

### Surveillance environnementale pour l'éradication des poliovirus

**Résumé** La surveillance des poliovirus est l'un des piliers de l'Initiative mondiale d'éradication de la poliomyélite. Elle est indispensable pour établir l'aire de circulation des lignages de poliovirus et pour détecter toute introduction dans un territoire indemne afin de diriger les ripostes vaccinales. Puisque la plupart des personnes infectées excrètent des poliovirus durant plusieurs semaines sans symptômes sévères, la surveillance clinique n'est pas suffisante pour établir un système de surveillance sensible ; elle doit être complétée par une surveillance environnementale consistant à détecter la présence de poliovirus dans les eaux usées. La technique actuellement utilisée par le réseau mondial des laboratoires polio repose sur l'isolement des poliovirus en culture cellulaire après concentration des eaux usées. Cette méthode est très sensible, mais elle requiert une main d'œuvre relativement importante, ce qui conduit de nombreux États à ne pas la mettre en place. D'intenses recherches sont actuellement menées pour lui substituer des techniques basées sur le séquençage à haut-débit qui pourraient permettre d'en diminuer le coût.

**Mots-clés** Poliovirus, poliomyélite, éradication, surveillance environnementale, entérovirus.

**Abstract** Environmental surveillance of poliovirus circulation

The surveillance of poliovirus circulation is one of the pillars of the Global Polio Eradication Initiative. It is useful to establish the respective circulation area of distinct poliovirus lineages and to detect any importation in a poliovirus-free area. Since most people infected by a poliovirus shed infectious particles for weeks with no symptoms, the clinical surveillance is not sensitive and it must be supplemented by the environmental surveillance, which aims to detect polioviruses in wastewater. For this purpose, the current gold standard technique relies on the isolation of polioviruses in cell cultures after concentrating the wastewater samples. This technique is highly sensitive, but it requires a lot of manpower, which impairs its implementation in many countries. Intense research is currently ongoing to develop alternate molecular methods that would reduce the costs of the environmental surveillance of polioviruses by skipping the step of virus isolation in cell cultures.

**Keywords** Poliovirus, poliomyelitis, eradication, environmental surveillance, enterovirus.

Depuis 1988, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) coordonne le programme d'éradication des poliovirus. Ces virus sont responsables de la poliomyélite, une maladie caractérisée par une perte de tonus musculaire irréversible qui peut toucher tous les muscles squelettiques (encadré 1). La poliomyélite est due à la destruction de neurones moteurs par des particules virales ayant atteint le système nerveux central. L'étendue des paralysies dépend du nombre de neurones détruits et de leur localisation. Les séquelles de la poliomyélite sont souvent lourdes et la maladie peut être mortelle lorsque les paralysies touchent les muscles ventilatoires.

#### Pourquoi surveiller les poliovirus ?

Le programme d'éradication repose sur deux piliers : la vaccination des enfants et la surveillance des poliovirus. La surveillance a plusieurs objectifs : dans les régions où la circulation des poliovirus est connue, elle permet d'évaluer l'efficacité des campagnes de vaccination ; dans les régions indemnes de poliovirus, elle permet de révéler l'introduction de poliovirus et de déclencher des ripostes vaccinales afin d'endiguer au plus vite le virus pour limiter son étendue géographique. La surveillance vise à confirmer ou infirmer la présence d'un poliovirus dans les échantillons analysés et d'en établir les liens épidémiologiques éventuels avec des poliovirus précédemment détectés par ailleurs. Cette analyse épidémiologique repose sur la comparaison de la séquence génétique des poliovirus nouvellement identifiés avec la base de données du réseau des laboratoires polio.

