HAL
open science

Eaux usées ; une vie après la vie ? Les risques viraux associés à divers modes de gestion

Vincent Tesson, Pierre Renault

To cite this version:

Vincent Tesson, Pierre Renault. Eaux usées ; une vie après la vie ? Les risques viraux associés à divers modes de gestion : Restitution des résultats à destination des professionnels - Réunion du 26 février 2018 à l'INRA centre Auvergne Rhône-Alpes, site de Crouel.. [Rapport de recherche] Inra; Agropolis International. 2018. hal-01902110

HAL Id: hal-01902110

https://hal.science/hal-01902110

Submitted on 22 Nov 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

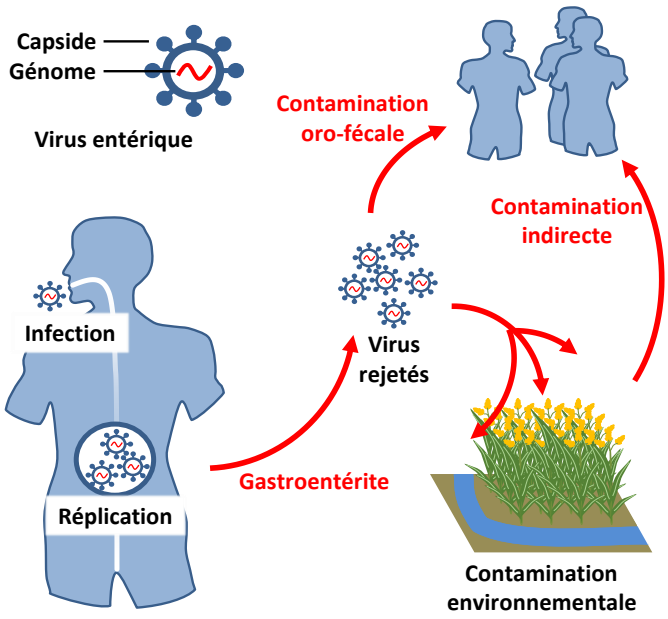
Eaux usées ; une vie après la vie ? Les risques viraux associés à divers modes de gestion

Vinent Tesson et Pierre Renault*

INRA, UMR 1114 EMMAH, 228 route de l'Aérodrome, CS 40 509, 84914 Avignon Cedex 9, France

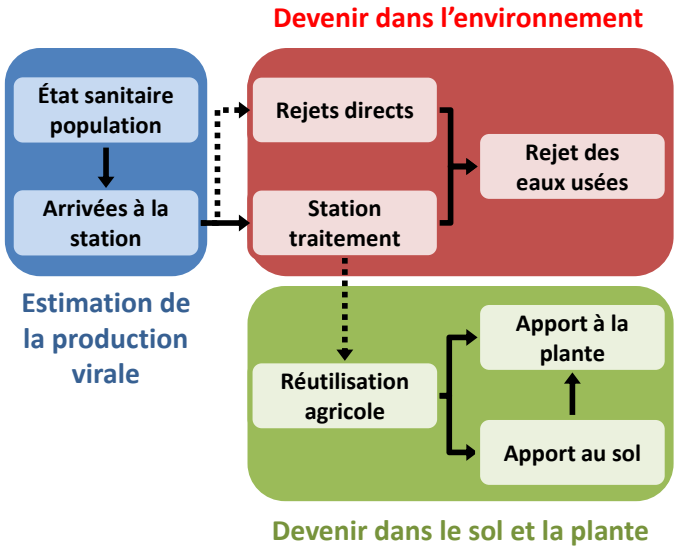
* : correspondance (pierre.renault@inra.fr et tél. : 04.32.72.22.23)

Avec la diminution des ressources en eaux douces et leur contamination par les rejets d'eaux usées non ou insuffisamment traitées émerge la nécessité d'une gestion plus durable de ces ressources dans un contexte mondial d'accroissement et d'urbanisation des populations, de diversification des usages de l'eau et de réchauffement climatique. La réutilisation des eaux usées peut aider à relever ce défi en diminuant leur impact sur la pollution des eaux douces et en accroissant localement les quantités d'eau mobilisable. Lorsqu'elle soutient l'irrigation agricole, elle contribue aux fertilisations phosphatée et azotée et autorise en climat chaud la succession annuelle de plusieurs cultures sur une même parcelle. Mais la filière agricole peut être en compétition avec des filières industrielles ou urbaine de réutilisation d'eau usée, voire avec la fourniture d'eau potable. La réutilisation des eaux usées est importante aux Proche et Moyen Orients, dans les pays méditerranéens, en Australie, dans le sud-ouest des Etats-Unis, en Chine et au Japon. En Europe, elle concerne d'abord Chypre, Malte, l'Espagne et l'Italie et, dans une moindre mesure, la Grèce avec la Crète et la Turquie. En France, elle sert à irriguer moins de 2500 ha (cultures, terrains de golf, parcs) dans le Sud, en régions côtières, dans des îles, et dans des terres intérieures ayant un accès difficile aux ressources en eau. La présence dans les eaux usées de polluants chimiques et biologiques divers génère des risques sanitaires, agricoles et environnementaux qu'il convient d'évaluer.



