

Épidémiologie basée sur les eaux usées : actualité et futur d'une méthode épidémiologique alternative, pour détecter et suivre les épidémies

Par Vincent MARÉCHAL

Professeur de virologie (Sorbonne Université), co-fondateur de COVID-IA
et directeur du Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) OBEPINE

Mickaël BONI

Vétérinaire en chef, Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA),
direction scientifique et technique, co-fondateur du GIS OBEPINE

Yvon MADAY

Professeur de mathématiques (Sorbonne Université),
co-fondateur de COVID-IA et du GIS OBEPINE

Nicolas CLUZEL

Ingénieur de recherche en apprentissage statistique
à la Maison des Modélisations Ingénieries et Technologies (Sorbonne Université)

Et le Groupement d'intérêt scientifique (GIS) OBEPINE

Cette signature collective réunit Laurent MOULIN et Sébastien WURTZER
(Eau de Paris), Isabelle BERTRAND et Christophe GANTZER (LCPME UMR 7564,
Université de Lorraine – CNRS), Jean-Marie MOUCHEL (Sorbonne Université),
Soizick LE GUYADER (IFREMER), Nicolas BOUDAUD (Actalia),
Christophe PEYREFITTE et Stéphanie RAFFESTIN (Institut Pasteur de Guyane),
Clémentine WALLEY et Olivier ROHR (Université de Strasbourg).

L'épidémiologie basée sur les eaux usées a été utilisée avec succès – et pour la première fois à une échelle mondiale – afin de suivre l'épidémie de Covid-19. L'OBServatoire ÉPIDémiologique daNs les Eaux usées (OBEPINE) réunit des chercheurs issus de différents champs disciplinaires (virologie, hydrologie, mathématiques, microbiologie environnementale), ayant pour objectif commun de promouvoir l'épidémiologie basée sur les eaux usées afin de suivre les infections microbiennes, et notamment virales. Couplée à un modèle mathématique innovant, la stratégie mise en place par OBEPINE a permis de suivre la dynamique de l'épidémie de Covid-19 sur près de 200 stations de traitement des eaux usées – soit près de 40 % de la population française – jusqu'en mai 2022. Le succès de cette démarche ouvre des perspectives majeures pour détecter et suivre les maladies infectieuses émergentes, auxquelles nous serons inévitablement exposés dans un futur proche, en France et ailleurs.

Présentation d'OBEPINE

Le Groupement d'intérêt scientifique (GIS) OBEPINE (OBservatoire ÉPIdémio-
logique daNs les Eaux usées) est un consortium de recherche qui vise à promouvoir
l'analyse des eaux usées pour suivre la circulation d'agents pathogènes (Sars-CoV-2,
grippe, virus des gastro-entérites, autres coronavirus, bactéries multirésistantes,
parasites...), objectif qui s'inscrit dans le domaine en pleine expansion de l'épidé-
miologie des eaux usées. Le suivi de ces agents et la constitution d'aquathèques
(banque d'échantillons d'eaux usées) ont vocation à devenir un outil épidémiolo-
gique innovant au service de la protection des populations, notamment en prévision
de futures crises sanitaires. Le GIS regroupe différents laboratoires rattachés
aux tutelles suivantes : Sorbonne Université, Université de Lorraine, Université
Clermont Auvergne, le CNRS, l'Inserm, l'Ifremer, Eau de Paris et l'IRBA.

LES EAUX USÉES : UNE RESSOURCE POUR MIEUX APPRÉHENDER L'ÉPIDÉMIOLOGIE DES INFECTIONS VIRALES

L'épidémiologie basée sur les eaux usées (*wastewater-based epidemiology* ou WBE) est une approche alternative aux méthodes d'épidémiologie conventionnelle, qui exploitent les données de santé individuelles. La WBE se base sur l'analyse des molécules ou des microorganismes présents dans les effluents qui recueillent les urines et les selles – dans les égouts ou les stations de traitement des eaux usées (STEU) notamment – afin d'explorer l'état de santé de la population. Cette stratégie de surveillance peut permettre d'évaluer la circulation d'agents pathogènes d'origine humaine ou animale, la consommation de médicaments (dont antibiotiques, analgésiques, pilules contraceptives, etc.) ou de drogues illicites par exemple (voir la Figure 1 ci-contre).

