

## AVIS

### relatif aux traitements appliqués aux boues de stations d'épuration par rapport au risque d'infection au virus SARS-CoV-2

21 octobre 2022<sup>1</sup>

Par la saisine du 26 juillet 2022, la Direction générale de l'aménagement, du logement et de la nature (DGALN), la Direction générale de la prévention des risques (DGPR), la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de l'alimentation (DGAL) ont sollicité l'avis du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) sur les traitements appliqués aux boues de stations d'épuration en période de Covid-19 (Annexe 1).

Depuis le début de l'épidémie de Covid-19, plusieurs études ont mis en évidence la présence d'ARN viral de SARS-CoV-2 dans les eaux usées. Sur la base de deux avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) et d'études du Laboratoire National d'Essais (LNE), les textes réglementaires encadrant l'épandage des boues ont été modifiés afin de restreindre les possibilités d'épandage et de les lier à des mesures d'hygiénisation des boues. Aujourd'hui, il convient de déterminer si, en fonction des connaissances disponibles et des impacts de ces mesures sur la filière de gestion des boues, ces mesures d'hygiénisation doivent être maintenues.

L'avis du HCSP est sollicité sur les points suivants :

- Les données scientifiques et techniques relatives à la présence et à l'infectiosité<sup>2</sup> du virus dans les eaux usées et les boues des stations d'épuration sont-elles de nature à justifier le

<sup>1</sup> Corrigé le 9 décembre 2022 en page 8 à la suite d'une erreur d'attribution de travaux

<sup>2</sup> Définitions :

- La viabilité (*viability* en anglais) d'un pathogène est sa capacité à se maintenir vivant, c'est-à-dire pour un virus qui se reproduit exclusivement à partir de son matériel génétique à conserver la capacité de réplication de son génome (ADN ou ARN).
- L'infectiosité (*infectivity* en anglais) d'un pathogène est sa capacité à établir une infection in vivo ou in vitro.
- La différence entre ces deux concepts est assez ténue pour les virus. Le terme viabilité se rapporte à l'intégrité physico-chimique de la particule virale alors que le terme infectiosité fait appel à la capacité dynamique du virus à infecter une cellule in vivo ou in vitro. La viabilité est une condition nécessaire pour qu'un virus soit infectieux mais non suffisante (ainsi un virus viable peut perdre son infectiosité s'il est mis en présence d'anticorps neutralisants ou si la cellule a été rendue réfractaire à l'infection virale sous l'effet des interférons).

maintien des restrictions d'épandage des boues actuellement en vigueur ? La réponse est-elle la même lorsque les boues proviennent d'une station d'épuration industrielle traitant les eaux vannes en faible proportion ?

- Si la levée complète de ces mesures restrictives n'apparaît pas opportune au regard de ces informations, leur allègement ou leur remplacement par d'autres dispositions moins contraignantes est-il toutefois envisageable ?
- S'il s'avérait que la présence du virus SARS-CoV-2 dans les boues présente un risque sanitaire, celui-ci pourrait-il être évalué au moyen d'un ou plusieurs indicateurs ?

Pour répondre à cette saisine, le HCSP a mobilisé un groupe de travail constitué de membres issus des Commissions spécialisées « Risques liés à l'environnement » (CSRE) et « Maladies infectieuses et maladies émergentes » (CSMIME) au HCSP et d'experts extérieurs (Annexe 2).

Une étude de la documentation disponible et des publications scientifiques a été réalisée ainsi que des auditions d'experts (Annexe 3).

L'objectif de cet avis est de définir s'il existe un risque de transmission du virus SARS-CoV-2 à l'humain à partir des boues d'épandage, selon les caractéristiques des boues.

## I. Le HCSP a pris en compte différentes données

### I.1. Les documents transmis par les commanditaires

Les dix documents transmis avec la saisine par les commanditaires ont été résumés par rapport aux questions posées par la saisine (cf. Annexe 4).

- Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande en urgence d'appui scientifique et technique sur les risques éventuels liés à l'épandage de boues d'épuration urbaines durant l'épidémie de Covid-19 en date du 27 mars 2020 [1]
- Instruction ministérielle du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues de station de traitement des eaux usées (STEU) dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise Covid-19 [2] : <https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/circulaire%20boues.pdf>
- Note d'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relative aux risques liés à l'épandage de boues d'épuration industrielles durant l'épidémie de Covid-19 en date du 17 avril 2020 (non jointe à la saisine) [3]
- Instruction DGPR du 23 avril 2020 relative à la gestion des boues des stations d'épuration industrielles contenant des eaux-vannes [4]
- Arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19 [5] : <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000041845678>
- Rapport d'étude du laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE) sur l'abattement des bactériophages dans les boues de stations de traitement des

eaux usées, S. Lardy-Fontan, N. Guigues et en collaboration avec C. Gantzer (Université de Lorraine/CNRS), la Fédération nationale des collectivités concédantes et régies (FNCCR) et la Fédération Professionnelle des Entreprises de l'Eau (FP2E) [6]

- Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage de boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la crise de Covid-19 en date du 19 février 2021 [7]
- Questions relatives à l'application de la circulaire du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise de covid-19 [8] : [https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ%20BOUES%2009\\_03\\_2021.pdf](https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ%20BOUES%2009_03_2021.pdf)
- Foire aux questions complémentaire relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) suite à la publication de l'arrêté du 20 avril 2021 modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19 [9] : [https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ\\_BOUES\\_Compl%C3%A9ments\\_avril%202021.pdf](https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ_BOUES_Compl%C3%A9ments_avril%202021.pdf)
- Article : *Defining biological and biophysical properties of SARS-CoV-2 genetic material in wastewater*, Carolyn A. Robinson, Hsin-Yeh Hsieh, Shu-Yu Hsu, Yang Wang, Braxton T. Salcedo, Anthony Belenchia, Jessica Klutts, Sally Zemmer, Melissa Reynolds, Elizabeth Semkiw, Trevor Foley, XiuFeng Wan, Chris G. Wieberg, Jeff Wenzel, Chung-Ho Lin, Marc C. Johnson, *Science of the Total Environment* 807 (2022) 150786 [10]
- Une synthèse de l'étude de parangonnage réalisée en avril 2022 de 7 pays européens (Italie, Espagne, Portugal, Suède, Royaume-Uni, Pologne et Allemagne) [11]

## **I.2. Les données actuelles de la littérature scientifique concernant le virus SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues**

Les développements analytiques ont surtout porté sur la quantification de l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées et les boues fraîches (primaires, biologiques et tertiaires) et les boues traitées (digérées, déshydratées et séchées) des stations d'épuration [12-15].

Les étapes de traitement des boues montrent une efficacité pour réduire les niveaux de concentration de l'ARN du SARS-CoV-2, notamment au niveau du séchage thermique. Ces niveaux de concentration sont soit faibles, soit inférieurs aux limites de quantification pour les boues séchées.