Structure d'un virus entérique et cycle de contamination

Les virus entériques pathogènes de l'Homme sont des contaminants microbiologiques que l'*U.S. - Environmental Protection Agency* et l'*American Water Works Association* suggèrent de suivre dans les eaux potables et que la Commission du *Codex Alimentarius* reconnait comme l'un des risques microbiens les plus importants. Il s'agit de virus de quelques dizaines de nanomètres, dits "nus" c.à.d. combinant un génome viral constitué d'ADN ou d'ARN protégé par une capside de protéines. *(Les virus enveloppés (par ex. virus de la grippe et virus de l'herpès) possèdent autour de leur capside une membrane issue de la cellule hôte)*. Les virus entériques de l'Homme incluent le virus de l'hépatite A, les norovirus, rotavirus, entérovirus, adénovirus …. Ils sont à l'origine de gastroentérites aiguës, d'hépatites et de dommages au foie, de fièvres, et parfois de méningites, de troubles du système nerveux, de maladies respiratoires, de maladies cardio-vasculaires, d'infections des yeux et de maladies congénitales. Si la gastroentérite aiguë est le symptôme le plus fréquent des infections par la plupart d'entre eux, son impact peut être fatal aux populations fragiles qui représentent 20 à 25% de la population des pays industrialisés (enfants de moins de 5 ans, adultes de plus de 65 ans, personnes immunodéprimées, diabétiques, femmes enceintes). Les virus entériques pathogènes de l'Homme ne se répliquent qu'après avoir pénétré une cellule vivante en utilisant la machinerie cellulaire de cette dernière. Ils peuvent être excrétés en très grande quantité (jusqu'à 100 milliards de virus par gramme de selle) et sur des périodes dépassant la durée des symptômes (jusqu'à 80 jours) par les malades et les porteurs sans symptômes. La transmission oro-fécale prédomine mais la contamination par l'eau, les aliments ou l'air est possible ; elle est favorisée par la grande résistance des virus dans l'environnement et aux traitements de potabilisation de l'eau. En rivières, les concentrations en norovirus peuvent atteindre 10 000 norovirus par litre. Longtemps supposées saines, les eaux souterraines et les eaux de sources peuvent aussi être contaminées.



Devenir des virus de la personne infectée aux milieux récepteurs des eaux usées

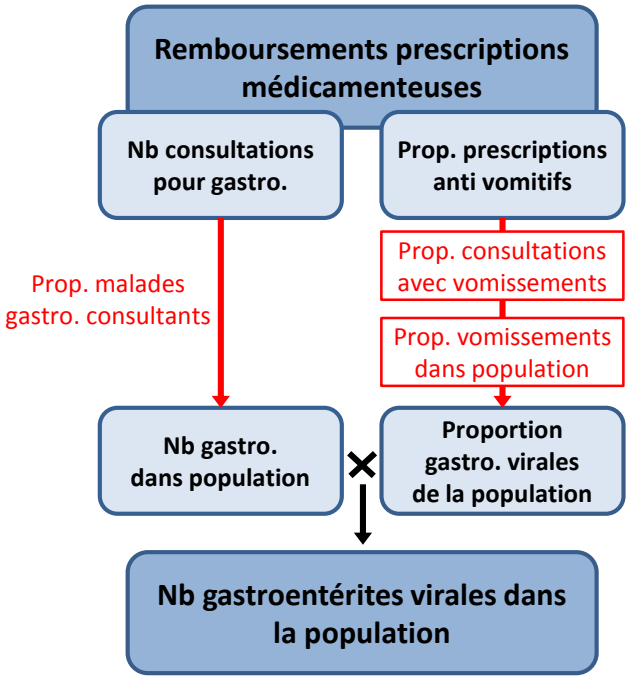
Quelques particules virales (10 à 100) suffisent pour infecter une personne, les virus excrétés n'étant pas tous infectieux et certains pouvant perdre leur pouvoir infectieux dans l'environnement.