John Paul et ses collaborateurs sont sans doute les premiers, dès la fin des années 1930, à avoir perçu l'intérêt de cette stratégie pour suivre les épidémies. À l'occasion d'une épidémie de poliomyélite frappant la ville de Charleston (Caroline du Sud), ils démontrent en effet que l'on peut détecter le virus de la poliomyélite dans les eaux des égouts (1). Cette stratégie est particulièrement séduisante puisqu'elle permet de suivre l'épidémie de façon globale (*i.e.* sans suivre les cas individuellement). Par ailleurs, le virus de la poliomyélite étant excrété en majorité par des sujets infectés non symptomatiques, la surveillance des eaux usées s'impose progressivement comme un outil d'alerte précoce en cas d'épidémie, et comme un moyen pertinent pour évaluer l'efficacité des campagnes vaccinales (2, 3). Depuis les années 1980, la WBE a été appliquée à de nombreux autres virus et en particulier aux virus impliqués dans les gastro-entérites saisonnières (rotavirus, norovirus, astrovirus), aux entérovirus et aux virus des hépatites A et E ; elle s'est développée rapidement avec l'utilisation de techniques de biologie moléculaire comme la PCR quantitative et le séquençage (4 à 6). Plus récemment, lors de la pandémie de Monkeypox, en 2022, le génome viral a été détecté dans les eaux usées en France, aux Pays-Bas, aux États-Unis, en Thaïlande et en Italie. Dans le futur, cette approche pourrait être élargie pour suivre des infections transmises par les arthropodes (dont dengue, Zika) et certaines infections respiratoires puisque nombre des virus impliqués sont excrétés dans les urines et / ou les selles (gripes humaines et aviaires, virus de la bronchiolite, rougeole etc.).

En février 2022, ce sont encore des analyses conduites dans les stations de traitement des eaux usées de Londres qui ont permis de mettre en évidence la circulation silencieuse d'un poliovirus potentiellement pathogène dérivé d'une souche vaccinale atténuée (4).

Si l'épidémiologie basée sur les eaux usées a été appliquée à de nombreux pathogènes (virus, bactéries, champignons ou protozoaires) par le passé, c'est sans doute à l'occasion de l'épidémie de Covid-19 que cette approche a définitivement acquis ses lettres de noblesse. Ainsi, plus de 75 % des articles scientifiques portant sur l'épidémiologie des eaux usées appliquée aux virus ont été publiés depuis le début de la crise Covid-19.

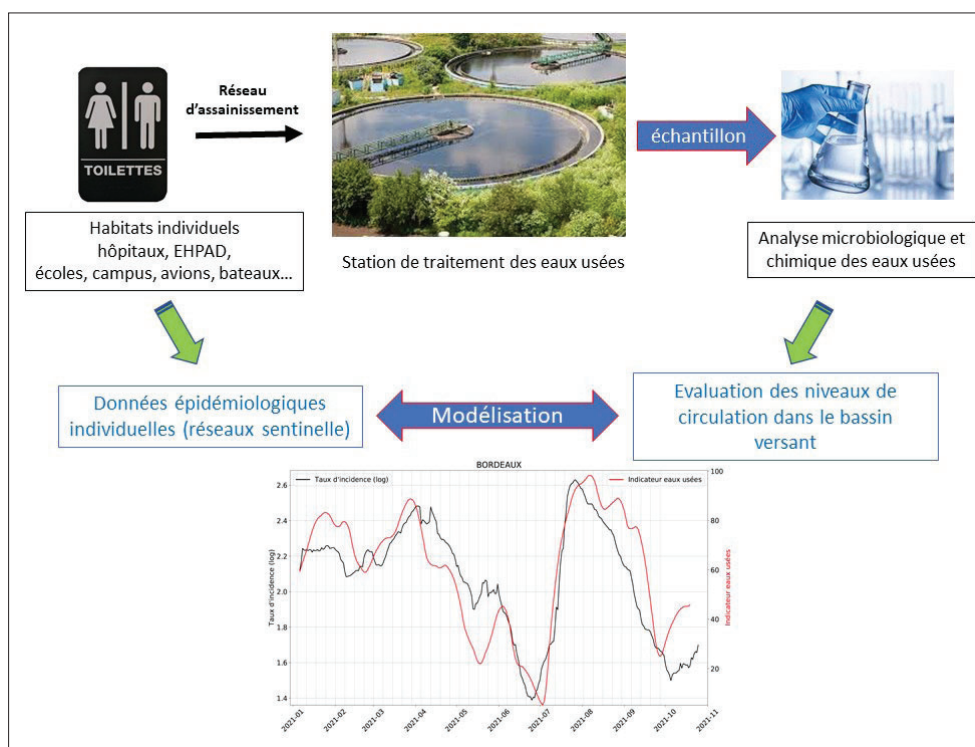


Figure 1. Principe de l'épidémiologie basée sur les eaux usées (WBE)
(Source : OBEPINE).

SUIVI DES EAUX USÉES PAR OBEPINE : DE LA QUESTION À L'INNOVATION, DE L'INNOVATION À LA SURVEILLANCE

Le succès de l'épidémiologie des eaux usées appliquée au suivi de la Covid-19 doit beaucoup aux spécificités de cette infection (5). Bien que les équipes chinoises aient rapidement identifié l'agent étiologique de la Covid-19, les mesures sanitaires prises dès le début de l'épidémie n'ont pas empêché la diffusion rapide du virus, une dynamique telle que l'OMS a déclaré dès le 11 mars 2020 l'état de pandémie. Cette situation contraste singulièrement avec les précédentes émergences liées à des coronavirus hautement pathogènes et, notamment, avec l'épidémie de Sras (syndrome respiratoire aigu sévère) en 2002 (6) une épidémie a touché 29 pays (774 morts) en quelques mois seulement. Si l'épidémie de Sras a été endiguée à l'aide de mesures relativement simples (quarantaine, isolement précoce