#### Encadré 1

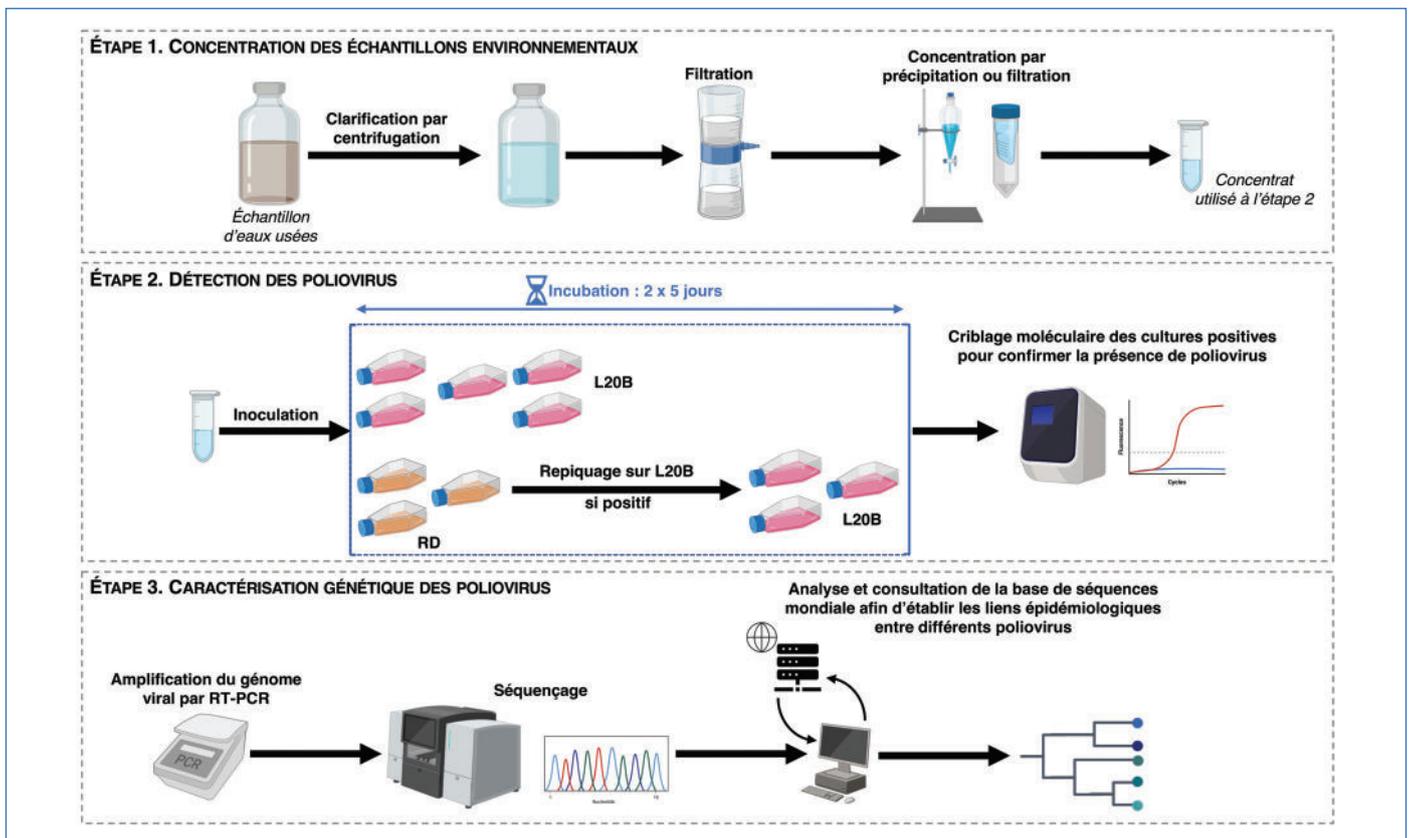
##### Poliomyélite & poliovirus

La poliomyélite est une maladie caractérisée par des paralysies irréversibles qui peuvent toucher tous les muscles squelettiques. La maladie est causée par les poliovirus, de petits virus à ARN non-enveloppés de la famille *Enterovirus*. Bien que toute personne non immunisée puisse avoir la poliomyélite, cette maladie s'observe essentiellement chez les enfants de moins de 5 ans. Cela est dû au caractère très contagieux du virus auquel il est rare de ne pas avoir été exposé dans la petite enfance.

