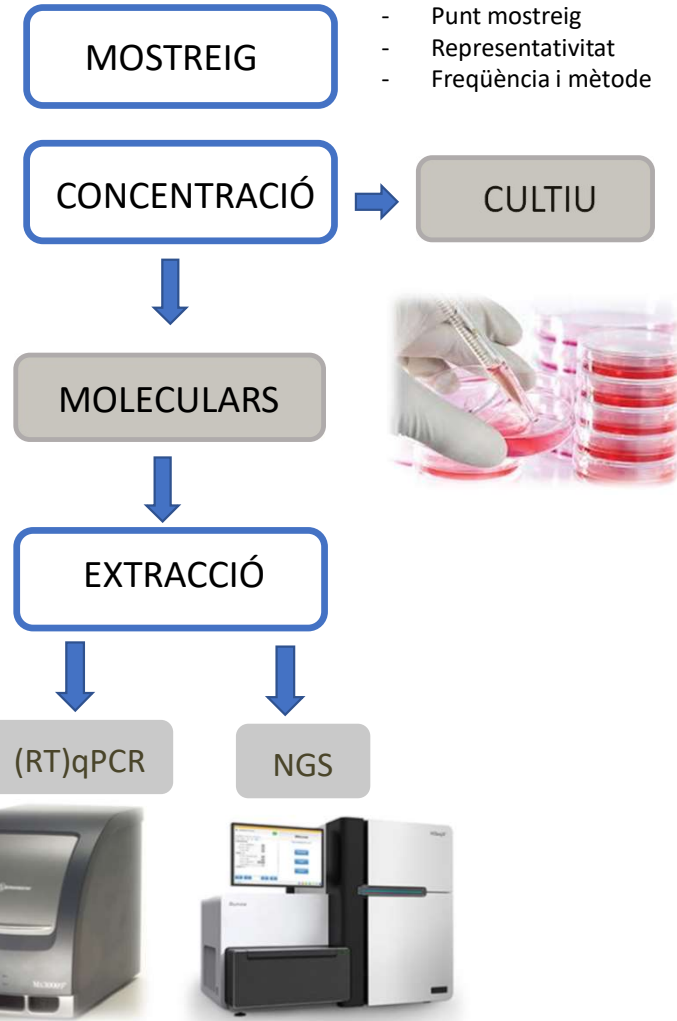
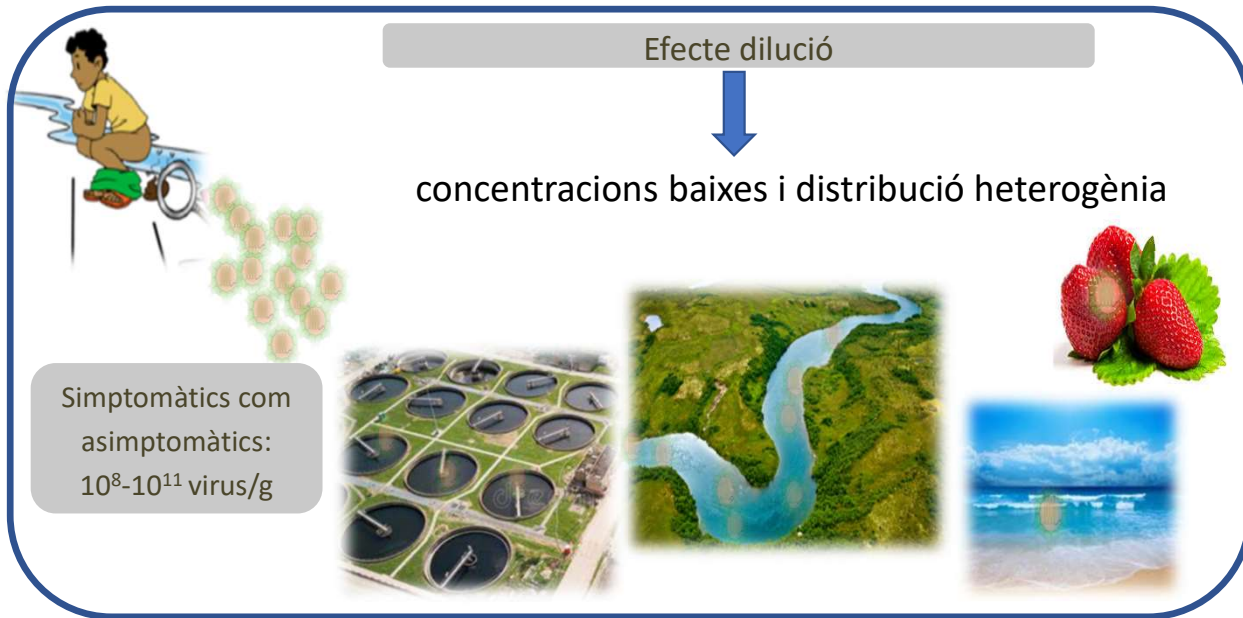


4. Epidemiologia basada en aigües residuals (WBE)

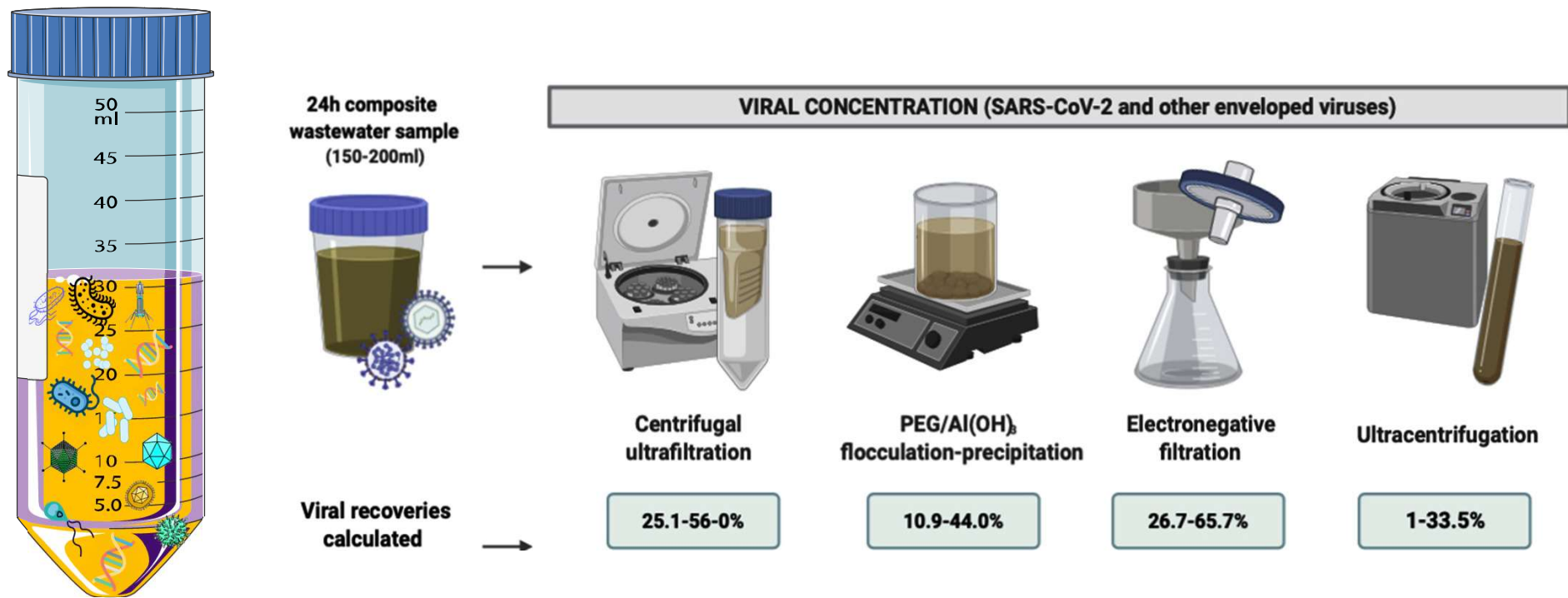


Imatge extreta de Polo et al., 2020

5. WBE aplicada al estudi de virus



5.1. Variabilitat de mètodes de concentració



Concentration methods for the quantification of coronavirus and other potentially pandemic enveloped virus from wastewater