Enseignements

des patients ayant des signes cliniques évocateurs), le contrôle de l'épidémie Sars-CoV-2 a sans doute été rendu impossible pour plusieurs raisons :

- la transmission du Sars-CoV-2 est assurée pour une large part par des porteurs peu ou pas symptomatiques impossibles à identifier en absence de tests virologiques spécifiques ;
- les symptômes sont souvent peu spécifiques et peuvent ressembler à ceux d'autres infections respiratoires hivernales (autres coronavirus, grippes, infections à adénovirus, etc.) ;
- la transmission commence plusieurs jours avant la survenue des signes cliniques ;
- les tests massifs (RT-PCR puis tests antigéniques) n'ont été déployés en France qu'à l'été 2020 ; les données épidémiologiques recueillies sont sensibles aux politiques de dépistage et à l'adhésion de la population.

En l'absence d'indicateurs épidémiologiques fiables et / ou suffisamment nombreux, l'évolution de l'épidémie a été évaluée avec des indicateurs assez peu spécifiques jusqu'à l'été 2020 : appels téléphoniques d'urgence, taux d'hospitalisation et entrées en réanimation (confirmation virologique des cas à l'hôpital uniquement). Dès lors, il était impossible d'évaluer l'ampleur de l'épidémie, sa dynamique sur les différents territoires, ni même de dater l'arrivée du virus sur le territoire national.

C'est dans ce contexte particulier que l'Observatoire épidémiologique dans les eaux usées (OBEPINE) a été mis en place. Même si la Covid-19 est principalement une maladie respiratoire, les sujets infectés (malades ou porteurs sains) excrètent des quantités importantes de virus dans leurs selles, souvent sur plusieurs semaines (7, 8). Ces premières

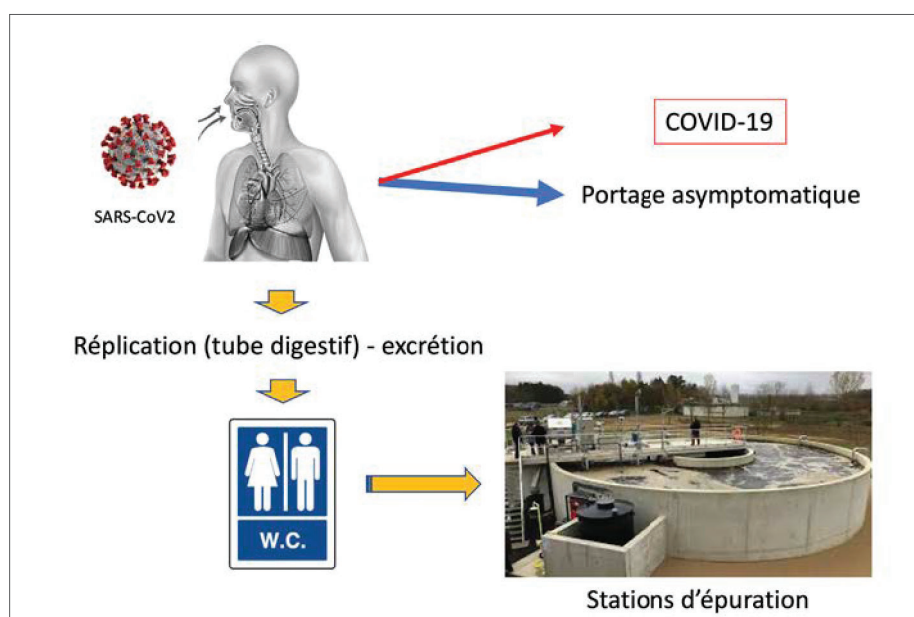


Figure 2. Projet OBEPINE (Source : OBEPINE).

Bien que la Covid-19 soit essentiellement une infection respiratoire, sans signe clinique chez près de la moitié des porteurs, les personnes infectées excrètent des quantités importantes de virus dans leurs selles. Le génome viral peut être quantifié à l'entrée des stations d'épuration par des techniques moléculaires, et fournir ainsi une évaluation de la dynamique virale dans le bassin versant correspondant.

observations ont incité les chercheurs du consortium OBEPINE à supposer (1) que le virus pouvait transiter dans les eaux usées, et (2) que les variations des quantités de virus arrivant dans chaque STEU étaient corrélées à la dynamique de l'épidémie dans le bassin versant correspondant (voir la Figure 2 ci-avant en bas).