La comparaison des risques viraux associés à divers modes de gestion des eaux usées peut contribuer à évaluer l'acceptabilité sanitaire de ces derniers. On peut envisager des scénarios se distinguant par la collecte des eaux usées et leurs traitements, le stockage éventuel des eaux traitées en réservoir, leur rejet dans l'environnement ou leur réutilisation. Pour une réutilisation en irrigation agricole, les risques varient avec le type de culture, les caractéristiques des irrigations, le délai entre la dernière irrigation contaminante et la récolte, l'histoire de la culture sur cette période et après la récolte. L'évaluation quantitative des risques microbiens est l'évaluation de la probabilité d'occurrence d'une maladie, voire l'évaluation probabiliste de ses effets néfastes sur la santé dans un contexte donné. Ces effets, exprimés en *"années de vie en bonne santé perdues"*, cumulent les pertes dues à une mortalité précoce et la durée des cas de maladies non mortelles pondérée par leur caractère plus ou moins invalidant. A titre indicatif, une gastroentérite à norovirus équivaut à 0,012 années de vie en bonne santé perdue ; un individu sur 3 étant atteint de gastroentérite aiguë chaque année, cela amène à environ 0,004 années de vie en bonne santé perdue par personne et par an due aux gastroentérites aiguës. Eu égard aux impacts sanitaires de la seule réutilisation des eaux usées en irrigation agricole, l'*Organisation Mondiale de la Santé* préconise un seuil toléré beaucoup plus faible (de 0,000001 à 0,0001 année de vie en bonne santé perdue par personne et par an) correspondant à une contribution négligeable de cette pratique à l'ensemble des cas de gastroentérites. La probabilité de survenue d'une maladie combine la probabilité de contamination d'un individu (le pathogène atteint les organes cibles), la probabilité d'infection qui suit (le pathogène est actif), et la probabilité que des symptômes en découlent. Leur évaluation peut avoir une composante aléatoire pour tenir compte de la variabilité des expositions et des réponses des individus au pathogène. L'évaluation de l'exposition des personnes à des virus infectieux suppose de pouvoir quantifier en amont la production de virus entériques pathogènes de l'Homme et leur devenir ultérieur (transfert, immobilisation ou rétention sur des phases solides, inactivation (c.à.d. la perte de leur pouvoir infectieux)) dans tous les compartiments où le virus peut essaimer : égout, station d'épuration des eaux usées, environnement (eau, sol, production végétale, air …). Il y a un manque de connaissances sur ces derniers aspects justifiant les travaux résumés dans la suite de cet article.

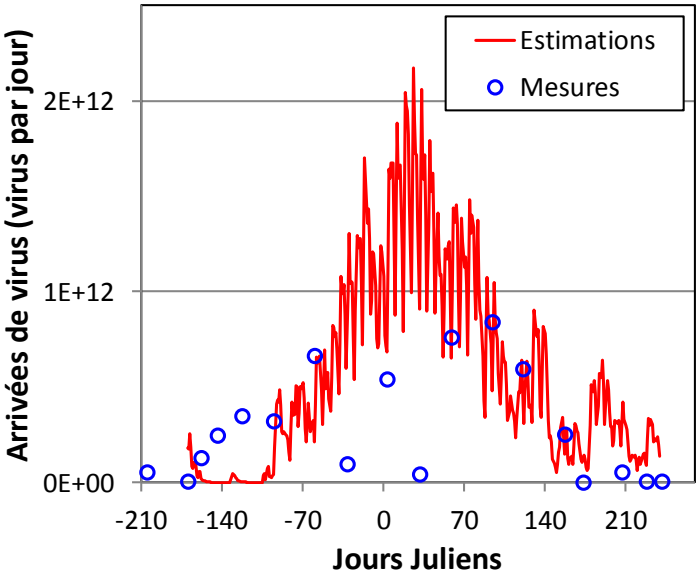
Estimer l'excrétion virale journalière

sur des périodes annuelles est intéressant pour permettre une évaluation quantitative des risques après avoir simulé le devenir ultérieur des virus dans les égouts, en station d'épuration et dans les milieux récepteurs des eaux traitées. Accessibles en temps réel, ces données permettraient aussi d'adapter les traitements en station. Malheureusement, le suivi journalier des virus entériques pathogènes de l'Homme dans les eaux usées est empêché par les coûts et la durée des analyses, et les indicateurs règlementaires suivis pour la réutilisation ou le rejet d'eaux usées ne reflètent pas les concentrations en virus entériques pathogènes de l'Homme.

Une alternative possible est d'avoir accès au nombre de gastroentérites aiguës provoquées par des virus et d'associer à chacune une excrétion virale journalière qui dépend du temps écoulé depuis le début de l'infection. Sachant que la fréquence de certains symptômes (vomissement, diarrhée muqueuse, fièvre) varie avec l'étiologie des gastroentérites aiguës (c.à.d. avec l'agent



Mode d'évaluation des nouveaux cas journaliers de gastroentérites aiguës à partir des prescriptions de médicaments remboursés par l'*Assurance Maladie*.