Toutefois, ces études de quantification de l'ARN viral n'apportent pas d'information sur l'infectiosité du virus dont on détecte le matériel génétique. Le groupe de travail du HCSP s'est donc orienté vers les études portant sur la viabilité du virus, condition nécessaire de l'infectiosité, dans les matières fécales, les eaux usées et les boues de stations d'épuration.

## II. Le HCSP a considéré la viabilité potentielle du virus SARS-CoV-2 dans les matières fécales, les eaux usées et les boues de stations d'épuration

### II.1. Rappels sur la structure du virus SARS-CoV-2, sa sensibilité aux agents physico-chimiques et ses modes de transmission <sup>3</sup>

Le virus SARS-CoV-2 appartient à la famille des *Coronaviridae* et au sous-genre *Betacoronavirus*. Le virion a un diamètre d'environ 120 nm. De l'intérieur vers l'extérieur, il comprend un fragment monocaténaire simple brin non fragmenté d'ARN positif, une capsidie protéique de structure hélicoïdale composée de la nucléoprotéine N et d'une enveloppe de nature phospholipidique composée de 2 glycoprotéines internes M et E, et hérissée de spicules également de nature glycoprotéique (protéine S).

Sous l'angle de la résistance dans le milieu extérieur, 3 de ces éléments méritent d'être soulignés :

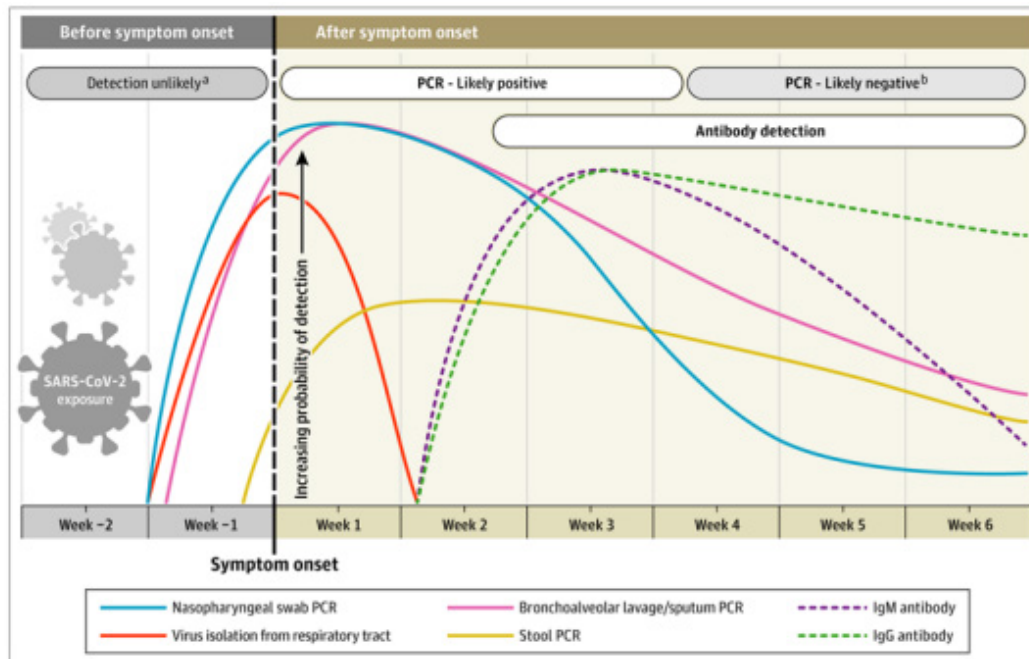
- l'ARN génomique, lorsqu'il est débarrassé des protéines de capsidie et de l'enveloppe, est relativement fragile –par comparaison à l'ADN- dans le milieu extérieur sous l'effet de différents agents physiques comme les rayons ultra-violetts ou les radiations ionisantes ; les enzymes RNases présentes en grande quantité dans l'environnement sont également capables de digérer l'ARN ;
- la protéine S qui constitue la partie la plus externe du virus est indispensable à l'infectiosité du virion en permettant son entrée dans la cellule par suite de la reconnaissance spécifique du récepteur cellulaire identifié comme le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine de type 2 (ACE-2) ;
- l'enveloppe constitue le « talon d'Achille » des virus enveloppés ; du fait de sa nature phospholipidique, elle est très sensible à la chaleur (15-20 minutes à 60 °C) et aux solvants des graisses comme la plupart des antiseptiques et désinfectants, y compris les solutions hydro-alcooliques, l'éther, l'acétone ou les sels biliaires présents dans les matières fécales ; la destruction de l'enveloppe qui supporte la protéine S est synonyme de la perte du caractère infectieux du virion, tant *in vivo* qu'en culture cellulaire.

Au cours de la Covid-19, la transmission interhumaine du SARS-CoV-2 a lieu principalement par voie respiratoire directe, à la fois par le biais de gouttelettes et de microparticules aérosolisées [17] ; la transmission indirecte à partir de contacts avec des surfaces ou des objets contaminés par des particules virales d'origine respiratoire ou salivaire (fomites) ou par des mains souillées par des sécrétions respiratoires représente une modalité plus accessoire mais avérée de contamination. Le rôle des autres fluides biologiques comme sources de contamination est beaucoup plus anecdotique et moins documenté. C'est le cas des selles pourtant très souvent positives pour la détection du génome viral, comme cela sera détaillé plus loin.

La Figure 1 résume de façon schématique les données connues sur l'infectiosité du SARS-CoV-2 et la présence d'ARN viral dans différents fluides biologiques en fonction de la date des symptômes et de la réponse sérologique. La courbe jaune illustre la cinétique de l'excrétion relativement prolongée de l'ARN viral dans les selles.

---

<sup>3</sup> Pour plus d'informations, se référer au rapport [Coronavirus SARS-CoV-2 : actualisation de la prise en charge](#) du HCSP publié le 20/08/2020 [16].



**Figure 1.** Dynamique temporelle des marqueurs virologiques au cours de l'infection à SARS-CoV-2 (échelle verticale indicative) [18].

Certains auteurs ont documenté la présence d'ARN viral par PCR dans les selles de certains patients, y compris longtemps après des symptômes respiratoires, soulevant la question d'une possible transmission par cet intermédiaire [19-21]. Cette possible voie de contamination n'est pour l'instant ni confirmée, ni totalement réfutée [22]. Pour autant, si elle est théoriquement possible, son impact en termes de risque de contagiosité est probablement négligeable pour deux raisons :

- la première est que la présence d'ARN viral par PCR n'est absolument pas prédictive de celle de virus infectieux ;
- la deuxième raison vient de la probabilité excessivement faible de se contaminer en milieu extérieur.