Marta Rusiñol, Sandra Martínez-Puchol, Eva Forés, Marta Itarte, Rosina Girones, Sílvia Bofill-Mas

Curr Opin Environ Sci Health. 2020 Oct;17:21-28. doi: 10.1016/j.coesh.2020.08.002

5.2. Baixa concentració d'analits

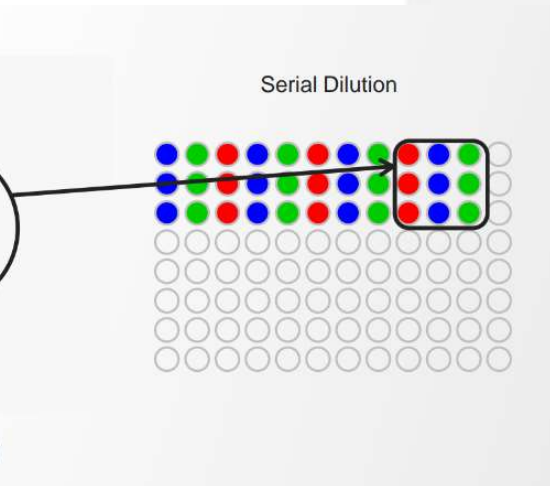
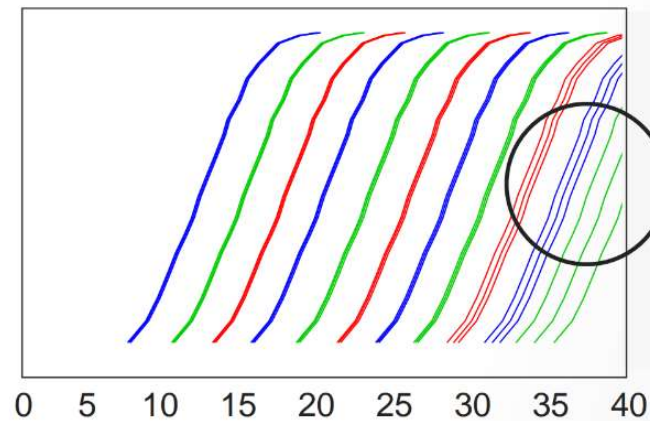


RT-qPCR

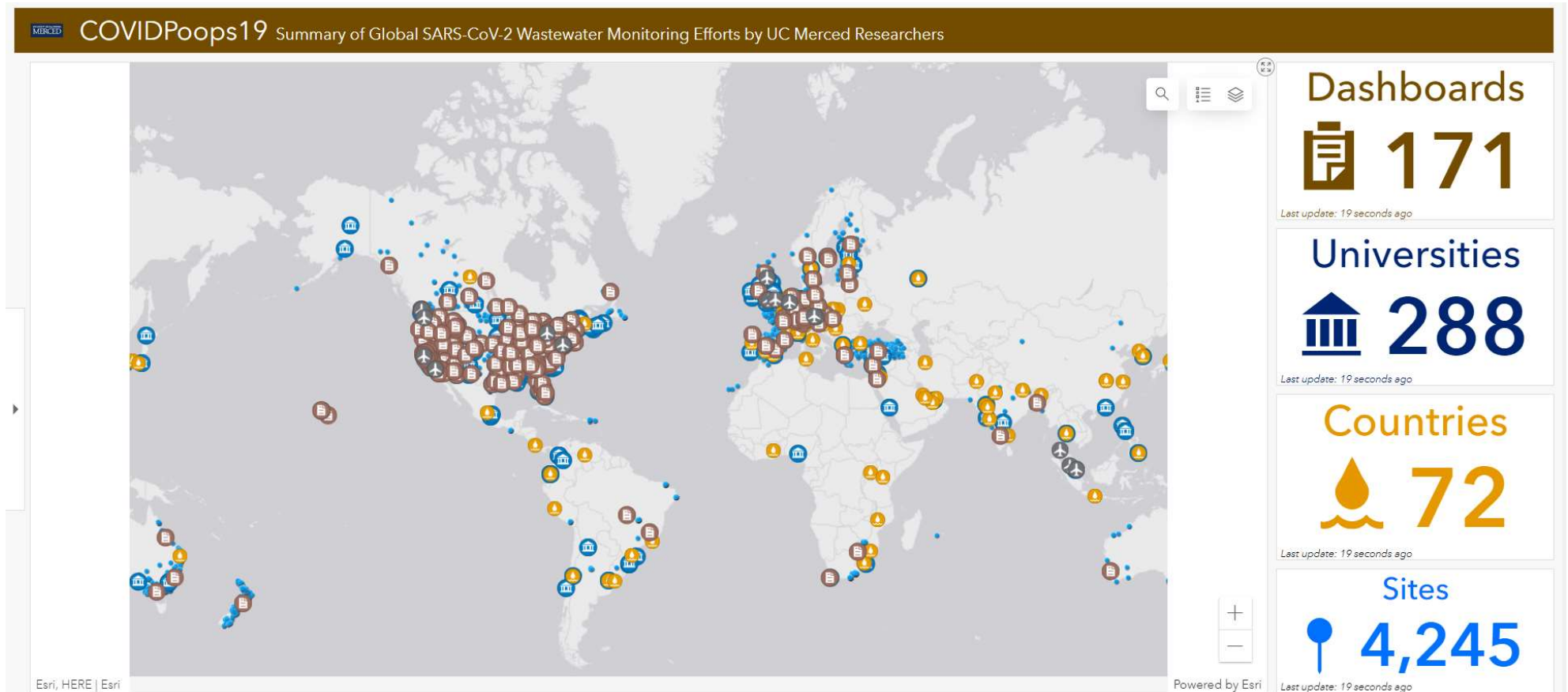
**Analits en baixa
concentració degut al
efecte dilució**