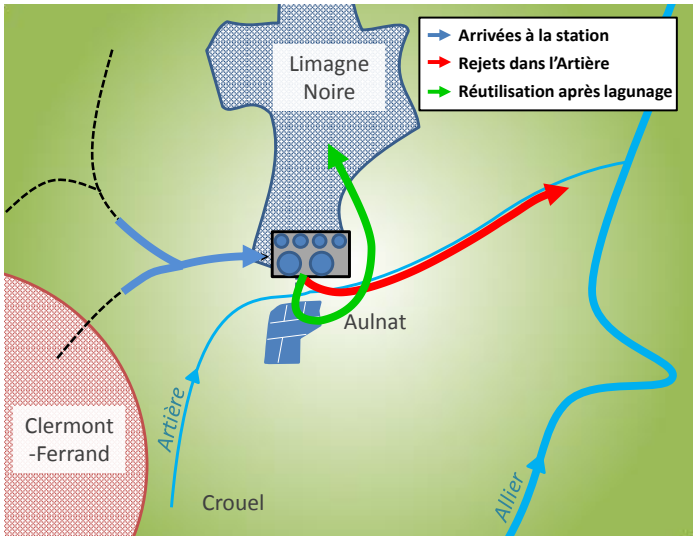
Entrée de station d'épuration *'Les Trois* Rivières' : prélèvement d'1 L eau usée, filtration ultérieure des virus au laboratoire, et confrontation entre quantités journalières de virus simulées et évaluées à partir des mesures *in situ*.

infectieux qui en est la cause), nous avons utilisé les remboursements de prescriptions médicamenteuses mises à notre disposition par l'agence *'Santé Publique France'* et l'*Assurance Maladie* pour la région clermontoise. Nous avons ainsi évalué la fréquence de vomissements dans la population consultant un médecin, puis dans la population globale souffrant de gastroentérite aiguë en tenant compte du fait que ce symptôme pousse à la consultation. Cette dernière fréquence nous a permis de calculer, pour chaque jour, une proportion puis un nombre de nouveaux cas de gastroentérites aiguës d'étiologie virale. Nous avons alors simulé les excrétions virales journalières associées ainsi que celles des personnes infectées ne présentant pas de symptôme, sans distinguer d'espèces virales, en utilisant un modèle d'excrétion. Les concentrations en norovirus génogroupes I et II, rotavirus, entérovirus et adénovirus ont été suivies expérimentalement en entrée de station d'épuration, avec une fréquence mensuelle ou bimensuelle. Après les avoir pondérées pour refléter les contributions spécifiques de chaque espèce virale aux gastroentérites aiguës, la somme de ces concentrations a été comparée aux valeurs simulées.

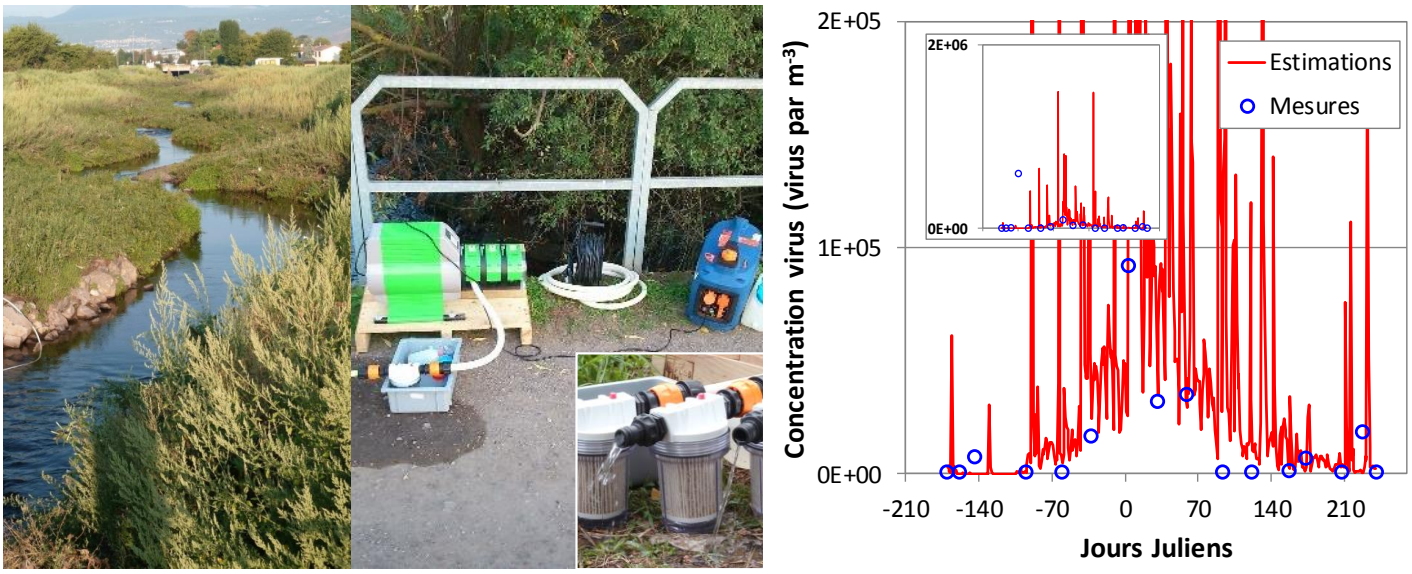
La comparaison des quantités simulées de virus arrivant à la station d'épuration à la somme pondérée des quantités détectées y arrivant aussi confirme que l'on peut ainsi simuler des valeurs et des tendances cohérentes avec les valeurs expérimentales, avec un maximum hivernal et un minimum estival, généralement non nul.