Ces deux raisons seront explicitées en détail dans la suite de cet avis.

## II.2. Viabilité du virus SARS-CoV-2 dans les matières fécales

La transmission entérique du virus SARS-CoV-2 a été souvent discutée. Cette assertion repose sur de nombreux travaux basés sur la détection fréquente et parfois prolongée d'ARN viral dans les selles de patients infectés par cet agent à tous les stades de la maladie, y compris dans les formes peu ou asymptomatiques. En revanche, très peu d'études attestent de la présence de virus infectieux dans les selles.

- **La présence d'ARN viral de SARS-CoV-2 dans les selles de personnes infectées est attestée**

Le diagnostic de l'infection par le virus SARS-CoV-2 repose en routine sur la détection du génome viral par RT-PCR quantitative (ou par techniques moléculaires équivalentes) dans différents fluides biologiques. Comme le montre la Figure 1, le génome ARN du SARS-CoV-2 peut être facilement détecté dans les selles au cours de la Covid-19 et souvent pendant des périodes plus prolongées

que dans les sécrétions respiratoires (jusqu'à 22 jours dans les selles versus 10 jours dans le rhinopharynx dans l'étude de Zhang *et al.*, 2021 [23]). Au cours des phases épidémiques de Covid-19, cette quantité importante d'ARN viral présente dans les selles est retrouvée dans les eaux usées<sup>4</sup>, et de ce fait cette détection est devenue un outil de surveillance épidémiologique de la circulation virale sous le terme d'épidémiologie basée sur les eaux usées (« wastewater-based epidemiology » ou WBE) [24-26]. De nombreuses applications de cette technologie ont été développées pour tracer et quantifier le niveau et la dynamique de contamination dans une communauté humaine (campus étudiant, hôpital, quartier d'une ville, région ...), avec des résultats beaucoup plus rapides et -plus économiques que par le biais de dépistages humains individuels.

- **Mais la mise en évidence de virus infectieux dans les selles est un phénomène rare**

Une revue systématique de la littérature réalisée sur les articles publiés jusqu'en décembre 2020 [22] répertorie six études ayant tenté de retrouver du virus viable dans les selles de patients hospitalisés [21, 27-31]. A ces études se rajoutent quatre nouvelles études publiées postérieurement à cette revue [32-35]. Sur les 10 études résumées dans le Tableau 1, publiées pour la plupart au cours de la première vague épidémique de 2020, seulement 6 patients ont été testés positifs pour la présence de SARS-CoV-2 en culture cellulaire dans les selles [21, 29, 31, 34]. Un septième cas a été identifié suite à l'inoculation du prélèvement de selles au furet [27] ; aucune autre infection n'a été retrouvée lors d'expérimentations animales (furets, hamsters) après inhalation d'extraits de fèces contaminés malgré une charge virale importante [36]. Aucune de ces études n'a permis de quantifier la charge virale. Une seule étude a rapporté l'observation d'un effet cytopathogène (l'image publiée est d'ailleurs assez peu convaincante) après un premier passage aveugle [21]. Dans 4 des 6 cas où du virus infectieux a été isolé, la culture a été confirmée par la mise en évidence de particules virales en microscopie électronique (ME) et par séquençage [21, 31, 34]. Dans l'étude de Dergham *et al.* (2021) [34], deux souches différentes de SARS-CoV-2 ont été isolées chez le même patient à un jour d'écart, ce qui plaide pour une double infection. Au total, moins de 1% des patients testés dans ces études présentent encore des particules virales viables dans les selles, pourcentage probablement surestimé du fait de la non-publication d'études négatives.

**Tableau 1.** Synthèse des publications dans lesquelles les auteurs ont tenté l'isolement du virus SARS-CoV-2 en culture cellulaire

	Culture + / échantillons cultivés	Nbre de patients concernés	Contexte de l'étude	Confirmation virologique des cas positifs
Jeong <i>et al.</i> , 2020 [27]	0 / 3	n = 3	3 patients avec prélèvement de selles sur les 5 inclus	1 prélèvement de selles a été inoculé à un furet et le virus a été isolé à partir du lavage nasal de l'animal
Kim <i>et al.</i> , 2020 [28]	0 / 13	n = 13	74 patients inclus -> 129 selles testées en PCR -> test de viabilité sur les 13 positifs	-

<sup>4</sup> En particulier par le réseau Obépine (Observatoire EPIdémiologique daNs les Eaux usées).

Wang <i>et al.</i> , 2020 [29]	2 / 4	n = 4	205 patients inclus dont 153 avec prélèvement de selles -> test de viabilité sur les 4 échantillons positifs par PCR	aucun détail sur les modalités de culture ; pas de confirmation virologique mentionnée
Wolfel <i>et al.</i> , 2020 [30]	0 / 13	n = 4	9 patients inclus - 13 échantillons de selles disponibles pour 4 d'entre eux	-
Xiao <i>et al.</i> , 2020 [21]	2 / 3	n = 2	28 patients inclus avec prélèvement de selles -> 12 patients testés positifs par PCR -> essai de viabilité sur les 3 échantillons les plus fortement positifs provenant de 2 patients	confirmation des 2 cas positifs par l'existence d'un effet cytopathique après un premier passage aveugle, par ME et par séquençage
Young <i>et al.</i> , 2020 [35]	0 / 34	n = 34	34 patients inclus avec 1 selle chacun	-
Zhang <i>et al.</i> , 2020 [31]	1 / 1	n = 1	aucune information sur le nombre total de patients et d'échantillons inclus	confirmation du cas positif par ME et par séquençage
Albert <i>et al.</i> , 2021 [32]	0 / 8	n = 5	8 patients inclus dont 7 avec une ou plusieurs selles -> 10 selles provenant de 7 patients faiblement positives en PCR -> essai de viabilité sur les 8 selles provenant de 5 patients avec les résultats les moins faiblement positifs en PCR	-
Dergham <i>et al.</i> , 2021 [34]	2 / 106	n = 46	les 2 prélèvements de selles positifs provenaient du même patient, transplanté rénal	le virus a été isolé à partir du troisième passage en culture ; les 2 souches ont été isolées à 1 jour d'intervalle -> les 2 virus appartenaient à deux clades différents (20A et 20B) dont l'un avait également été isolé dans le nasopharynx
Cerreda-Romero <i>et al.</i> , 2022 [33]	0 / 31	n = 27	62 patients inclus -> 79 selles testées en PCR -> seuls les 31 échantillons positifs provenant de 27 patients ont été testés en viabilité	-
<b>Total</b>	<b>7 / 217</b>	<b>n = 139</b>	<b>6 patients identifiés avec culture positive du SARS-CoV-2 dans les selles</b>	

ME : microscopie électronique.