dPCR



5.4. WBE i SARS-CoV-2



<https://www.covid19wbec.org/covidpops19>

6. Aplicació: SARS-CoV-2 a Suïssa

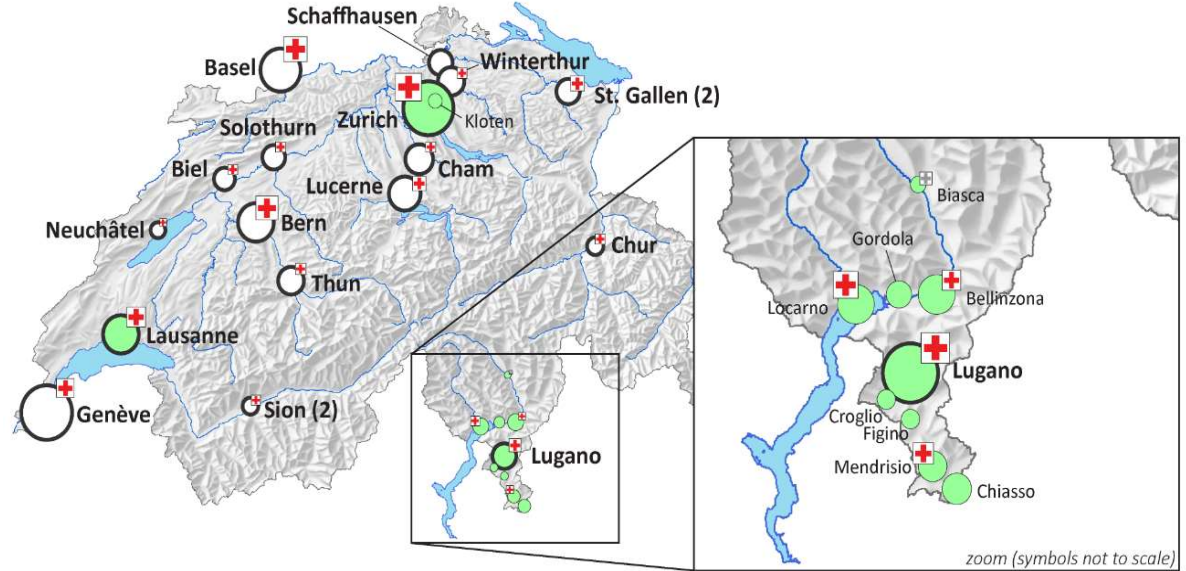


WWTP catchment

- = 100'000 people connected
- ⊕ = 1'000 hospital beds

Sampling

- = since 28 February 2020 (ongoing) - 12 WWTPs, approx. 914'000 people
- = early warning system (suggestion) - 19 WWTPs approx. 2.5 mio people



Swisstopo, DV 5704 000 000, reproduced with permission of swisstopo / JA100119

Graphic: C. Ort



EPFL

eawag
aquatic research

FNSNF

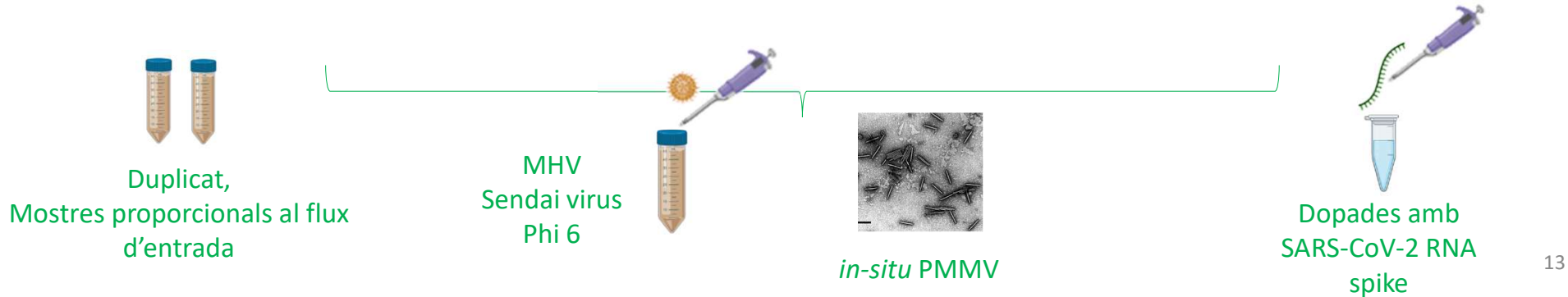
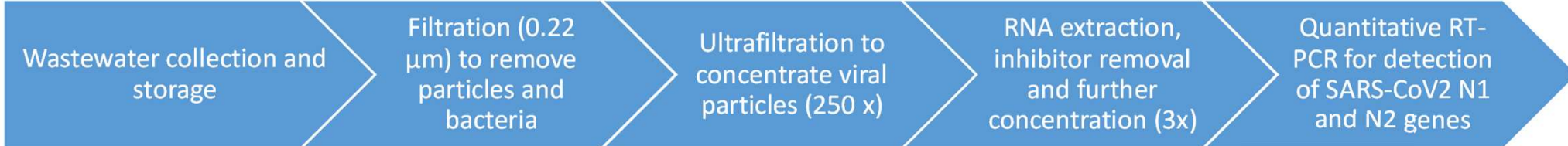
FONDS NATIONAL SUISSE
SCHWEIZERISCHER NATIONALFONDS
FONDO NAZIONALE SVIZZERO
SWISS NATIONAL SCIENCE FOUNDATION



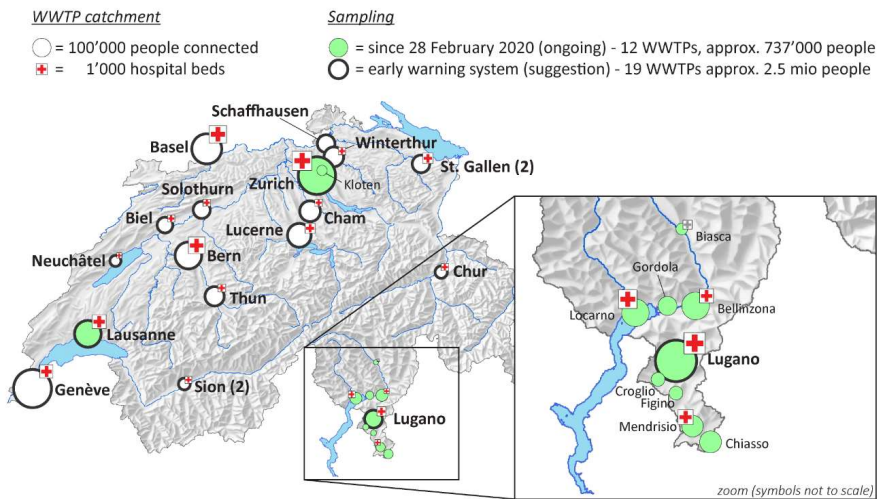
Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Bundesamt für Umwelt BAFU

6.1. Metodologia per detecció del SARS-CoV-2 a Suïssa



6.2. Determinació SARS-CoV-2 primera onada



- 3 plantes: Lausanne i Ticino (high), Zurich (low)
- Febrer-abril 2020
- 2 dianes estudiades per (RT)qPCR (N1 i N2)



Water Research
Volume 200, 15 July 2021, 117252



Wastewater monitoring outperforms case numbers as a tool to track COVID-19 incidence dynamics when test positivity rates are high

Xavier Fernandez-Cassi^a, Andreas Scheidegger^b, Carola Bänziger^b, Federica Cariti^a, Alex Tuñás Corzon^a, Pravin Ganesanandamoorthy^b, Joseph C. Lemaitre^c, Christoph Ort^b, Timothy R. Julian^{a, d, e}, Tamar Kohn^a



Estimació incidència SARS-CoV-2 a partir de l'aigua residual



Casos clínics confirmats

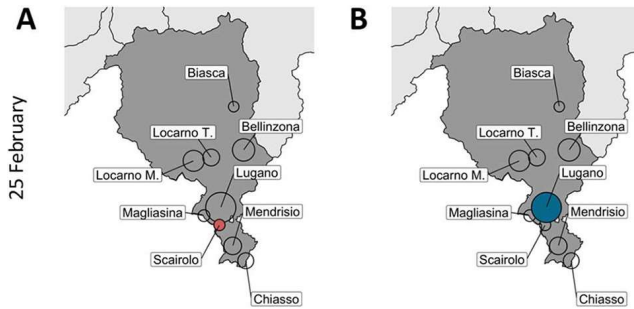
VS.