Le degré d'accord entre simulations et valeurs expérimentales reste pourrait être affiné sur plusieurs aspects : prise en compte du devenir des virus dans les égouts, utilisation simultanée d'autres indicateurs discriminant les étiologies virales et bactériennes, étude sur des populations de plus grande taille.

En rivière, les quantités de virus amenés par les rejets d'eaux usées traitées peuvent alors être évaluées en tenant compte de l'abattement viral en station d'épuration, des quantités d'eaux usées traitées rejetées après le recyclage d'une partie de ces eaux pour une réutilisation en irrigation agricole, des délestages des eaux d'égouts unitaires en amont de la station d'épuration et/ou de l'activation du by-pass de la station d'épuration lors d'épisodes de précipitations importants. Le passage de ces quantités à des concentrations tient alors compte du débit de la rivière et de sa contamination en amont du point de rejet, ainsi que des volumes d'eau associés au rejet et éventuellement au by-pass, tant que les disparitions de virus peuvent être négligées. A noter que la concentration virale dans l'Artière en amont du point de rejet de la station d'épuration tient intègre les rejets d'eau usée traitée par une très petite station d'épuration en amont et, parfois de délestages du réseau d'égouts de Clermont-Ferrand.



Devenir des eaux usées associées à la station *'Les Trois Rivières'*. S'y ajoutent parfois des délestages d'égouts et le by-pass de la station.



Artière en aval des rejets d'eaux usées traitées de la station d'épuration *'Les Trois Rivières'* : Prélèvement et filtration *in situ* de 100 L d'eau ; confrontation entre concentrations journalières de virus simulées et évaluées à partir des mesures *in situ*.

Les concentrations en norovirus génogroupes I et II, rotavirus, entérovirus et adénovirus ont été suivies expérimentalement en sortie de station d'épuration sur des échantillons d'1 L d'eau, tandis qu'elles ont été suivies sur des volumes de 100 L d'eau pour les eaux de rivière (Artière et Allier) et pour les eaux des nappes alluviales en bordures d'Artière (au niveau de jardins potagers) et d'Allier (dans des puits servant à l'irrigation de maïs par pivots).

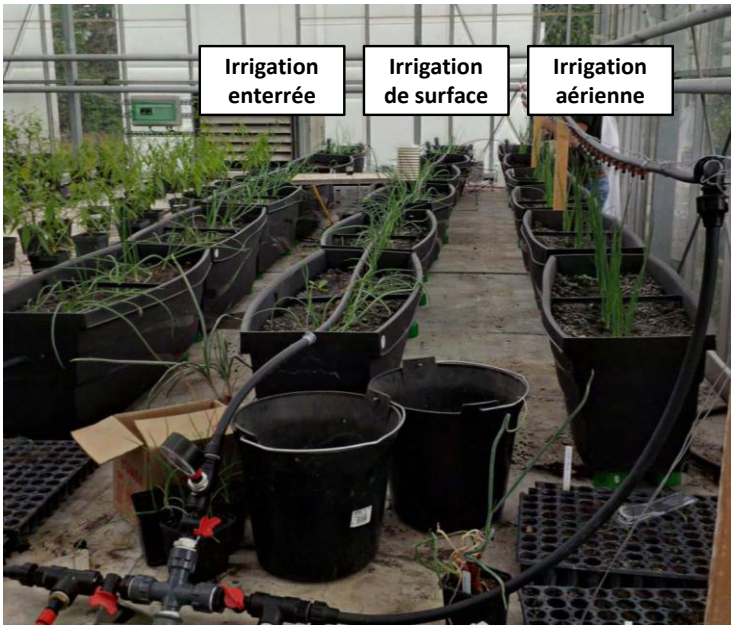
La confrontation des concentrations simulées aux concentrations relevées sur le terrain montre la cohérence entre les deux types de valeurs. Les simulations démontrent par ailleurs bien l'impact des by-pass sur la pollution virale de l'Artière. A noter qu'une campagne ponctuelle de mesures dans jardins potagers en bordure d'Artière a montré que les concentrations virales dans les cultures potagères et dans l'eau de nappe servant à irriguer ces jardins étaient toutes en-deçà des seuils de détection. Les suivis pratiqués sur l'Allier en amont et aval de la confluence avec l'Artière ont montré que les apports d'eau de l'Artière pouvaient accroitre ou diluer la pollution virale de l'Allier, due aux eaux usées rejetées par plusieurs stations d'épuration en amont de la confluence. Caractérisée à 80 et 400 m de la berge, la nappe alluviale de l'Allier en aval de la confluence avec l'Artière ne présentait pas de pollution virale détectable.