Les travaux réalisés aux Pays-Bas ont été les premiers à révéler la présence de Sars-CoV-2 dans les eaux usées très tôt après le début de l'épidémie (9). La simple détection du génome viral ne permettait pas toutefois de préciser l'évolution de l'épidémie, puisqu'elle restait qualitative (présence / absence). Afin de proposer un modèle épidémiologique dynamique, les équipes d'OBEPINE ont élaboré dès mars 2020 des techniques de quantification du génome viral dans les eaux usées. Cette approche innovante permet de démontrer que les quantités de virus arrivant dans les STEU – en Île-de-France et dans le Grand Est – sont significativement influencées par les mesures de confinement mises en place en France entre le 17 mars et le 11 mai 2020 (voir la Figure 3 ci-dessous) (10, 11).

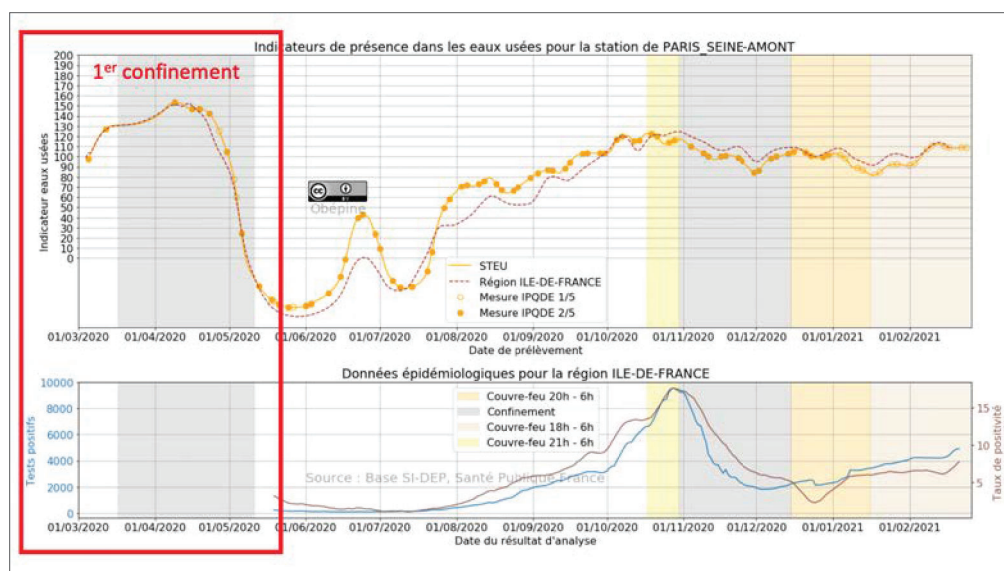


Figure 3. Dynamique de l'épidémie de Covid-19 en Île-de-France (Source : OBEPINE).
 La vignette supérieure illustre l'évolution de l'indicateur eaux usées (WWI - logarithmique) mis en place sur plusieurs STEU d'Île-de-France. La vignette inférieure (données Santé publique France) illustre le nombre de tests positifs et le taux de positivité. Le cadre rouge met en évidence la période du premier confinement.

À notre connaissance, les travaux d'OBEPINE ont été les premiers à démontrer que le suivi dynamique de l'épidémie pouvait être étudié *via* la quantification du Sars-CoV-2 dans les eaux usées. Ces résultats seront relayés par la presse scientifique internationale comme une approche de choix pour suivre l'évolution de l'épidémie de Covid-19 (12).

CONSTRUCTION D'UN DISPOSITIF DE SUIVI NATIONAL

Les premières données publiées par OBEPINE ont motivé le ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation à soutenir la recherche dans ce domaine,

et à proposer la construction d'un démonstrateur national de surveillance regroupant 150 STEU, dès juillet 2020 (voir la Figure 4 ci-dessous).