Il est cependant à noter deux autres études dans lesquelles le virus SARS-CoV-2 a été mis en évidence dans le tissu rectal par PCR, immunofluorescence tissulaire et microscopie électronique pour l'une d'elles [37] et par immunofluorescence tissulaire et immunohistochimie pour l'autre [38]. Ces observations confirment la capacité des tissus intestinaux à répliquer le SARS-CoV-2.

Ce très faible rendement d'isolement de virus infectieux dans les selles malgré la possibilité de réplication virale au niveau intestinal s'explique notamment par le pH acide des fluides gastriques, les sels biliaires, les enzymes digestives, la déshydratation et la flore colique [36, 39-40], tous éléments capables de dégrader les enveloppes virales, mais aussi par des charges virales relativement faibles dans ce milieu. En effet, la charge virale ARN exprimée en copies de génome par millilitre (CG/ml) est estimée entre  $10^5$  et  $10^{11}$  pour les sécrétions respiratoires,  $10^2$  et  $10^7$  pour les matières fécales et  $10^2$  et  $10^5$  pour les urines [41]. Le ratio d'ARN viral est donc environ plus faible de  $3 \log_{10}$  dans les selles que dans les sécrétions respiratoires.

### II.3. Viabilité du virus SARS-CoV-2 dans les eaux usées lors de son transit dans le réseau de collecte et dans la station d'épuration

#### - Maintien du caractère infectieux du SARS-CoV-2 dans l'environnement

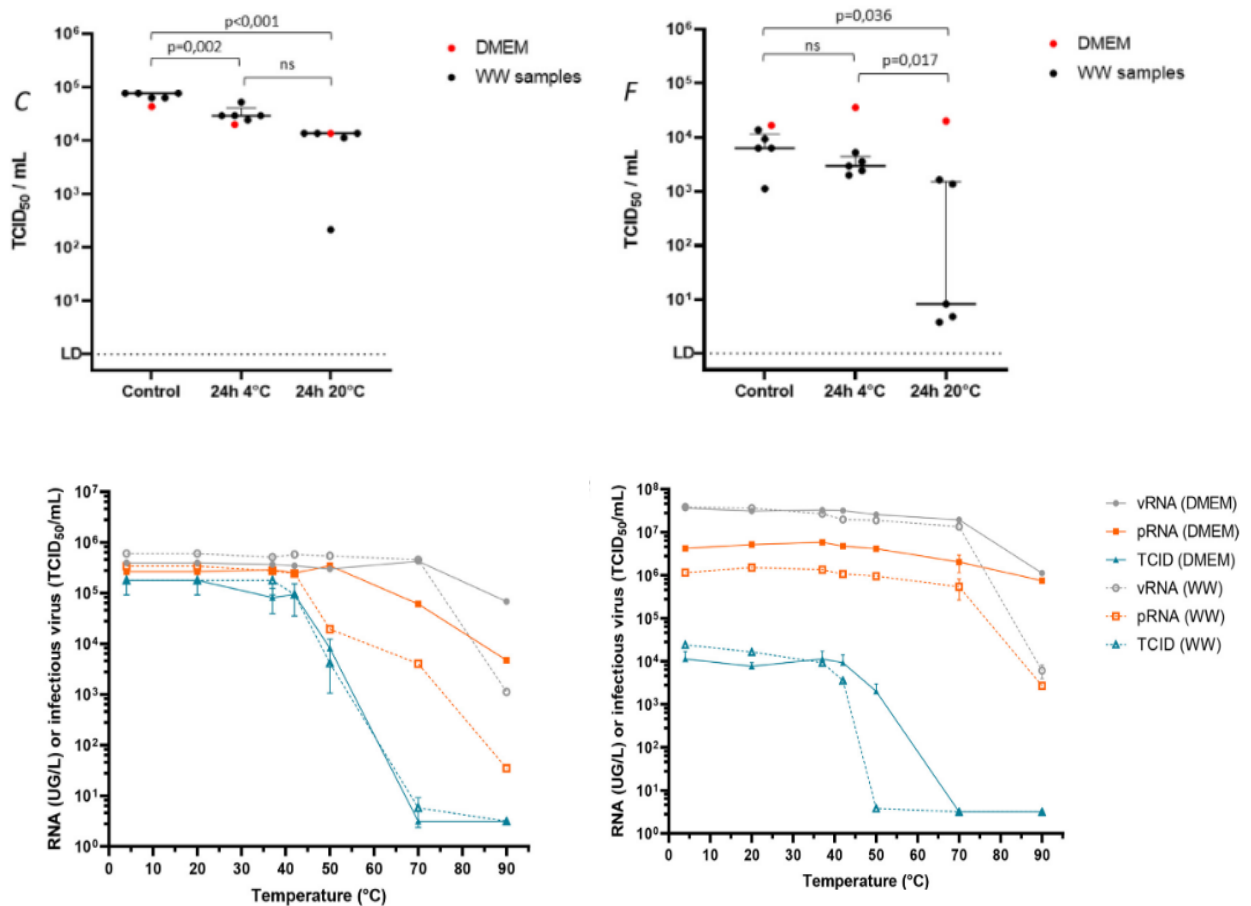
Du fait de son caractère enveloppé, le SARS-CoV-2, comme l'ensemble des coronavirus, peut être considéré comme un virus fragile dans le milieu extérieur. Dès le début de l'épidémie de Covid-19 en 2020, différentes études se sont intéressées à la capacité du virus SARS-CoV-2 à survivre dans le milieu extérieur.

L'une des premières études bien documentées de ce type est celle de Bivins *et al.* [42]. Le mérite de cette étude réside dans le fait qu'elle s'est intéressée à la conservation du pouvoir infectieux du virus à partir d'échantillons d'eaux (eau du robinet et eaux usées) contaminées artificiellement par de fortes concentrations de virus. L'infectiosité du virus a été évaluée en culture cellulaire sur cellules permissives Vero E6. La charge virale ARN a également été mesurée par RT-qPCR. Le temps nécessaire pour réduire de 90% l'infectiosité du virus ( $T_{90}$ ) a été de 1,5 jour dans les eaux usées et 1,7 jour dans l'eau du robinet. En utilisant des titres élevés de virus (de l'ordre de  $10^5$  doses infectieuses en culture de tissu 50% par ml (DICT<sub>50</sub>/ml), du virus infectieux a pu être retrouvé pendant 7 jours. Dans des eaux usées chauffées à 50 °C et 70 °C, le  $T_{90}$  a été respectivement de 15 et 2 minutes. La persistance de la détection de l'ARN viral est quant à elle plus importante, ce qui signifie que la détection d'ARN viral dans l'environnement n'est en rien prédictive de l'infectiosité du virus, comme le soulignent les auteurs de cette étude.