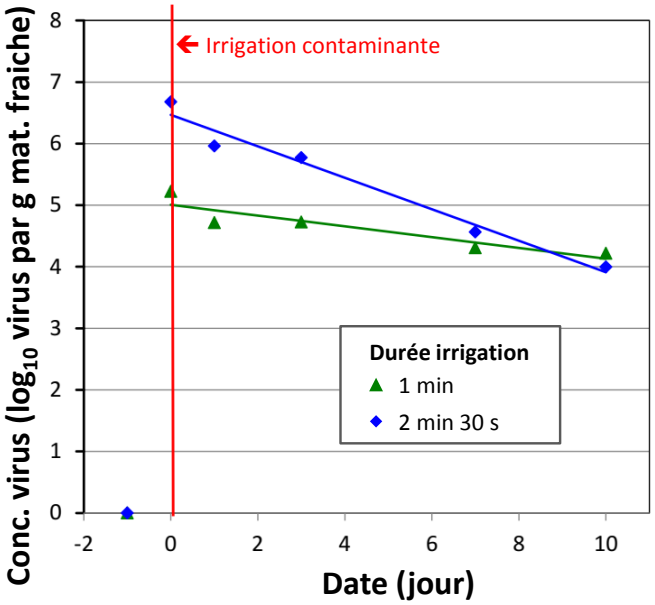
Ces résultats gagneraient à une meilleure prise en compte des apports latéraux d'eaux aux rivières (ruissellement, fossés …), des échanges d'eau entre rivière et aquifère, et du devenir même des virus en rivière.

Les eaux réutilisées en irrigation peuvent s'écouler à la surface des parties aériennes des couverts végétaux cultivés et/ou s'infiltrer dans le sol pour s'y redistribuer et être absorbées par les racines des plantes ou être entrainées vers l'aquifère sous-jacent. Les virus dans ces eaux peuvent adhérer à la surface des parties aériennes comme des parties souterraines des végétaux cultivés, tandis que les virus emportés dans le sol peuvent être internalisés dans les plantes *via* leur système racinaire et migrer ensuite vers les parties aériennes sans perdre leur pouvoir infectieux. Mais le sol peut freiner ou réduire la contamination des plantes, voire éliminer ce risque, avec l'adsorption (réversible ou non) de virus à la surface de particules de sol et/ou avec leur inactivation, voire leur destruction.

Les eaux usées traitées réutilisées par les agriculteurs de l'ASA *'Limagne Noire'* subissent un lagunage comme traitement tertiaire à la sortie de la station d'épuration. Des caractérisations des concentrations virales ont été faites à deux reprises sur les huit lagunes se succédant ; les mêmes caractérisations ont été faites sur la huitième lagune toutes les deux semaines en période de réutilisation des eaux usées. Dans cette dernière lagune, les teneurs en virus étaient quasi-systématiquement en-deçà des seuils de détection. De la même manière, aucune contamination virale n'a pu être détectée lors d'un prélèvement ponctuel d'eau usée en sortie canon d'aspersion et en surface des plants de maïs irrigués.