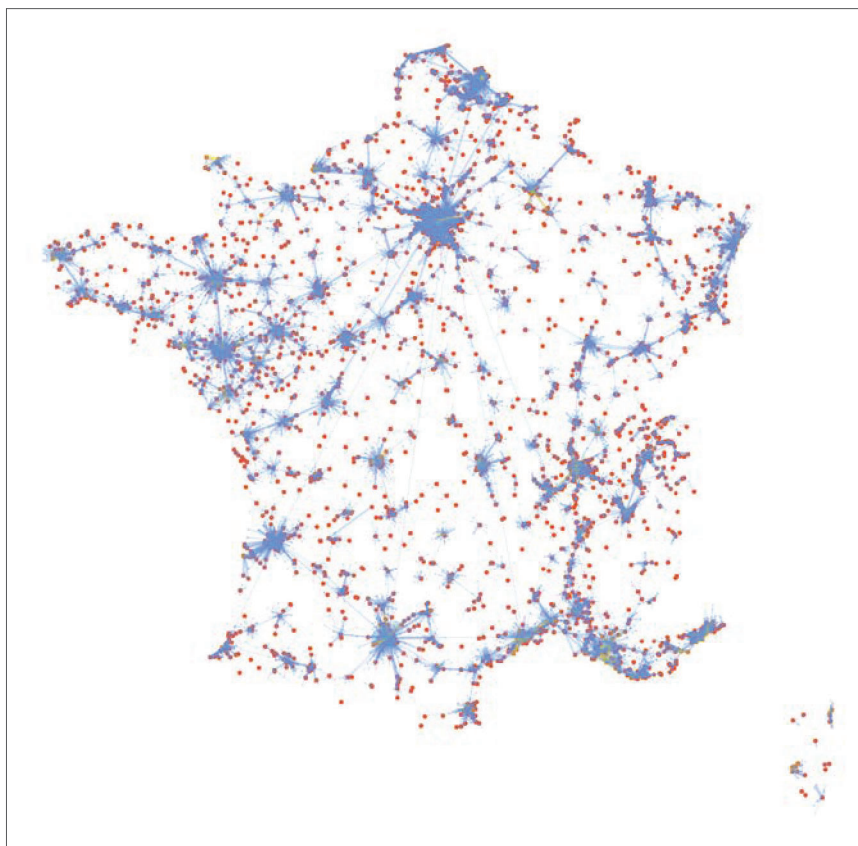


Figure 4. Carte des 150 stations suivies par OBEPINE (Source : OBEPINE).

Les équipes d'OBEPINE ont choisi 150 STEU (sur les 22 000 STEU françaises) sur la base d'un sondage reposant sur une quarantaine de critères économiques, démographiques, touristiques et géographiques.

Des protocoles innovants ont été proposés pour quantifier le génome viral dans les eaux usées à partir de prélèvements réalisés sur 24 heures. Toutefois, les résultats obtenus intègrent encore une certaine variabilité liée à des fluctuations intra- et inter-expérimentales, à la dilution des eaux usées selon les conditions météorologiques notamment, à des incidents dans l'exploitation des réseaux d'assainissement, au type de variant viral ou à la présence de molécules chimiques qui affectent l'efficacité des tests moléculaires.

Afin d'être en mesure de produire des courbes de tendance pour chaque STEU, et de pouvoir comparer ces courbes entre elles, les équipes OBEPINE ont construit un indicateur composite (WWI pour *wastewater indicator*), logarithmique, capable d'intégrer plusieurs informations au fil du temps dont les concentrations de génome dans les échantillons d'eaux usées, mais aussi des mesures chimiques ou physiques ; les valeurs de l'indicateur ont été secondairement filtrées (pour lisser les erreurs intrinsèques de mesure et tenir compte des aberrations) à l'aide d'un lisseur mathématique dédié, afin de produire