Un travail plus récent effectué par Eau de Paris<sup>1</sup> [43] a comparé la survie du coxsackievirus B5 (CV-B5), un entérovirus nu très résistant, et du SARS-CoV-2 soit dans un milieu de culture DMEM<sup>5</sup> (contrôle) soit dans 5 surnageants d'eaux usées après 24h à 4 °C et à 20 °C. Comme l'illustrent les panneaux supérieurs de la Figure 2, tandis que la survie du CV-B5 est peu modifiée après 24h aux deux températures (perte de moins d'1  $\log_{10}$ ), l'infectiosité du SARS-CoV-2 décroît d'environ 1  $\log_{10}$  à 4 °C pour les 5 échantillons et de 1 à 3  $\log_{10}$  à 20 °C selon la composition chimique et microbiologique des surnageants d'eaux usées. Un chauffage à 50 °C ou plus abolit complètement l'infectiosité du SARS-CoV-2 alors qu'il faut chauffer à 70 °C pour obtenir le même effet avec le CV-B5 (Figure 2, panneaux inférieurs). Ce même travail montre que l'ARN du SARS-CoV-2 peut subsister sous trois formes dans les eaux usées : forme protégée infectieuse, forme protégée non infectieuse et forme non protégée. Les deux premières formes expliqueraient la survie prolongée de l'ARN viral dans les eaux usées.

---

<sup>5</sup> DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium



**Figure 2 :** Expériences de survie du coxsackievirus B5 (panneau de gauche) et du SARS-CoV-2 (panneau de droite) en présence de DMEM (milieu de culture neutre) ou de 5 échantillons d'eaux usées (WW). Les panneaux du haut correspondent à la survie de virus en culture cellulaire après une conservation de 24h à 4°C ou à 20°C. Les panneaux du bas correspondent à l'influence de la température sur la conservation de l'ARN total (vRNA), de l'ARN protégé (pRNA) et de l'infectiosité en culture cellulaire (TCID).

- **Arguments en défaveur d'un rôle épidémiologique significatif de la présence de virus infectieux du SARS-CoV-2 dans l'environnement**

Différentes méta-analyses [44-47] consacrées à la présence de l'ARN du SARS-CoV-2 dans les eaux usées avant traitement ont montré que les quantités d'ARN viral sont comprises entre quelques unités et  $10^6$  CG/ml (voir ci-dessous). Il est intéressant de noter que ces concentrations sont beaucoup plus faibles que celles observées avec les virus entériques nus comme les rotavirus ( $10^6$  à  $10^8$  CG/ml) ou les adénovirus et les norovirus (de l'ordre de  $10^9$  CG/ml) [45].

Bien que le SARS-CoV-2 puisse survivre un peu plus longtemps que d'autres virus enveloppés dans le milieu extérieur, plusieurs arguments plaident en défaveur d'un rôle épidémiologique significatif de la présence de virus infectieux dans les eaux usées.

- dans l'environnement, la présence d'ARN n'est pas synonyme de virus infectieux

Contrairement à ce que l'on observe en clinique humaine où la charge virale est un reflet imparfait du niveau de réplication du virus (notamment avec l'utilisation des valeurs de  $C_T$  – pour « Cycle threshold » en RT-qPCR), la quantité d'ARN présente dans un échantillon d'eaux usées ou de boues

ne préjuge en rien du caractère infectieux du virus correspondant. Il est important de noter que le ratio entre le nombre de virions infectieux et le nombre de copies d'ARN varie de 1 pour 1 000 à plus de 1 pour 100 000 [41], du fait du rendement extrêmement faible du phénomène de réplication virale dans une cellule eucaryote. Quand on mesure cette charge virale au site de multiplication du virus (nasopharynx, voire poumons), elle reflète en partie ce niveau de réplication. En revanche, dans les selles et encore plus dans l'environnement, l'ARN, même sous forme infectieuse protégée, est dépourvu de son enveloppe, ce qui le rend inapte à entrer dans une cellule et donc à pouvoir l'infecter. Par ailleurs, le virus enveloppé dans l'environnement ne peut que voir son infectiosité décroître du fait à la fois de l'absence de système cellulaire permettant sa réplication et de la présence de facteurs inactivateurs (polluants de toutes natures, température, radiations, pH ...) très actifs sur les phospholipides des enveloppes et l'intégrité des acides nucléiques. C'est pourquoi la teneur en virus infectieux décroît très vite au fil du temps (sans parler des traitements inactivateurs qui seront abordés plus loin).

- aucune étude en conditions réelles publiée n'a mis en évidence de virus viable dans les eaux usées

A ce jour, aucune des études scientifiques publiées n'a mis en évidence de virus viable dans les eaux usées [10, 32, 48-53].

En plus de la faible détection de particules virales viables dans les selles, plusieurs phénomènes peuvent expliquer cette absence de détection dans les eaux usées : effet dilution, inactivation du virus par les conditions environnementales (température, pH, matières en suspension, UV...), présence de germes antagonistes (*E. coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium sp.*...), présence de détergents et désinfectants [54]. Plusieurs études de viabilité du virus dans les eaux usées montrent que ce milieu n'est pas favorable à la persistance du virus sous forme infectieuse [15, 36].

Le Tableau 2 ci-dessous résume les effets de la température et du pH sur la viabilité du SARS-CoV-2 à partir d'études expérimentales réalisées en laboratoire, après dopage du virus dans les eaux (eau du robinet, eau de rivière et eaux usées).

**Tableau 2 :** Résumé des effets de la température et du pH sur la viabilité du SARS-CoV-2, expériences après dopage du virus dans les eaux (eau du robinet ou eau de rivière) et eaux usées. T<sub>90</sub> : réduction 1 log, T<sub>99</sub> : réduction 2 logs ; (ht) : high titer, (lt) : low titer.

Conditions	T <sub>90</sub> - eau	T <sub>90</sub> – eaux usées	T <sub>99</sub> - eau	T <sub>99</sub> – eaux usées	Références
4°C	7,7 jours	5,5 jours	18,7 jours	17,5 jours	de Oliveira <i>et al.</i> , 2021 [55]
4°C	3,8 jours	-	-	-	Sala-Comorera <i>et al.</i> , 2021[56]
20°C	2,0 jours (1,8 – 2,2)	1,6 jour (ht) (1,4 – 2,6) 2,1 jours (lt) (1,6 – 3,3)	3,9 jours (3,6 – 4,4)	3,2 jours (ht) (2,9 – 3,7) 4.3 jours (lt) (3,2 – 6,5)	Bivins <i>et al.</i> , 2020 [42]
20°C	-	18 heures	-	Baisse de 5 log <sub>10</sub> après 5 jours	Varbanov <i>et al.</i> , 2021 [15]
20 °C	2,3 jours	-	-	-	Sala-Comorera <i>et al.</i> , 2021 [56]
24°C sans filtration	1,9 jour	1,2 jour	6,4 jours	4,0 jours	de Oliveira <i>et al.</i> , 2021 [55]
24°C après filtration	3,3 jours	1,5 jour	8,5 jours	4,5 jours	de Oliveira <i>et al.</i> , 2021 [55]
50°C	-	15 minutes	-	30 minutes	Bivins <i>et al.</i> , 2020 [42]