Referencia: Model no basat en casos clínics reportats i validat per estudis serològics (Lemaitre et al. 2020)

Quan la **taxa de positivitat és > 5%**, la mesura de la carrega de SARS-CoV-2 en aigua residual permet estimar millor la dinàmica de les malalties infeccioses que el nombre de casos confirmats.

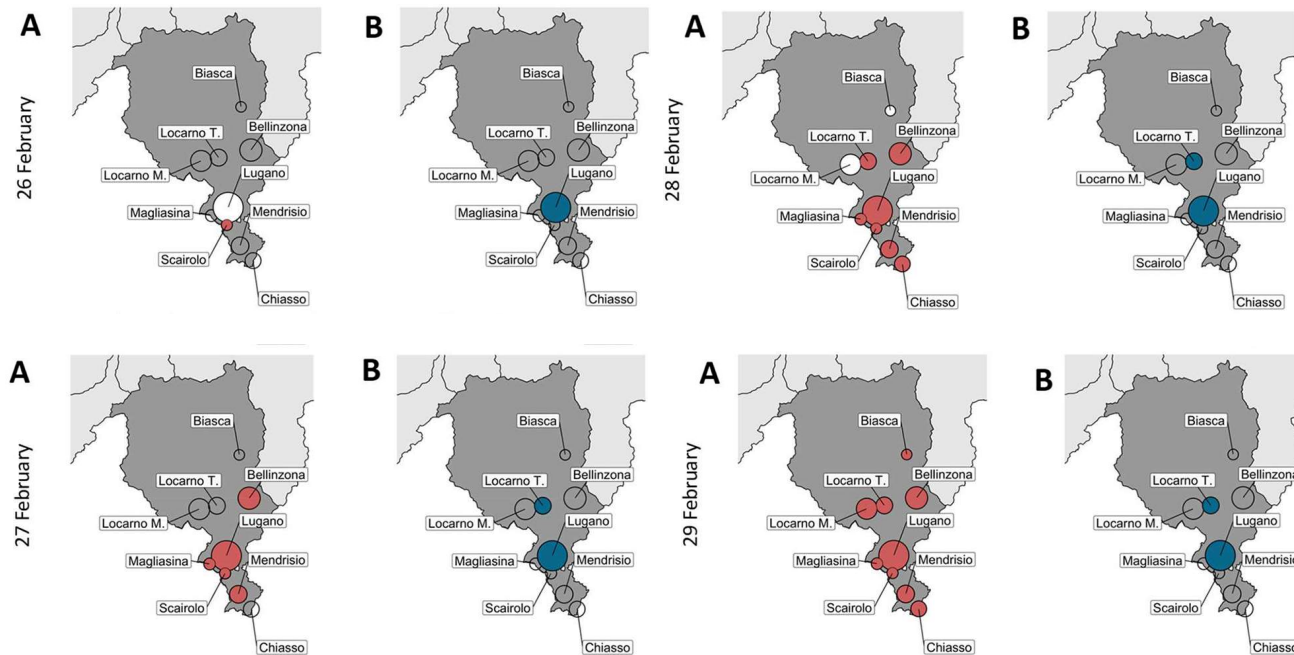
6.3. Expansió espai-temporal del SARS-CoV-2 Ticino

- Ticino fa frontera amb Itàlia
- 9 Plantes de tractament d'aigües
- 2 dianes estudiades per (RT)qPCR (N1 i N2)
- 1 diana per RT-PCR (S) – seq. sanger



A **Detecció en aigua residual**

B **Detecció en clínica**



RETURN TO ISSUE | < PREV ARTICLE NEXT >

Wastewater Reveals the Spatiotemporal Spread of SARS-CoV-2 in the Canton of Ticino (Switzerland) during the Onset of the COVID-19 Pandemic

Federica Cariti, Alex Tuñas Corzon, Xavier Fernandez-Cassi, Pravin Ganesanandamoorthy, Christoph Ort, Timothy R. Julian, and Tamar Kohn*

Cite this: *ACS EST Water* 2022, 2, 11, 2194–2200
 Publication Date: May 20, 2022
<https://doi.org/10.1021/acsestwater.2c00082>
 Copyright © 2022 The Authors. Published by American Chemical Society
[RIGHTS & PERMISSIONS](#)

Article Views | Altmetric | Citations
 1028 | 11 | 1
 LEARN ABOUT THESE METRICS

Share | Add to | Export

Al **29 de Febrer 2020**, SARS-CoV-2 ja era present a totes les conques

6.4. Altres treballs relacionats amb WBE

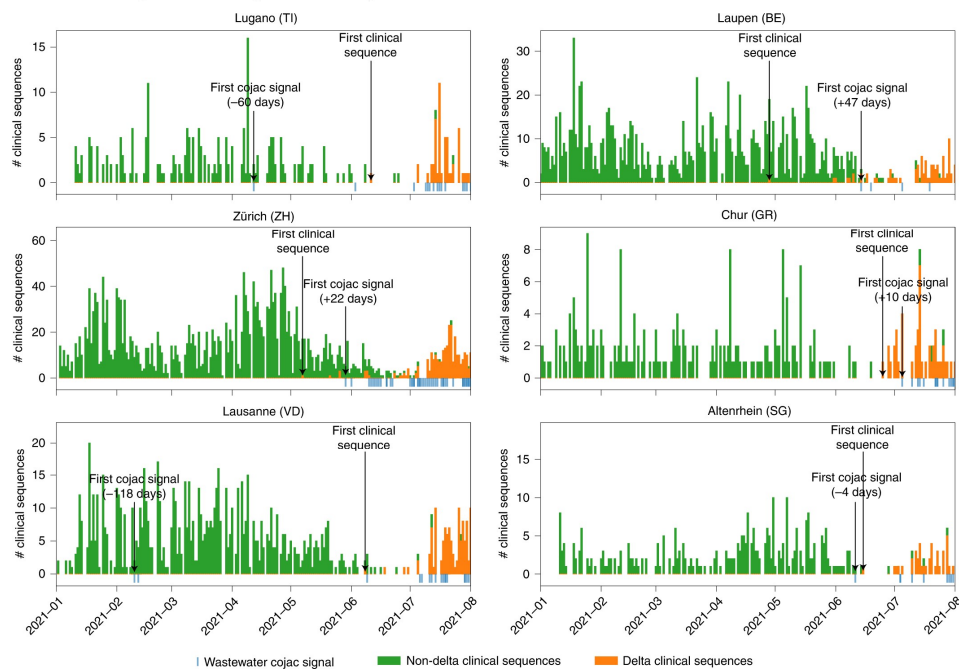
Article | Open Access | Published: 18 July 2022

Early detection and surveillance of SARS-CoV-2 genomic variants in wastewater using COJAC

[Katharina Jahn](#), [David Dreifuss](#), [Ivan Topolsky](#), [Anina Kull](#), [Pravin Ganesanandamoorthy](#), [Xavier Fernandez-Cassi](#), [Carola Bänziger](#), [Alexander J. Devaux](#), [Elyse Stachler](#), [Lea Caduff](#), [Federica Cariti](#), [Alex Tuñas Corzón](#), [Lara Fuhrmann](#), [Chaoran Chen](#), [Kim Philipp Jablonski](#), [Sarah Nadeau](#), [Mirjam Feldkamp](#), [Christian Beisel](#), [Catharine Aquino](#), [Tanja Stadler](#), [Christoph Ort](#), [Tamar Kohn](#), [Timothy R. Julian](#) & [Niko Beerenwinkel](#) ✉

Nature Microbiology 7, 1151–1160 (2022) | [Cite this article](#)