Le site de réplication principal des poliovirus se situe dans les intestins. Dans la plupart des cas, l'infection par un poliovirus est asymptomatique ou paucisymptomatique. On estime que seule une personne infectée sur 200 à 1 000 développera des symptômes de poliomyélite. La maladie est due à la destruction de neurones moteurs par le virus. L'étendue des paralysies dépend du nombre de neurones détruits et de leur localisation. La poliomyélite peut être mortelle lorsque les paralysies touchent les muscles ventilatoires. Les particules virales produites par la personne infectée étant excrétées dans ses selles, la voie féco-orale constitue le mode de transmission principal des poliovirus. Même en l'absence de symptôme, l'excrétion de particules virales dure généralement plusieurs semaines.

#### Quel est l'intérêt de la surveillance environnementale ?

La surveillance des poliovirus est compliquée par la faible proportion de formes symptomatiques parmi les personnes infectées (moins de 1 %). En ne basant la surveillance que



Description du processus de détection et de caractérisation des poliovirus présents dans les échantillons environnementaux (créée avec Biorender).

sur la surveillance clinique, on manque ainsi plus de 99 % des infections. Puisque les personnes infectées (symptomatiques ou non) excrètent des poliovirus dans les selles durant plusieurs semaines, la circulation de poliovirus peut être révélée par l'analyse des eaux usées.

C'est pourquoi l'OMS encourage la mise en place d'une surveillance environnementale basée sur la recherche de poliovirus dans les eaux usées [1]. Celle-ci doit permettre de révéler la circulation de poliovirus dans une région donnée avant que les premiers cas de poliomyélite ne surviennent.

### Quelles sont les techniques mises en œuvre ?

La surveillance environnementale ciblant les poliovirus se découpe en plusieurs étapes (voir figure). En premier lieu, les échantillons collectés doivent être concentrés par précipitation ou filtration. Les concentrats servent ensuite à inoculer des cellules permissives aux poliovirus. Il est recommandé d'inoculer deux lignées cellulaires en parallèle :

- les cellules RD (cellules humaines de rhabdomyosarcome) qui sont très sensibles aux poliovirus, mais sur lesquelles d'autres entérovirus peuvent également pousser ;
- les L20B, des cellules murines beaucoup plus spécifiques des poliovirus. Il s'agit de cellules transgéniques qui possèdent le gène du récepteur des poliovirus.

La présence de virus dans les cultures est révélée par une forte mortalité des cellules. Le repiquage des cultures de RD positives sur des cellules L20B permet d'isoler les poliovirus en éliminant la très grande majorité des autres entérovirus. L'identification de poliovirus dans les cultures positives se fait par une batterie de tests moléculaires [2]. Enfin, une partie du génome des poliovirus détectés doit être séquencée afin d'établir les liens épidémiologiques entre ceux-ci et des poliovirus isolés précédemment ou par ailleurs.

La surveillance environnementale est particulièrement utile pour détecter la circulation de poliovirus avant l'apparition des premiers cas cliniques (encadrés 2 et 3) mais elle ne se limite pas à détecter les poliovirus : elle vise aussi à établir la carte d'identité génétique de chaque isolat afin d'identifier les lignages détectés. Ces données génétiques sont précieuses à plusieurs titres. En effet, elles permettent d'établir une cartographie précise de l'aire de circulation d'un lignage particulier, d'identifier l'origine des souches en cas d'importation et d'évaluer l'efficacité des campagnes de vaccination sur la circulation des lignages de poliovirus détectés.

### Vers une surveillance environnementale généralisée des poliovirus ?

Malgré son intérêt, peu de pays ont mis en place une surveillance environnementale de routine pour plusieurs raisons. En premier lieu, de nombreux pays (dont la France) estiment que la circulation de poliovirus sur leur territoire n'est pas un problème important car la couverture vaccinale de leur population est suffisante pour éviter les cas de poliomyélite. Cet optimisme est à modérer, car les taux moyens de couverture peuvent cacher de fortes disparités au sein de la population ; ainsi, le jeune homme atteint de poliomyélite à New York en 2022 (encadré 3) appartenait à une communauté religieuse orthodoxe qui refuse toute vaccination. L'analyse des données de vaccination anti polio a révélé que certains quartiers de New York affichaient des taux de vaccination supérieurs à 99 % tandis que moins de 60 % des personnes étaient vaccinées dans les quartiers voisins [3].