		(14 – 17)		(28 – 34)	
70°C	-	2 minutes (1,8 – 2,9)	-	4.5 minutes (3,5 – 5,7)	Bivins <i>et al.</i> , 2020 [42]
50°C	-	4 minutes	-	-	Varbanov <i>et al.</i> , 2021 [15]
pH = 9 -10	-	10 minutes	-	-	Varbanov <i>et al.</i> , 2021 [15]
pH = 11	-	-	-	Baisse de 5 log <sub>10</sub> après 10 minutes	Varbanov <i>et al.</i> , 2021 [15]

- Il n'existe pas de données épidémiologiques en faveur de cas groupés de Covid-19 à partir d'une transmission entérique

Même si une transmission entérique de SARS-CoV-2 à partir d'eaux usées a été parfois évoquée à l'origine de cas groupés de Covid-19, il n'a jamais été possible de documenter ces cas par l'isolement du virus au niveau de ces matrices. Une étude chinoise a suspecté le rôle d'aérosols d'eaux souillées par des selles à partir de canalisations pour expliquer la survenue de 9 cas concernant 3 familles dans un immeuble de Guanzhou [57] ; cependant, aucun virus infectieux n'a été retrouvé dans les échantillons d'eaux incriminés. La même discussion avait eu lieu à propos de cas de SARS-CoV en 2003 lors d'une épidémie due à ce virus dans les immeubles d'Amoy Gardens à Hong-Kong [58], avec la même incapacité à identifier la présence de virus infectieux dans les eaux incriminées. Des explications alternatives impliquant le dépôt de fomites infectieuses sur des surfaces pourraient rendre compte de ces micro-épidémies. L'absence de cas de Covid-19 chez des travailleurs exposés aux eaux usées ou à leur traitement est une raison supplémentaire pour arguer sur le rôle négligeable de ce mode de contamination [41].

Les évaluations de risque sanitaire pour les travailleurs des stations d'épuration des eaux usées concluent à un risque additionnel négligeable [59-61]. Les directives américaines de l'Agence américaine de protection de l'environnement (US-EPA), de l'*Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) et des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) concernant les travailleurs des eaux usées ne recommandent aucune protection spécifique supplémentaire contre le SARS-CoV-2 [59]. Ces recommandations rejoignent celles des organismes internationaux [62-63] pour lesquels il n'existe aucune preuve de la présence de SARS-CoV-2 viable dans les systèmes d'assainissement et que contracter la Covid-19 par exposition aux eaux usées est peu probable [41].

**EN CONCLUSION, le virus SARS-CoV-2 est un virus enveloppé fragile dans le milieu extérieur et notamment les milieux aqueux.** Au décours de l'infection aiguë, l'ARN viral peut être détecté de façon assez prolongée dans les selles. Cette observation a été mise à profit pour en faire un outil épidémiologique de la circulation virale. **En revanche la mise en évidence de virus infectieux dans ce milieu reste une observation exceptionnelle.** Il n'existe pas de corrélation entre la détection d'ARN du SARS-CoV-2 dans les selles et a fortiori dans l'environnement et le risque de contamination à partir de ces milieux. Du fait de l'absence de cellules permettant la réplication virale et de nombreux facteurs physico-chimiques susceptibles de dégrader les enveloppes virales (support de l'infectiosité), la quantité de virus infectieux potentiellement présent dans les eaux usées décroît rapidement au fil du temps, même en l'absence de traitement inactivateur.

#### II.4. Influences des traitements des eaux usées et des boues sur la viabilité potentielle du virus

Les eaux usées passent par de nombreuses étapes techniques avant production d'une boue susceptible d'être épandue (Figures 3 et 4).

Comme l'on peut l'observer dans le tableau suivant, les effluents potentiellement contaminés subissent aussi :

- une très forte dilution tout d'abord au niveau domestique puis dans les réseaux d'eaux usées,
- un contact permanent avec des détergents, des tensioactifs et parfois des molécules virucides (résidus chlorés, ammoniums quaternaires, peroxydes, agents de blanchiment), présentes dans les produits d'entretien et les produits lessiviels.

Les boues liquides formées peuvent, si elles sont déshydratées, subir en plus :

- un contact avec d'autres molécules chimiques utilisées en déshydratation des boues ; on peut citer à titre d'exemples le chlorure ferrique, les coagulants et floculants cationiques, la chaux ;
- un très grand stress mécanique lors des étapes de déshydratation (centrifugation, haute pression ...).

De plus, les boues sont de plus en plus souvent méthanisées dans un réacteur biologique anaérobie.

Ainsi, à chaque étape, du processus repris dans la figure 5, il y a soit une dilution soit un contact direct de la biomasse avec des tensio-actifs, des détergents cationiques (ammoniums quaternaires présentant souvent des capacités désinfectantes plus ou moins importantes ...) des produits chimiques (floculants cationiques, chaux, chlorure ferrique, chlorosulfate ferrique, polychlorure d'aluminium ...), tout en passant dans des équipements stressant la biomasse.

Il est également important de corrélérer ces données au temps de séjours hydrauliques des eaux usées traitées dans les réseaux d'assainissement (quelques heures) et dans les stations d'épuration (de l'ordre de 12 à 24h pour les filières eau selon la taille de la station et de 10 jours à un mois en moyenne pour la filière boues) qui diminue de fait la probabilité de viabilité du virus en sortie de station d'épuration des eaux usées (STEP) tant pour l'eau traitée que pour les boues produites [64].