5929 Accesses | 20 Citations | 39 Altmetric | [Metrics](#)



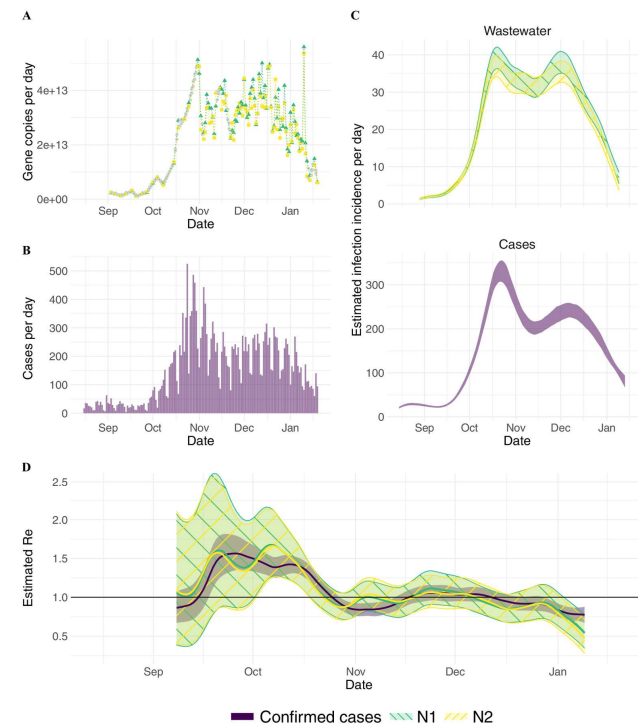
January and September 2021

Environ Health Perspect. 2022 May; 130(5): 057011.
 Published online 2022 May 26. doi: [10.1289/EHP10050](https://doi.org/10.1289/EHP10050)

PMCID: [PMC9135136](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35617001/)
 PMID: [35617001](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35617001/)

Wastewater-Based Estimation of the Effective Reproductive Number of SARS-CoV-2

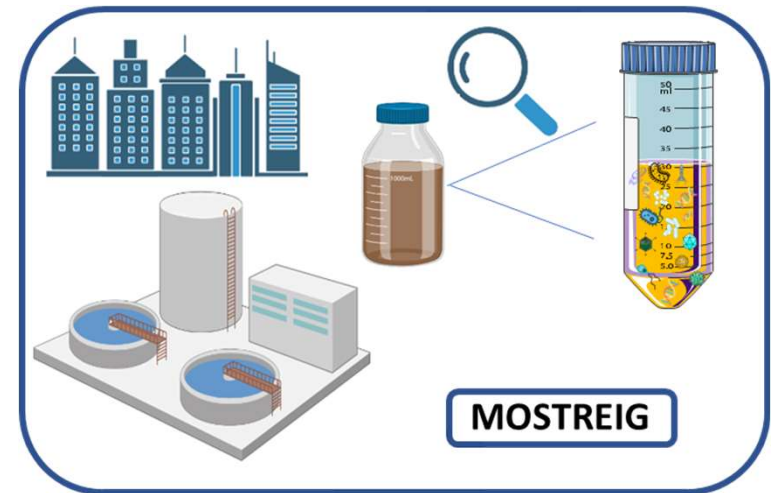
[Jana S. Huisman](#)^{1,2,3}, [Jérémie Scire](#)^{2,3}, [Lea Caduff](#)⁴, [Xavier Fernandez-Cassi](#)⁵, [Pravin Ganesanandamoorthy](#)⁴, [Anina Kull](#)⁴, [Andreas Scheidegger](#)⁴, [Elyse Stachler](#)⁴, [Alexandria B. Boehm](#)⁶, [Bridgette Hughes](#)⁷, [Alisha Knudson](#)⁷, [Aaron Topol](#)⁷, [Krista R. Wigginton](#)⁸, [Marlene K. Wolfe](#)⁶, [Tamar Kohn](#)⁵, [Christoph Ort](#)⁴, [Tanja Stadler](#)^{2,3}, [and Timothy R. Julian](#)^{4,9,10}*



7. Estudi dels virus circulants a Lausana

PROJECTE METAVIR

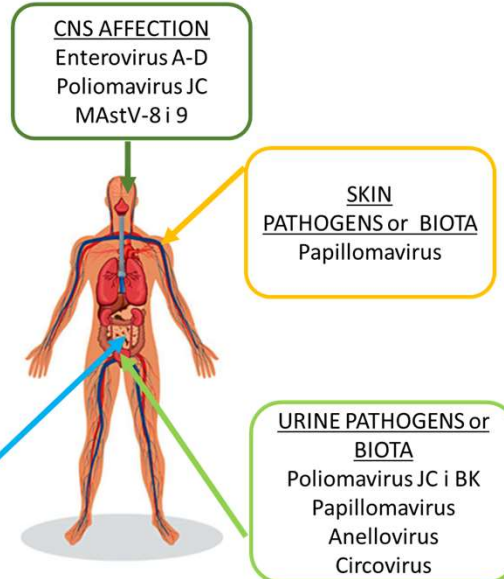
Objectiu: Fer vigilància epidemiològica a partir d'aigua residual per estudiar els enterovirus circulants mitjançant l'aplicació de seqüenciació massiva d'amplicons i estudi del viroma circulant



EDAR Lausanne Vidy ≈240.000 habitants equivalents

Novembre 2018 - Octubre 2019

2L aigua residual (composta 24h)



CNS AFFECTION
Enterovirus A-D
Poliomavirus JC
MAstV-8 i 9

SKIN
PATHOGENS or BIOTA
Papillomavirus

URINE PATHOGENS or BIOTA
Poliomavirus JC i BK
Papillomavirus
Anellovirus
Circovirus

GASTROENTERITIS
Norovirus GI i GII
SaV
Astrovirus:
MAstV-1, 6, 8 i 9
Adenovirus 40 i 41
Rotavirus A
Enterovirus A-D
Aichi virus

HEPATITIS
Virus hepatitis E
Virus hepatitis A

PATHOGENS or BIOTA?
Cardiovirus
Parvovirus:
Bufavirus
HBoV
Picobirnavirus
Klassevirus/salivirus
Cosavirus

7.1. Concentració de virus i preparació de mostres

600 ml aigua residual



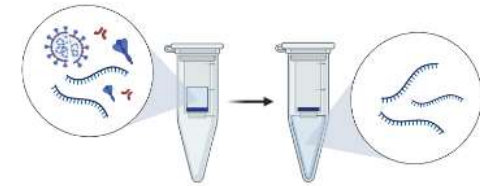
Filtració 0,45 & 0,22 µm



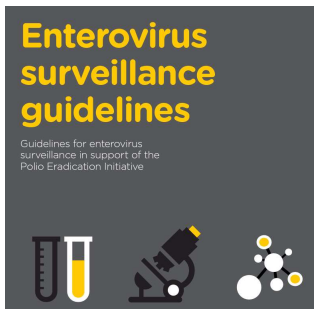
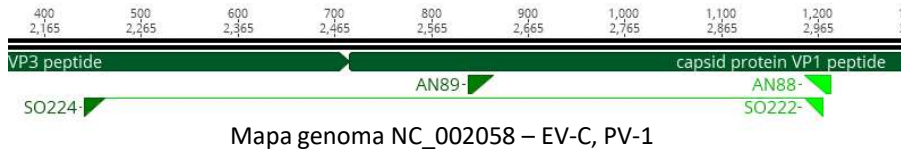
Concentració per ultrafiltració



Extracció dels àcids nucleics



A) Estudi d'amplicons (ADS)