Des expérimentations complémentaires ont été conduites sous serre sur une culture d'oignons verts cultivés sur un sol typique de la Limagne Noire et irrigués au goutte-à-goutte selon trois modalités (enterrée, de surface, aérienne). Les eaux d'irrigation étaient contaminées à une seule date par un virus proche du norovirus de l'Homme. Elles ont montré qu'une irrigation avec des eaux chargées en virus contaminait la plante en surface, mais que les irrigations ultérieures permettaient une décontamination progressive dont la vitesse croît avec la quantité journalière d'eau reçue. S'il restait des virus en surface après quelques jours, il est très probable que ceux-ci aient été inactivés suite à leur exposition à de l'air non saturé en vapeur d'eau. Le mode d'irrigation aérien, de surface ou enterré affectait bien évidemment la contamination des tiges-feuilles, mais n'affectait pas la





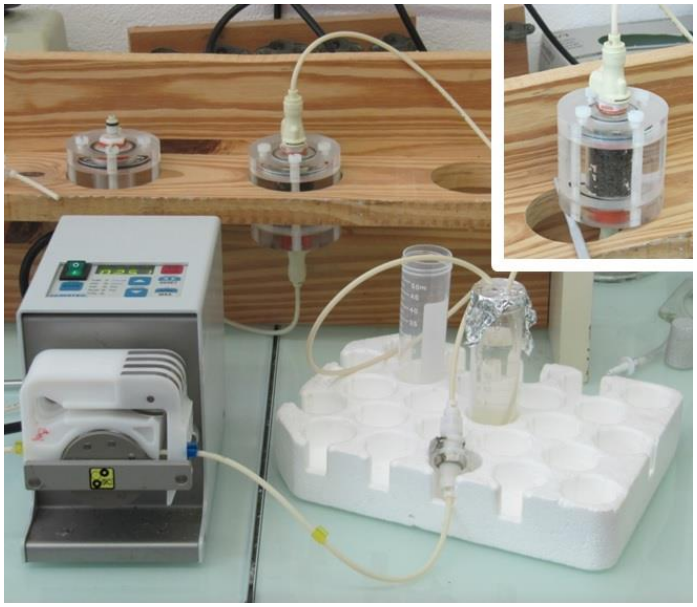
Trois modes d'irrigation d'oignons verts (Allium) sous serre avec une irrigation quotidienne et à une date unique irrigation par une solution contaminée en virus

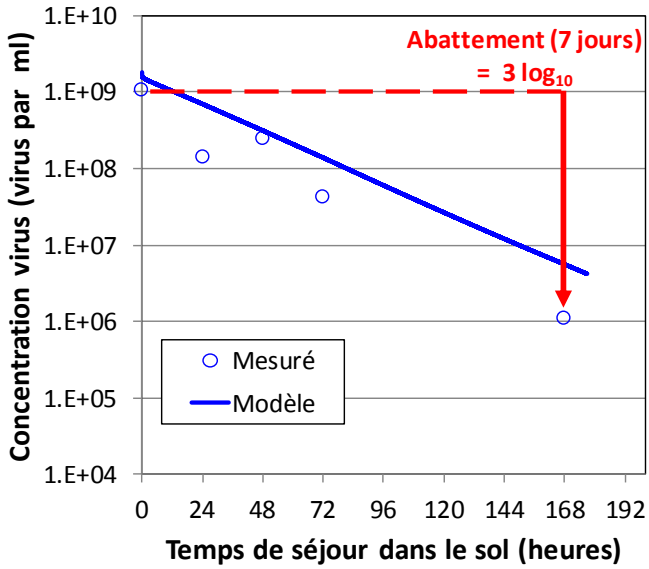
contamination de surface des bulbes.

A partir d'expérimentations sur de petites colonnes d'agrégats du sol de Limagne Noire saturées en eau, nous avons montré que les virus apportés disparaissaient progressivement de la solution circulant dans la colonne : leur concentration était divisée par 2,4 environ toutes les 24 heures. L'utilisation d'une solution non contaminée pour "rincer" ce sol ne permettait de récupérer qu'une très faible fraction des virus disparus et l'utilisation d'un protocole "plus violent" défini pour maximiser la remobilisation des virus restant adsorbés à la surface des particules de sol ne permettait de récupérer que très peu de virus en plus, suggérant la destruction de ces virus. La composition chimique de la solution traversant le sol impactait la disparition des virus ou leur remobilisation. Notamment de fortes teneurs en ion magnésium favorisaient l'immobilisation du virus ou ralentissaient sa remobilisation, comme cela a été observé avec de l'eau de nappe prélevée en Limagne Noire.

Malgré l'abattement provoqué par le sol sur la quantité de virus pouvant migrer vers les racines, on a observé une internalisation de virus dans les oignons vers avec contamination des bulbes et des tiges-feuilles. Contrairement aux contaminations de surface des tiges-feuilles dont la contamination dépend du mode d'irrigation, les contaminations internalisées des bulbes et des tiges feuilles ne varient pas avec le mode d'irrigation, probablement parce que les racines voient à peu près les mêmes quantités d'eau avec les mêmes niveaux de contaminations.