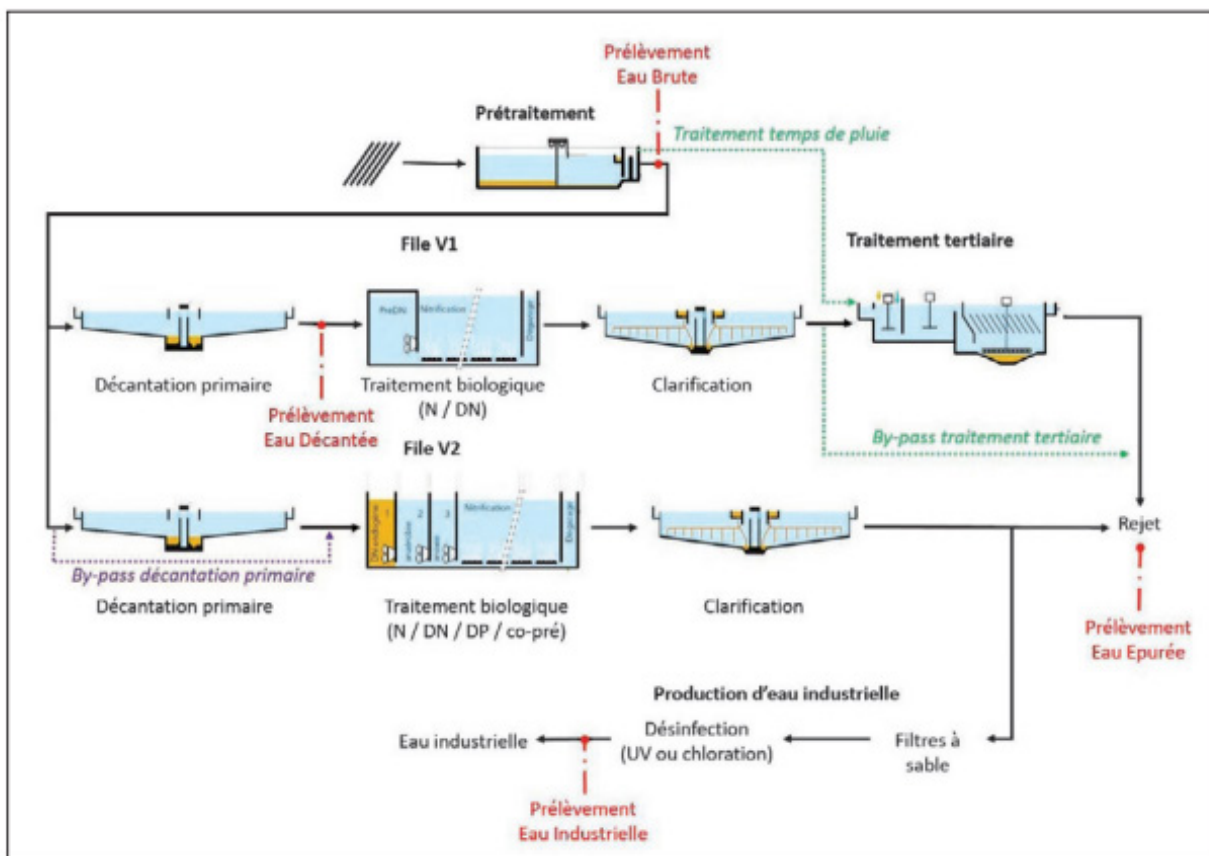


Figure 3 : Présentation de la filière de traitement des eaux usées de la station Seine Valenton [13]

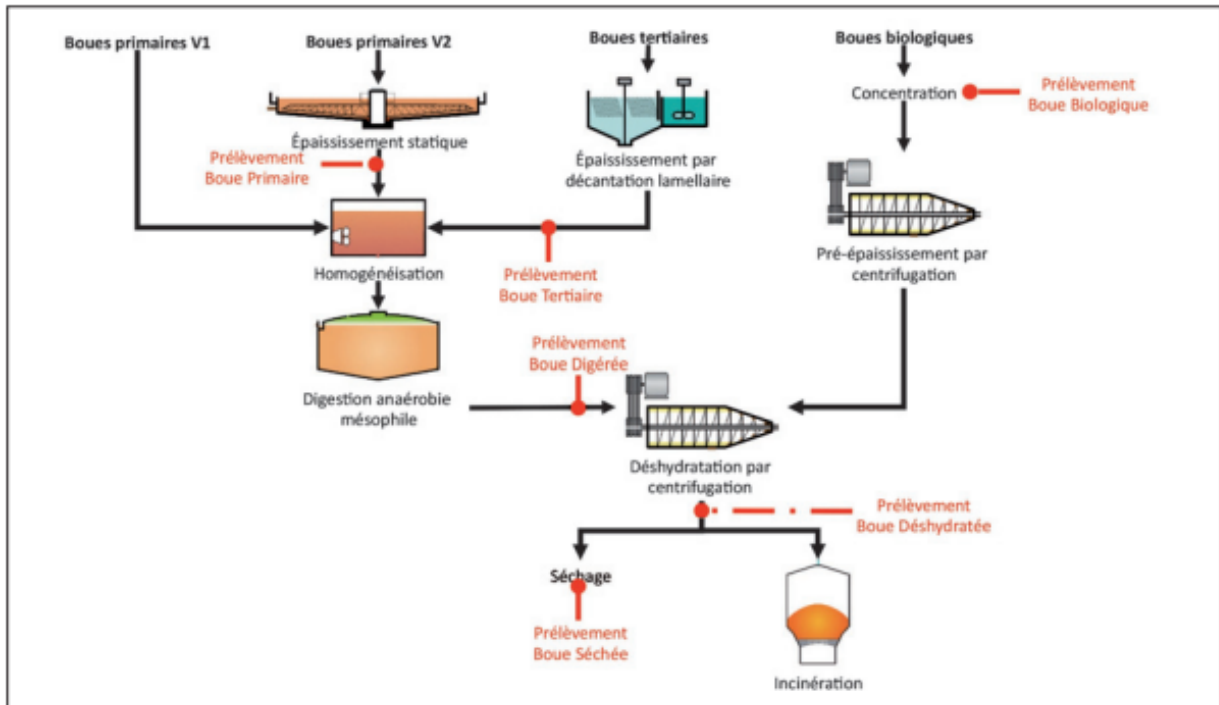
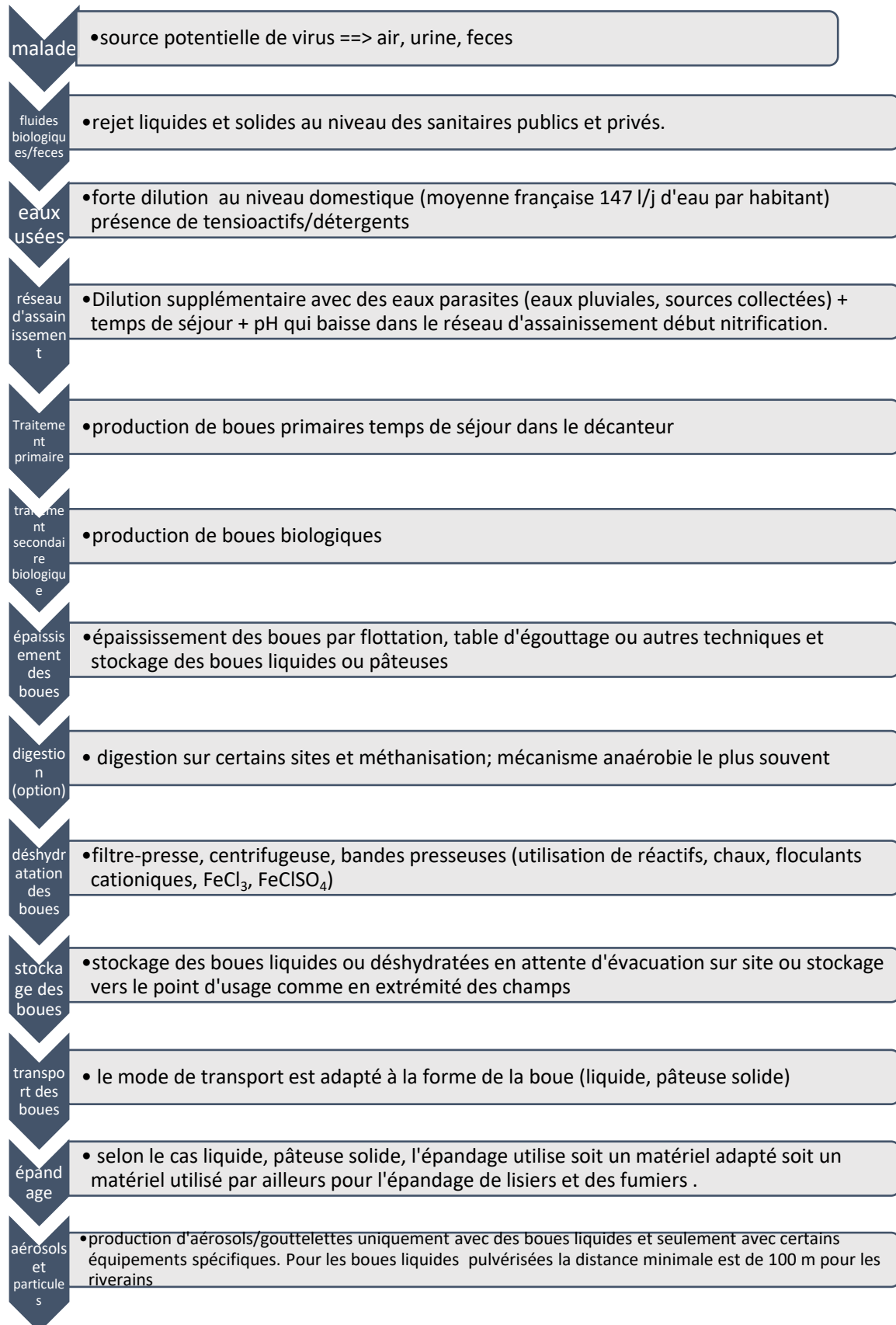