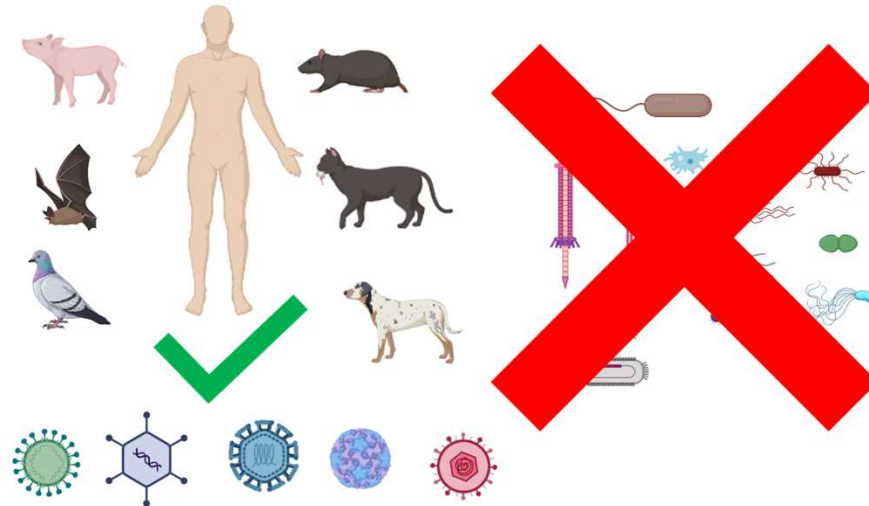


WHO Regional Office for Europe, 2015



Preparació de llibreries i seqüenciació amplicons amb MiSeq

B) Estudi de metaviroma de vertebrats



A) Enterovirus

PICORNAVIRIDAE

— Genus: *Enterovirus*

Species: *Enterovirus A*

Species: *Enterovirus B*

Species: *Enterovirus C*

Species: *Enterovirus D*

Species: *Enterovirus E*

Species: *Enterovirus F*

Species: *Enterovirus G*

Species: *Enterovirus H*

Species: *Enterovirus I*

Species: *Enterovirus J*

Species: *Enterovirus K*

Species: *Enterovirus L*

Species: *Rhinovirus A*

Species: *Rhinovirus B*

Species: *Rhinovirus C*



Infeccions subclíniques

Altament resistent al ambient

Transmissió: fecal-oral
fòmils
respiratòria

> 300 tipus dins del gènere

> 116 tipus *Enterovirus A-D*

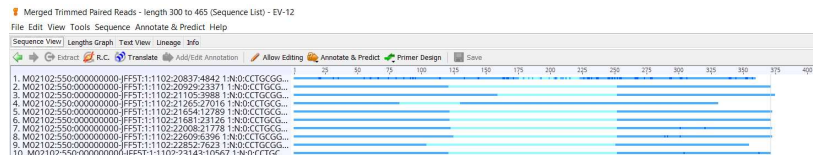
> 169 tipus de *Rhinovirus A-C*

A) Estudi d'amplicons d' EV - Anàlisi Bioinformàtic



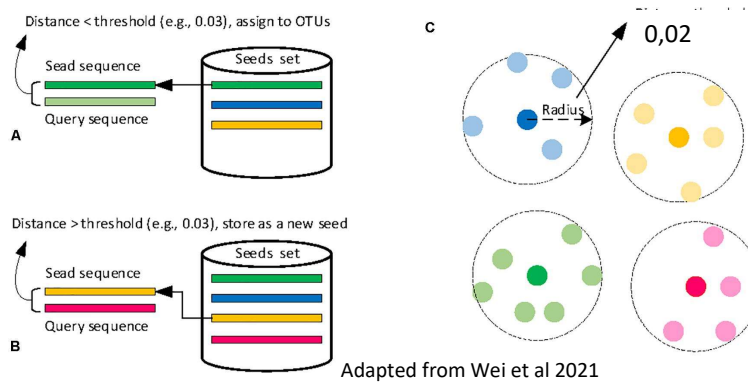
Importar els raw reads

geneIOUS



Control de qualitat + aparellament + combinació de lectures

Clustered using CD-HIT_EST



-Lectures <300bp van ser descartades

-OTUs al 98% homologia

CRITERIS per classificar

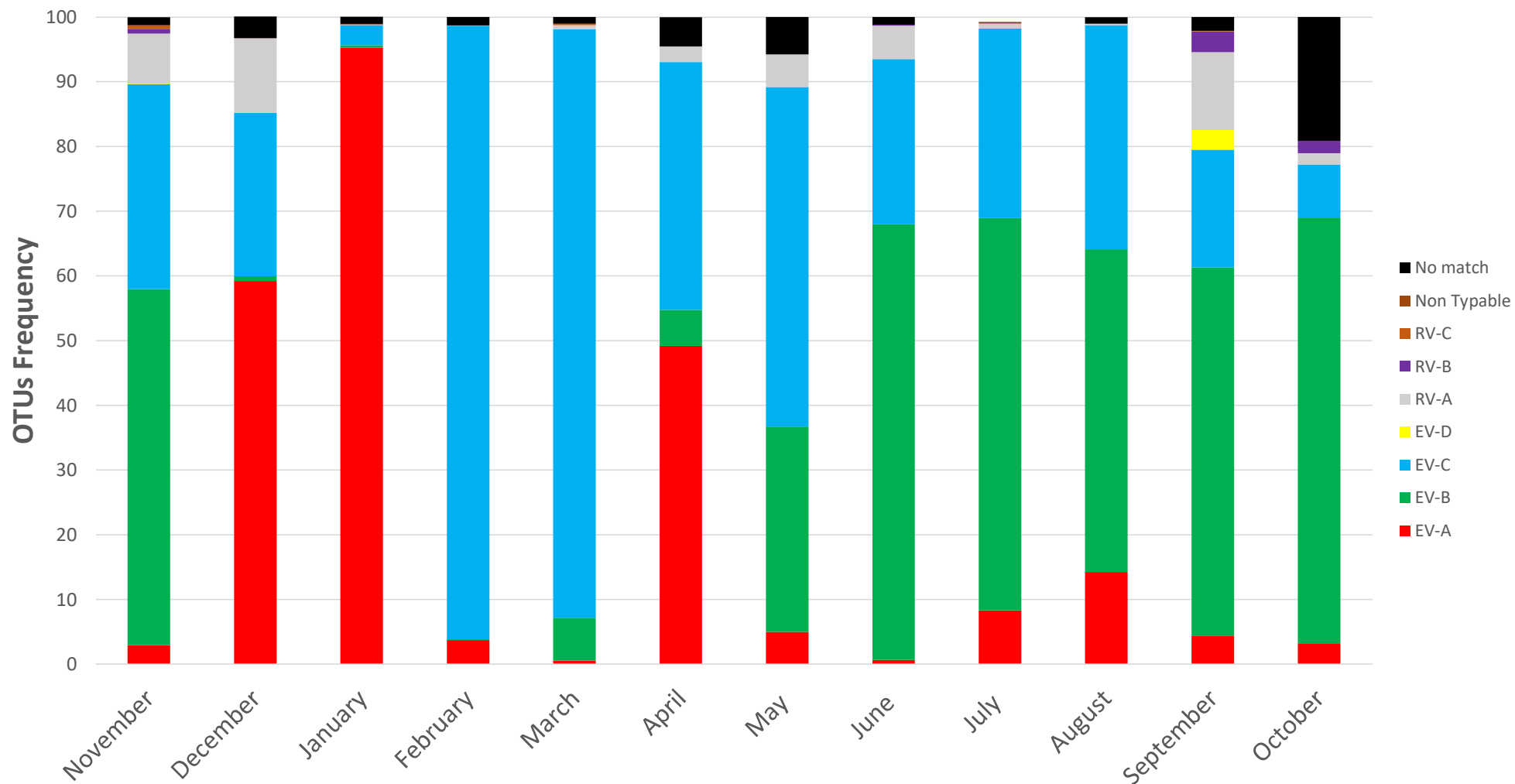
Min overlap 250bp

EV tipus quan homologia > 70%

Espècies > 60%

Família > 50%

A) RESULTATS: Espècies d'EV detectades



B) Estudi del metaviroma de vertebrats en aigües residuals

Icones de plantes depuradores d'aigües residuals i un botell de mostra.