Ces travaux doivent être poursuivis pour tester la possibilité d'une décontamination passive associée à la transpiration ou à la guttation de la plante, évaluer l'impact de molécules comme les huiles essentielles sur l'inactivation des virus, et voire au-delà de la culture l'impact des opérations post-récoltes sur le risque.





Photos du dispositif utilisé pour suivre le devenir du norovirus murin (c.à.d. de souris) dans des colonnes de sol et évolution sur 7 jours de leur concentration dans la solution circulante.

Rejet ou réutilisation ? Les risques viraux *sensu stricto* inhérents aux deux scénarios très contrastés que sont les rejets d'eaux usées traitées en rivière et leur réutilisation en irrigation agricole restent à évaluer en prenant en compte leurs impacts respectifs sur les risques de contamination de l'Homme par les eaux, les aliments ou l'air. Cette évaluation peut nécessiter de subdiviser la population en sous-groupes se distinguant par leurs habitudes et leur sensibilité *a priori* aux pathogènes. Elle peut nécessiter de prendre en compte explicitement une variabilité des phénomènes, surtout pour les populations de petites tailles, avec l'utilisation de techniques de Monte Carlo pour générer une variabilité de symptômes et d'excrétions virales entre individus souffrant tous de gastroentérites d'étiologie virale.

Quelques références pour aller plus loin

Tesson V. 2018. Devenir des virus entériques de l'Homme dans les eaux et les sols : vers une comparaison de scénarios de rejets et de recyclages. *Thèse de Doctorat en Biologie de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse* (soutenue le 14 Mars 2018).

Tesson V., Belliot G., Estienney M., Wurtzer S., Renault P., 2018. Vomiting symptom of acute gastroenteritis estimated from epidemiological data can help predict river contamination by human pathogenic enteric viruses. *Environmental Science and Technology*, soumis le 13 mars 2018.

Tesson V., de Rougemont A., Capowiez L., Renault P., 2018. Modelling the removal and reversible immobilization of murine noroviruses in a phaeozem under various contamination and rinsing conditions. *European Journal of Soil Science*, soumis le 24 janvier 2018

Renault P., Tesson V., Belliot G., Estienney M., Capowiez L., Tomas S. et al. 2017. Wastewater reuse for agricultural irrigation as an alternative to wastewater discharge in river; environmental fate of human enteric viruses present in treated wastewater. *Agropolis Fondation; final report of the Full project n°1403-050*.

Courault, D., Albert, I., Perelle, S., Fraisse, A., Renault, P., Salemkour, A., Amato, P. (2017). Assessment and risk modeling of airborne enteric viruses emitted from wastewater reused for irrigation. *Science of the Total Environment* (592), 512-526.

Nguyen The C., Bardin M., Bérard A., Berge O., Brillard J., Broussolle V., Carlin F., Renault P., Tchamitchian M., Morris C.E. 2016. Agrifood systems and the microbial safety of fresh produce: trade-offs in the wake of increased sustainability. *Science of the Total Environment*, 562, 751-759.

Renault P., Thomas B., Courault D. 2014. Réutiliser les eaux usées de l'eau en plus, des pollutions en moins. [Vidéo] (http://prodinra.inra.fr/record/407414) *Salon International de l'Agiculture* 2014.

Remerciements : Nous remercions l'*Agence Nationale de la Recherche* et le *Labex Agro* pour leur soutien au projet intitulé *"Fate of human enteric viruses after the discharge or reuse of treated wastewater"*, ainsi que le *Conseil Régional Provence-Alpes-Côte-d'Azur* et l'*Institut National de la Recherche Agronomique* (INRA) pour la bourse de doctorat de V. Tesson. Nous remercions également tous les acteurs qui nous ont aidés pour ce travail : *Clermont-Auvergne-Métropole* et *Veolia* opérant la station d'épuration «Les Trois Rivières» pendant la période d'échantillonnage expérimental, l'agence *Santé Publique France*, l'association d'agriculteurs *'ASA Limagne Noire'* réutilisant les eaux usées traitées et d'autres agriculteurs nous ayant donné accès aux potagers et aux puits des aquifères alluviaux de l'Artière et de l'Allier, *SOMIVAL Ingénierie et Conseil*, *Eiffage*, la *Sucrerie de Bourdon* du groupe coopératif agro-industriel *Cristal Union*, le CNR des Virus des Gastro-Entérites (Dijon), l'UMR G-EAU (Montpellier), et le Centre de Recherche *INRA Auvergne-Rhône-Alpes* à Clermont-Ferrand.