Le second frein au développement d'une surveillance environnementale de routine des poliovirus est son coût : le recours à l'étape d'isolement des poliovirus en cultures cellulaires nécessite une main d'œuvre importante et ne peut pas être

## Encadré 2

### Israël, 2013-2014

En avril 2013, la surveillance environnementale réalisée en Israël détectait une souche de poliovirus dans un échantillon d'eaux usées ; le séquençage génétique révélait sa proximité avec des souches circulant alors au Pakistan [10]. À partir de cette date, cette même souche était détectée de façon répétée dans de multiples stations de traitement du pays, signalant sa circulation active au sein de la population [11]. Les chaînes de transmission se sont établies malgré l'excellente couverture vaccinale dans le pays (supérieure à 95 %) car le vaccin polio injectable utilisé dans le pays protège très efficacement de la maladie mais il n'empêche pas l'infection. La circulation du virus n'a pu être interrompue qu'après revaccination des enfants avec le vaccin polio oral : en induisant une immunité au niveau de la muqueuse intestinale, ce dernier protège plus efficacement que le vaccin injectable contre l'infection (et pas seulement contre la maladie). Finalement, la souche importée aura circulé silencieusement durant 12 mois consécutifs dans le pays.

## Encadré 3

### Londres, New York et Israël, 2022

En février 2022, un poliovirus était détecté dans les eaux usées de Londres [12]. La détection répétée de la même souche dans plusieurs stations de Londres au cours des mois suivants alertait sur la mise en place de chaînes de transmission. En juin 2022, à New York, un jeune homme non vacciné présentait un tableau clinique évocateur de la poliomyélite [13]. Les investigations menées confirmaient son infection par un poliovirus. Une recherche rétrospective dans des eaux usées collectées à New York au cours des mois précédents révélait que la souche détectée chez le malade circulait depuis le mois de mai à New York [14]. De façon inattendue, les poliovirus trouvés à New York et à Londres étaient indubitablement liés génétiquement les uns aux autres. Ils étaient également liés à des poliovirus révélés à la même période par la surveillance environnementale en Israël [15]. Ainsi, la même souche de poliovirus a circulé durant plusieurs mois dans trois pays. Du fait de la bonne couverture vaccinale dans ces pays, cette circulation active n'a causé qu'un cas de poliomyélite.

automatisée. Le développement de techniques alternatives qui permettraient de détecter et de séquencer le génome de poliovirus directement à partir d'acides nucléiques extraits d'échantillons environnementaux est l'une des priorités du réseau polio de l'OMS [4]. Il se heurte à plusieurs difficultés techniques. D'abord, les poliovirus appartiennent à la grande famille des entérovirus, dont plus d'une centaine de types infectent l'Homme. La détection moléculaire spécifique des poliovirus doit donc cibler des régions génomiques dont la séquence diffère chez les poliovirus et chez les autres entérovirus. De telles régions existent, mais elles ne sont pas suffisamment conservées parmi les poliovirus pour ne pas avoir à recourir à des amorces dégénérées qui font chuter la sensibilité des tests de détection. Par ailleurs, les quantités d'ARN de poliovirus extraits des échantillons environnementaux sont généralement trop faibles pour permettre l'obtention de séquences de bonne qualité, d'autant plus qu'un même échantillon environnemental contient parfois plusieurs souches de poliovirus.

La surveillance environnementale est un outil indispensable pour le programme d'éradication. L'optimisation des protocoles d'extraction des acides nucléiques depuis les eaux usées combinée à l'amélioration des techniques de séquençage à haut débit pourrait permettre dans les prochaines années de faire chuter drastiquement la charge de travail et le coût associés à la surveillance environnementale. Dans ces conditions, de nombreux pays pourraient être enclins à mettre en place une surveillance de routine des poliovirus comme préconisée par l'OMS, d'autant plus que cette surveillance révèle en parallèle de nombreux autres entérovirus. Plusieurs études ont montré que la surveillance environnementale permettait de mettre en lumière des entérovirus non détectés par la surveillance clinique, car rarement associés à des symptômes sévères [5-7]. Le suivi de ce type de virus est pourtant d'intérêt car il existe plusieurs exemples d'entérovirus considérés comme bénins durant des décennies et soudainement devenus plus virulents [8,9]. L'intérêt de la surveillance environnementale des poliovirus dépasse donc le cadre du programme polio et constitue un outil précieux de santé publique.