MOSTREIG

Filtració 0,45 & 0,22 μm

Concentració per ultrafiltració

CONCENTRACIÓ

Concentració de partícules víriques i eliminació d'ADN i ARN lliure

Extracció d'àcids nuclears (ADN i ARN)

1. Primer A 3. RNase H

3. Retrotranscripció 4. Sequenasa

Mètode SISPA (Amplificació individual independent de seqüència) per generar ADN de doble cadena a partir de l'extracció d'ADN i ARN

Amplificació (25 cicles) de l'ADN extret i retrotranscrit

ADN motlle pre-amplificat

PRE-AMPLIFICACIÓ

Llibreries de seqüenciació (fragmentació + lligació adaptadors i índexs)

Sondes d'hibridació de llibreries víriques unides a biotina

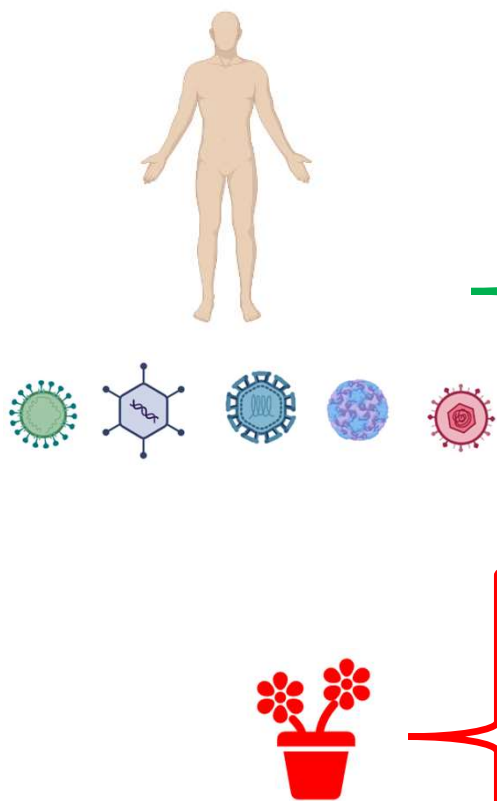
TWIST BIOSCIENCE

Captura magnètica de llibreries víriques conjugades a biotina-estreptavidina

CAPTURA

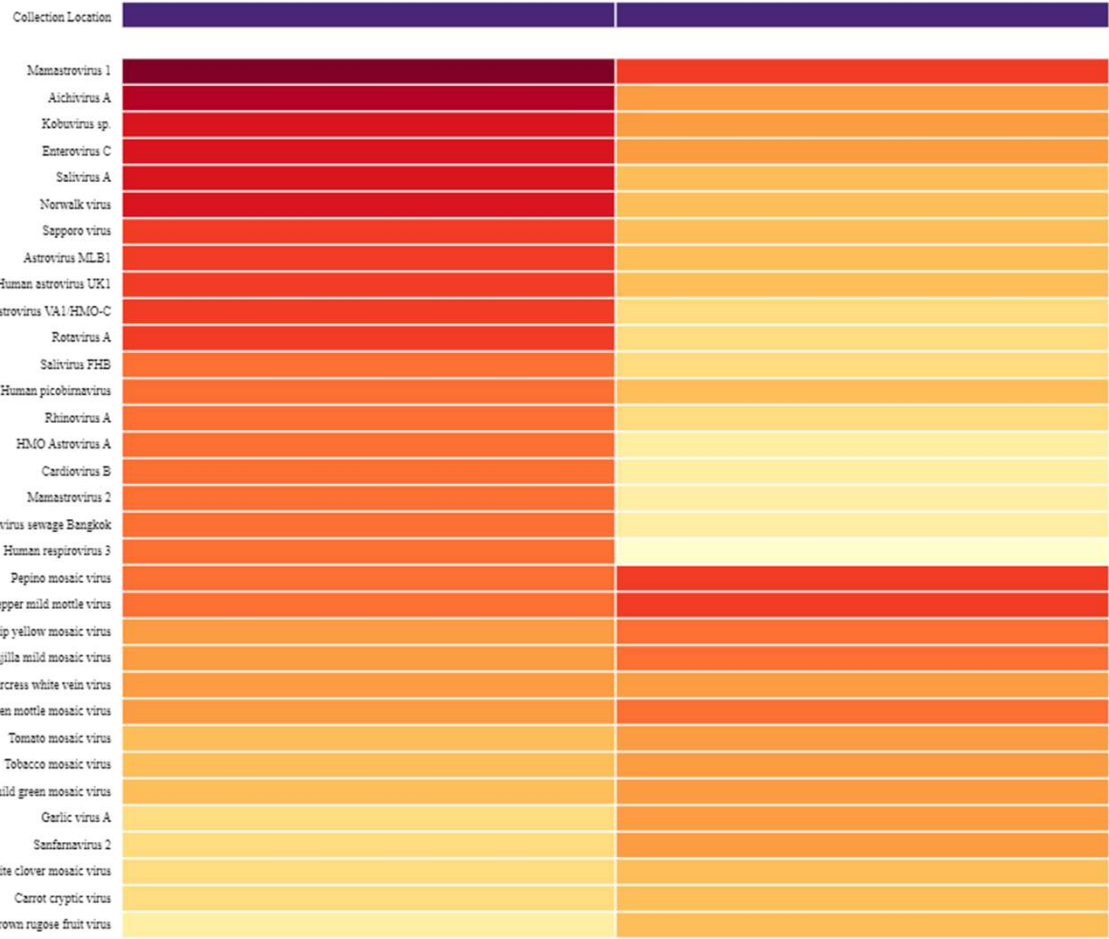
SEQUENCIACIÓ i BIOINFORMÀTICA

B) Virus RNA en aigua residual

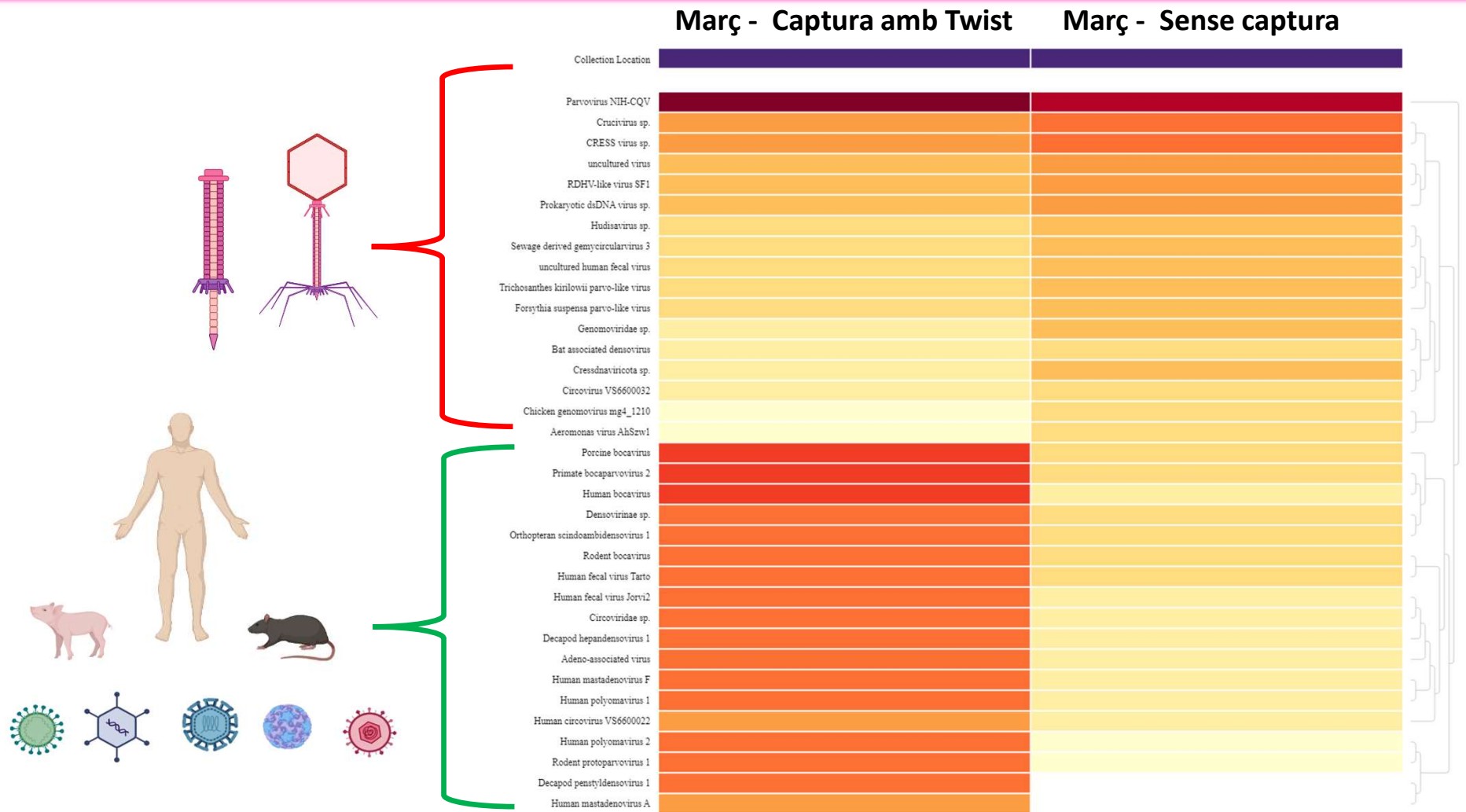


Març - Captura amb Twist

Març - Sense captura



B) Virus DNA en aigua residual



8. Aplicació de WBE a Sao Tome



Democratic Republic of São Tomé and Príncipe (STP)



- 210,000 habitants