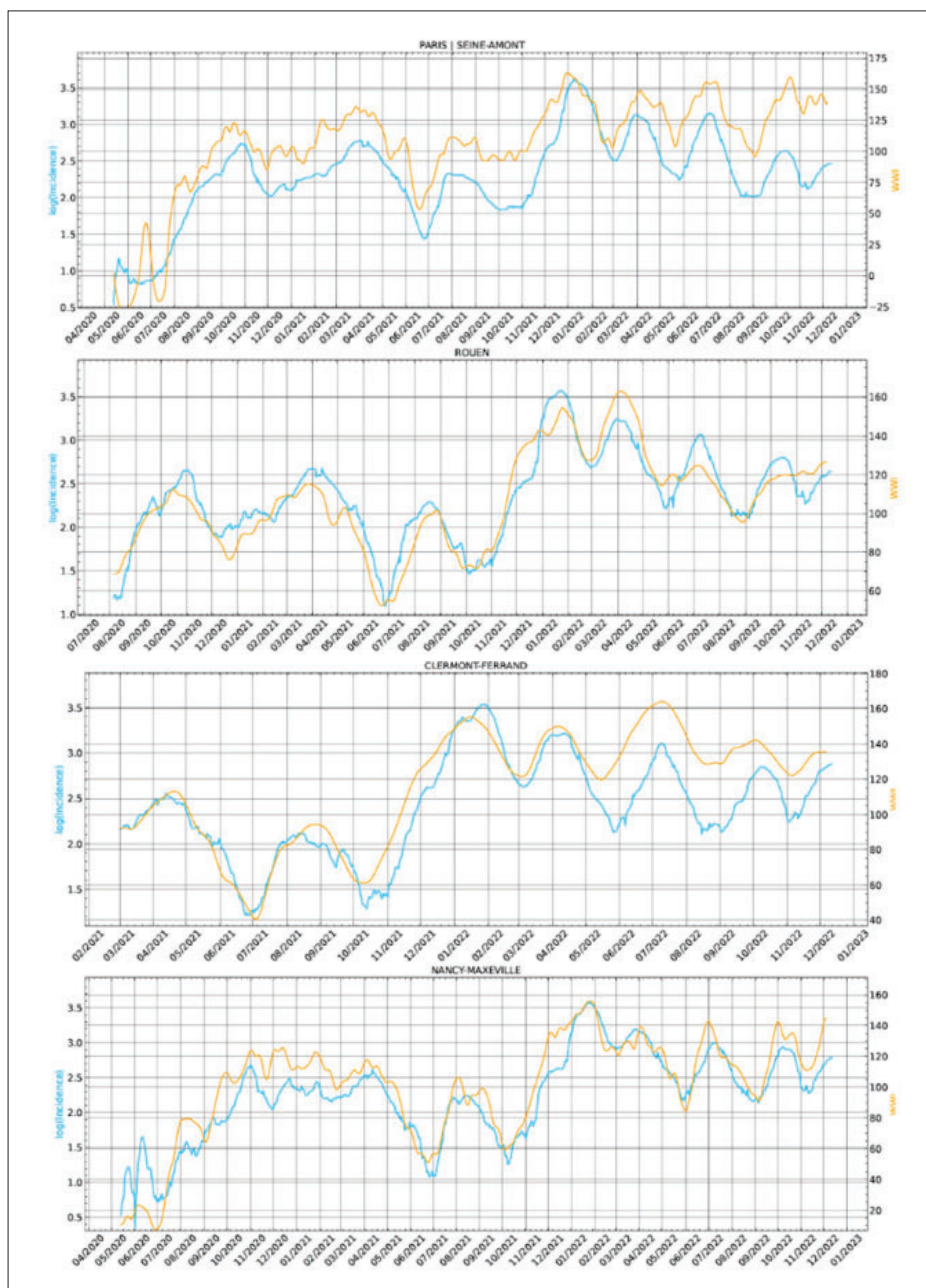


Figure 5. Courbes de tendance de l'indicateur eaux usées (jaune) et du logarithme du taux d'incidence (bleu, données Santé publique France) sur quatre villes de France (Source : OBEPINE).

des courbes de tendance (voir la Figure 5 ci-dessus). Ce lisseur introduit un processus auto-régressif dont le modèle s'inspire de modèles de dynamique d'épidémie, mais est indépendant des autres indicateurs existants (taux d'incidence, d'hospitalisation...). Ce n'est pas encore un « jumeau numérique » du nombre de personnes infectées, mais ce modèle sera optimisé afin de le devenir dans le futur (13, 14).

Le réseau de surveillance OBEPINE a été initialement déployé sur 150 STEU en France métropolitaine et outre-mer. À l'arrêt du dispositif de suivi, en avril 2022, OBEPINE suivait 200 STEU, soit près de 40 % de la population française. Les données produites ont été communiquées aux collectivités qui ont rejoint le dispositif, ainsi qu'aux autorités sanitaires ; elles ont également été mises à disposition de la presse et du grand public sur un site Internet dédié dès janvier 2021. Un dispositif institutionnel – Sum'Eau¹ (Anses - Santé publique France) – a été proposé fin 2021 afin de reprendre les missions de surveillance assurées par OBEPINE. Les données ne sont pas rendues publiques à ce jour.

Il serait erroné de conclure que cette approche a recueilli le soutien sans faille du monde de la santé en général, et du domaine de l'épidémiologie en particulier. L'épidémiologie basée sur les eaux usées n'est pas une discipline nouvelle, comme nous l'avons rappelé en introduction, mais la littérature était de toute évidence peu connue de certains professionnels de santé formés à une épidémiologie « individu-centrée », plus conventionnelle.

La preuve de concept la plus attendue était sans aucun doute la capacité de l'indicateur WWI à accompagner – voire anticiper – les tendances épidémiologiques observées *via* les indicateurs populationnels (taux d'hospitalisation, taux d'incidence, etc.). Comme l'illustre la Figure 5 (page précédente), le WWI montre une excellente corrélation avec les données d'incidence locales. Il est intéressant de noter que la vaccination contre la Covid-19 n'a pas supprimé le signal dans les eaux usées, même si elle a efficacement découplé la circulation du virus – toujours importante fin 2022 – et son impact sur le système de soins. Selon les territoires, les changements de tendance de l'épidémie ont pu parfois être anticipés avec plus de 7 jours d'avance, à la baisse comme à la hausse. L'intégration des données générées depuis l'origine du dispositif (environ 25 000 mesures) a permis de montrer que le virus peut être détecté dans les STEU dès que l'incidence dépasse 6 cas détectés/100 000 hab., ce qui est compatible avec les données publiées dans d'autres pays.

Le développement des outils de génomique dans les eaux usées a plus récemment permis de préciser non seulement la dynamique de l'épidémie de Covid-19, mais également de préciser la nature et les proportions relatives des variants en circulation. Si les approches les plus couramment utilisées s'appuient sur la connaissance des variants déjà connus, il est aujourd'hui possible de détecter des variants dans les eaux usées avant qu'ils n'émergent dans la population, une stratégie récemment validée par des chercheurs américains (15).