- [1] World Health Organization, *Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation*, 2003.
- [2] H. Sun *et al.*, Validation of a redesigned pan-poliovirus assay and real-time PCR platforms for the global poliovirus laboratory network, *PLoS One*, 2021, 16(8), e0255795.
- [3] B. Kasstan *et al.*, Poliovirus outbreak in New York State, August 2022: qualitative assessment of immediate public health responses and priorities for improving vaccine coverage, *Epidemiol. Infect.*, 2023, 151, e120.
- [4] A.G. Shaw *et al.*, Rapid and sensitive direct detection and identification of poliovirus from stool and environmental surveillance samples by use of nanopore sequencing, *J. Clin. Microbiol.*, 2020, 58(9), e00920-20.
- [5] M. Majumdar *et al.*, Environmental surveillance reveals complex enterovirus circulation patterns in human populations, *Open Forum Infect. Dis.*, 2018, 5(10), ofy250.
- [6] M. Bisseux *et al.*, Monitoring of enterovirus diversity in wastewater by ultra-deep sequencing: an effective complementary tool for clinical enterovirus surveillance, *Water Res.*, 2020, 169, 115246.
- [7] M. Bisseux *et al.*, Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015, *Euro Surveill.*, 2018, 23(7,17), 00237.
- [8] T. Solomon *et al.*, Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71, *Lancet Infect. Dis.*, 2010, 10(11), p. 778-790.
- [9] C.C. Holm-Hansen, S.E. Midgley, T.K. Fischer, Global emergence of enterovirus D68: a systematic review, *Lancet Infect. Dis.*, 2016, 16(5), p. 64-75.
- [10] E. Anis *et al.*, Insidious reintroduction of wild poliovirus into Israel, *Euro Surveill.*, 2013, 18(38), 20586.
- [11] L.M. Shulman *et al.*, Genetic analysis and characterization of wild poliovirus type 1 during sustained transmission in a population with >95% vaccine coverage, Israel 2013, *Clin. Infect. Dis.*, 2015, 60(7), p. 1057-64.
- [12] D. Klapa *et al.*, Sustained detection of type 2 poliovirus in London sewage between February and July, 2022, by enhanced environmental surveillance, *Lancet*, 2022, 400(10362), p. 1531-38.
- [13] R. Link-Gelles *et al.*, 2022 U.S. poliovirus response team. public health response to a case of paralytic poliomyelitis in an unvaccinated person and detection of poliovirus in wastewater – New York, June-August 2022, *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 2022, 71(33), p. 1065-68.
- [14] A.B. Ryerson *et al.*, 2022 U.S. poliovirus response team. wastewater testing and detection of poliovirus type 2 genetically linked to virus isolated from a paralytic polio case – New York, March 9-October 11, 2022, *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 2022, 71(44), p. 1418-24.
- [15] N.S. Zuckerman *et al.*, Emergence of genetically linked vaccine-originated poliovirus type 2 in the absence of oral polio vaccine, Jerusalem, April to July 2022, *Euro Surveill.*, 2022, 27(37), 2200694.

Maël BESSAUD<sup>1,2\*</sup>, directeur<sup>3</sup>, Ambre TINARD<sup>1,2</sup>, technicienne de recherche, et Marie-Line JOFFRET<sup>1,2</sup>, directrice-adjointe<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Institut Pasteur, Université de Paris Cité, CNRS, UMR 3569, Virus sensing and signaling Unit, Paris.

<sup>2</sup>Laboratoire associé au Centre national de référence entérovirus/paréchévirus, Paris.

<sup>3</sup>Centre collaborateur de l'OMS « Recherche sur l'épidémiologie et la macro-évolution des poliovirus et des entérovirus non-polio », Paris.

\*mael.bessaud@pasteur.fr