- Més de 2/3 de la població viu amb <math>< 3.2\text{\\$}</math> per dia
- País de parla portuguesa més petit del món
- Dos illes principals, localitzades ~250 km de la costa nord-oest de Gabon

Sources: World food programme, World bank
<https://reliefweb.int/report/sao-tome-and-principe/wfp-sao-tome-and-principe-country-brief-july-2020>

8.1. Sao Tome i punts de mostreig

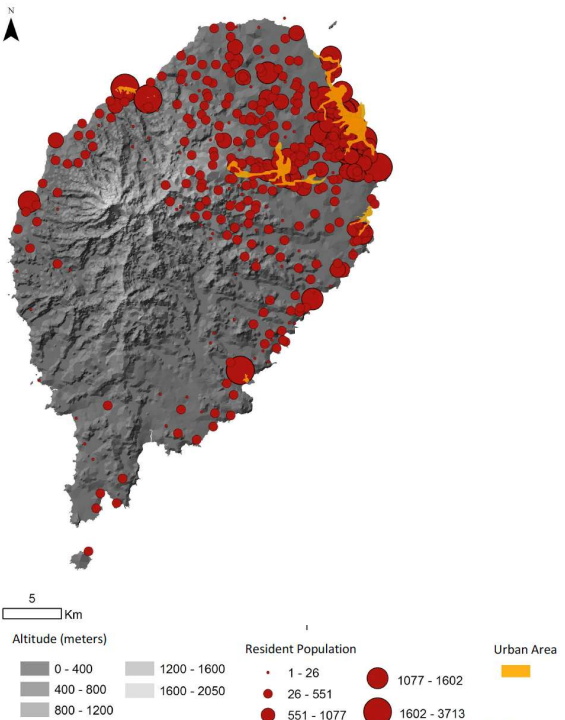


Figure 4: Population Distribution (2001)^{54,58,59}.



- 1 - Liceu (Secondary school)
- 2 - Vila Maria neighbourhood
- 3- Bobo Forro market place
- 4- Lucumi neighbourhood
- 5- Ponte Graça neighbourhood
- 6- USTP (São Tomé University)
- 7- Major Hospital in STP



Vila Maria

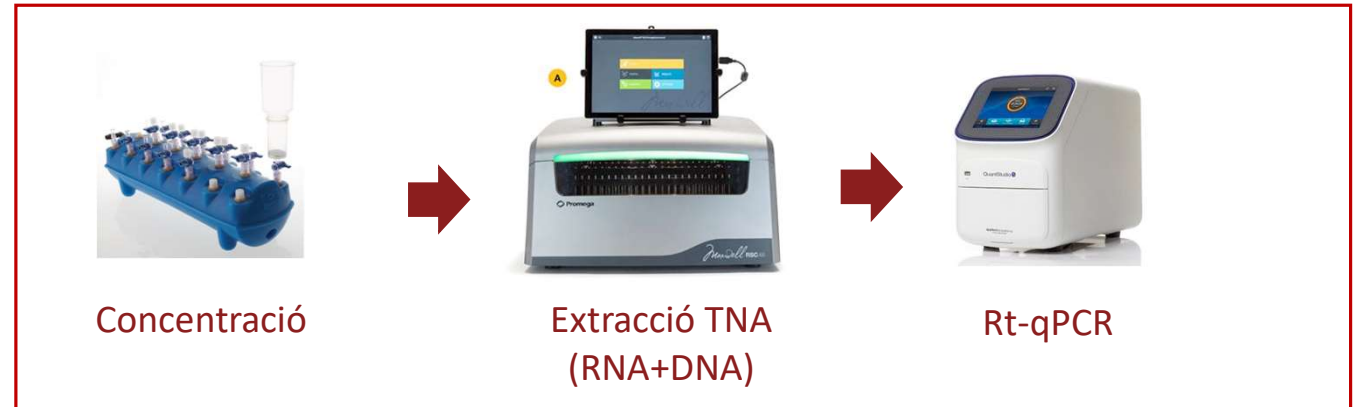
Figure from Costa et al. (2009) II International Conference on Sustainability Measurement and Modelling ICSMM09, map: www.google.maps

8.2. Workflow



- Detecció dels següents **patògens**:
- SARS-CoV-2
 - Hepatitis A
 - Enterovirus
 - Polyomavirus JC

Caracterització molecular



Caracterització microbiològica

GRÀCIES!!!



VirBaP

VIRUS, BACTERIS I PROTOZOUS D'INTERÈS
EN SALUT PÚBLICA, AIGUA I ALIMENTS