CONCLUSIONS

L'utilisation par les pouvoirs publics des données épidémiologiques issues des eaux usées reste marginale en France, souvent en raison d'une intégration insuffisante de cette démarche en santé publique, même si l'Union européenne a financé et encouragé cette initiative dès mars 2021². D'une part, les praticiens de la santé publique ont dû évaluer un nouveau flux de données distinct des mesures traditionnelles de la maladie, comme le suivi des hospitalisations ou les taux de positivité des tests individuels de diagnostic clinique. D'autre part, les chercheurs n'ont pas toujours l'expérience du processus de prise de décision au sein des systèmes de santé publique. Les chercheurs spécialisés dans la production et l'interprétation de données environnementales et les praticiens de santé publique spécialisés dans l'intervention en cas d'épidémie ont abordé la surveillance des eaux usées avec des corpus de connaissances distincts et des priorités différentes (par exemple, l'amélioration des outils scientifiques, d'une part, et la mise en œuvre de mesures

¹ <https://solidarites-sante.gouv.fr/archives/archives-presse/archives-communiques-de-presse/article/le-ministere-des-solidarites-et-de-la-sante-et-le-ministere-de-la-transition>

² <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32021H0472>

de santé publique avec son lot de contraintes réglementaires, d'autre part). Un système de surveillance des eaux usées orientant les actions de santé publique nécessite une base scientifique solide, et une collaboration continue entre les chercheurs issus du monde académique et les professionnels de la santé (en particulier les ARS), ce qu'a toujours recherché le réseau OBEPINE afin de faire progresser les nouvelles connaissances dans le domaine³.

Des questions essentielles demeurent. Elles requièrent des développements complémentaires aux travaux déjà réalisés par OBEPINE et par d'autres équipes dans le monde (États-Unis, Australie, Suisse, Canada pour n'en citer que quelques-unes⁴) : sensibilité du WWI selon l'incidence de la maladie, effet des individus vaccinés ou asymptomatiques, modalités d'excrétion selon les variants, précocité et prédictivité de l'indicateur eaux usées, identifications précoce des variants cryptiques, intérêt de la surveillance ciblée sur sites particuliers (aéroports, avions, navires (16), campus universitaires, hôpitaux, élevages d'animaux, écoles vétérinaires...), fréquence et sites d'échantillonnage, identification des sources de contamination en remontant les réseaux d'eaux usées, surveillance dans les territoires sans réseau d'eaux usées ou dans les pays à faibles revenus, réalisation d'analyses à haut débit et de façon automatisée, intérêt de nouveaux indicateurs d'alerte composite à partir des eaux usées (résidus médicamenteux et agents pathogènes) (14, 17 à 20).

En dehors du développement des méthodes d'analyse, l'élaboration d'outils de modélisation et d'analyse des données pour la surveillance des eaux usées est fondamentale, voire critique. Les premiers efforts dans le monde pendant la pandémie de Covid-19 se sont appuyés sur des liens relativement simples entre les concentrations d'ARN du Sars-CoV-2 et les cas de Covid-19 ou les hospitalisations dans une communauté. Les efforts de recherche initiés par OBEPINE dès mars 2020 se poursuivent, afin d'améliorer et de développer des techniques numériques pertinentes pour la surveillance du Sars-CoV-2 ou d'autres agents pathogènes, notamment des techniques de modélisation prédictive et d'intégration des données sur les eaux usées dans les systèmes de surveillance. La construction de banques d'échantillons d'eaux usées est également primordiale. Ces projets sont essentiels pour mieux protéger nos sociétés et anticiper les futurs risques infectieux émergents.

BIBLIOGRAPHIE

(1) PAUL J. R., TRASK J. D. & CULOTTA C. S. (1939), "Poliomyelitic virus in sewage", *Science*, DOI: 10.1126/science.90.2333.258.

(2) MIYAMURA K., YAMASHITA K., YAMADERA S., KATO N., AKATSUKA M., HARA M. *et al.* (1992), "Poliovirus surveillance: Isolation of polioviruses in Japan, 1980-1991. A report of the National Epidemiological Surveillance of Infectious Agents in Japan", *Jpn J Med Sci Biol.*, 1992;45(4):203-14.

³ <https://doi.org/10.1289/EHP11519>

⁴ Europe : EU Sewage Sentinel System for Sars-CoV-2 Europe, https://joint-research-centre.ec.europa.eu/events/eu4s-town-hall-meeting-2021-07-07_en

États-Unis : US National Wastewater Surveillance System (NWSS), <https://www.cdc.gov/healthywater/surveillance/wastewater-surveillance/wastewater-surveillance.html> ; voir aussi <https://wastewaterwastewater.org>

Australie : NSW Sewage Surveillance Program, https://www.health.nsw.gov.au/Infectious/covid-19/Pages/sewa_ge-surveillance.aspx

Suisse : <https://www.rts.ch/info/suisse/13631968-le-programme-de-surveillance-du-covid-via-les-eaux-usees-coupe-de-moitie.htm>

Canada : Covid-19 wastewater coalition, <https://cwn-rce.ca/covid-19-wastewater-coalition/>

Monde : <https://sphere.waterpathogens.org/>

- (3) PELLEGRINELLI L., BUBBA L., PRIMACHE V., PARIANI E., BATTISTONE A., DELOGU R. *et al.* (2017), “Surveillance of poliomyelitis in Northern Italy: Results of acute flaccid paralysis surveillance and environmental surveillance, 2012-2015”, *Hum Vaccin Immunother*, 2017;13(2):332-8.
- (4) KLAPSA D., WILTON T., ZEALAND A., BUJAKI E., SAXENTOFF E., TROMAN C. *et al.* (2022), “Sustained detection of type 2 poliovirus in London sewage between February and July, 2022, by enhanced environmental surveillance”, *Lancet*, 2022;400(10362):1531-8.
- (5) MARÉCHAL V., MOULIN L., MADAY Y., BONI M. *et al.* (2021), « OBEPINE : une expérience française de suivi de l'épidémie de Covid-19 à travers les eaux usées », *Bull Acad Vét France*, 174.
- (6) DROSTEN C., PREISER W., GUNTHER S., SCHMITZ H. & DOERR H. W. (2003), “Severe acute respiratory syndrome: Identification of the etiological agent”, *Trends Mol Med*, 2003;9(8):325-7.
- (7) WOLFEL R., CORMAN V. M., GUGGEMOS W., SEILMAIER M., ZANGE S., MULLER M. A. *et al.* (2020), “Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019”, *Nature*, 2020;581(7809):465-9.
- (8) WU F., ZHANG J., XIAO A., GU X., LEE W.L., ARMAS F. *et al.* (2020), “Sars-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases”, *mSystems*, 2020;5(4).
- (9) MEDEMA G., HEIJNEN L., ELSINGA G., ITALIAANDER R. & BROUWER A. (2020), “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”, *Environmental Science & Technology Letters*, 2020;7(7):511-6.
- (10) WURTZER S., MARECHAL V., MOUCHEL J. M., MADAY Y., TEYSSOU R., RICHARD E. *et al.* (2020), “Evaluation of lockdown effect on Sars-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in waste water, Greater Paris, France, 5 March to 23 April 2020”, *Euro Surveill*, 2020;25(50).
- (11) BERTRAND I., CHALLANT J., JEULIN H., HARTARD C., MATHIEU L., LOPEZ S. *et al.* (2021), “Epidemiological surveillance of Sars-CoV-2 by genome quantification in wastewater applied to a city in the northeast of France: Comparison of ultrafiltration- and protein precipitation-based methods”, *Int J Hyg Environ Health*, 2021;233:113692.
- (12) LESTÉ-LASSERRE C. (2020), “Coronavirus found in Paris sewage points to early warning system”, *Science*, April.
- (13) COURBARIAUX M., CLUZEL N., WANG S.Y., MARECHAL V., MOULIN L., WURTZER S. *et al.* (2022), “A flexible smoother adapted to censored data with outliers and its application to Sars-CoV-2 monitoring in wastewater. *Frontiers in applied mathematics and statistics*”, 2022;8.
- (14) CLUZEL N., COURBARIAUX M., WANG S.Y., MOULIN L., WURTZER S., BERTRAND I. *et al.* (2022), “A nationwide indicator to smooth and normalize heterogeneous Sars-CoV-2 RNA data in wastewater”, *Environment International*, 2022;158.
- (15) KARTHIKEYAN S., LEVY J.I., DE HOFF P., HUMPHREY G., BIRMINGHAM A., JEPSEN K. *et al.* (2022), “Wastewater sequencing reveals early cryptic Sars-CoV-2 variant transmission”, *Nature*.
- (16) BONI M., GORGÉ O., MULLOT J.U., WURTZER S., MOULIN L., MADAY Y. *et al.* (2022), « L'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA) et l'épidémiologie des eaux usées : intérêt pour les forces armées », *Bulletin de l'Académie nationale de Médecine*, 2022;206(8):1011-21.

- (17) WURTZER S., WALDMAN P., LEVERT M., CLUZEL N., ALMAYRAC J. L., CHARPENTIER C. *et al.* (2022), “Sars-CoV-2 genome quantification in wastewaters at regional and city scale allows precise monitoring of the whole outbreaks dynamics and variants spreading in the population”, *Science of the Total Environment*, 2022;810.
- (18) WURTZER S., WALDMAN P., FERRIER-REMBERT A., FRENOIS-VEYRAT G., MOUCHEL J. M., BONI M. *et al.* (2021), “Several forms of Sars-CoV-2 RNA can be detected in wastewaters: Implication for wastewater-based epidemiology and risk assessment”, *Water Research*, 2021;198.
- (19) WURTZER S., LEVERT M., DHENAIN E., BONI M., TOURNIER J. N., LONDINSKY N. *et al.* (2022), “First detection of Monkeypox virus genome in sewersheds in France”, *medRxiv*, 2022:2022.08.18.22278938.
- (20) WURTZER S., LEVERT M., DHENAIN E., ACCROMBESSI H., MANCO S., FAGOUR N. *et al.* (2022), “From Alpha to Omicron BA.2: New digital RT-PCR approach and challenges for Sars-CoV-2 VOC monitoring and normalization of variant dynamics in wastewater”, *Sci Total Environ*, 2022:157740.