Figure 4 : Présentation de la filière de traitement des boues de la station Seine Valenton [13]



**Figure 5:** Etapes du processus de traitement des eaux usées et des boues (Figure établie par le Groupe de travail)

## II.5. Risques liés à l'épandage des boues

L'essentiel de l'épandage se fait sous forme solide ou pâteuse et plus rarement sous forme liquide avec une suspension de solides dans de l'eau.

Les études relatives aux risques associés à l'épandage sont maintenant anciennes. La plus connue est celle de Caillaud [65]. Tanner *et al.* [66] de l'Université d'Arizona ont également travaillé sur le risque associé aux bioaérosols issus de l'épandage des boues. Ces documents ont été repris dans 2 études menées sous la direction de l'Ineris [67, 69].

La première étude [67] « Evaluation des risques sanitaires des filières d'épandage des boues de stations d'épuration. Base scientifique de l'évaluation des risques sanitaires relatifs aux agents pathogènes » aborde le problème des bioaérosols. On peut en effet y lire page 44 : « Forcier (2002) conclut que le risque lié aux bioaérosols est jugé relativement faible pour les travailleurs et extrêmement faible pour la population générale. Aucun *Staphylococcus aureus* n'a été détecté dans l'air lors de l'épandage de boues traitées par aérodispersion ni dans les échantillons témoins d'air ambiant (Rusin *et al.* 2003). »

Le rapport cite page 45 un travail de Brooks *et al.* [68] dans lequel il est dit qu'il existe un risque de voir certains procédés susceptibles de produire des bioaérosols avec des boues liquides, bioaérosols retrouvés jusqu'à 20 m de l'équipement pulvérisant les boues :

*« Quant aux boues liquides (2% MS) étudiées qui provenaient d'un seul site, elles étaient épandues par « spray tanker » ou par des techniques d'irrigation. Les résultats indiquent que pour les boues liquides épandues par spray tanker, les bactéries HPC sont retrouvées jusqu'à 20 m, leur concentration est proche de celle du niveau du bruit de fond ; les coliformes, E. coli et C. perfringens sont retrouvés jusqu'à 5 m.*

*Pour les boues liquides épandues par irrigation, les coliformes, C. perfringens et les coliphages sont retrouvés jusqu'à 40 m. Pour les « cakes » épandus par tonne à lisier, les coliformes et E. coli sont retrouvés jusqu'à 15 m pendant l'opération de chargement des boues, C. perfringens est retrouvé jusqu'à 28 m pendant l'opération de déchargement des boues. Pour les cakes épandus par « slinging », des norovirus sont retrouvés jusqu'à 5 m pendant l'opération de chargement ».*

Du second document de l'Ineris, "Public health risk assessment of sludge landspreading" [69] il ressort que, d'une manière générale, le risque, si risque il y a, apparaît essentiellement avec les poussières provenant :

- en premier du sol lorsque celui-ci est sec avec le départ d'un mélange de sol et de particules issues de boues séchées,
- de poussières issues de l'épandage de boues à forte siccité (boues issues de procédés produisant des boues à de fortes siccités ou toute forme de boues après un stockage longue durée ou un séchage ou boues compostées)

Des publications plus récentes [70-71] confirment les résultats des travaux coordonnés par l'Ineris. Comme cela est rappelé, l'épandage est réglementé [72].

*« Suivant les types de déjection, les conditions d'épandage, les distances et les délais d'enfouissement ne seront pas les mêmes. Il est interdit d'épandre sur certains types de sols :*

- *s'ils sont non cultivés ;*
- *sur les légumineuses, sauf exceptions ;*
- *sur les terrains en forte pente ;*
- *sur les terrains qui gèlent fortement (sauf pour les fumiers et composts) ;*
- *sur les terrains enneigés, inondés ou détremés.*

*Les distances sont réglementées en fonction des constructions aux alentours et des éléments naturels ainsi que de la nature du lisier et effluents. Suivant les types de déjections utilisées, voici*


les distances minimales à respecter pour les habitations, les locaux utilisés régulièrement, les complexes sportifs et terrains de camping :

- lisier avec dispositif permettant l'injection directe dans le sol : distance minimale de 15 m. Le délai d'enfouissement est donc immédiat.
- lisier avec dispositif pendillard, c'est-à-dire un épandage près du sol : distance minimale de 50 m. Le délai d'enfouissement est de 12 h.
- autre cas (purins, fientes, etc.) : distance minimale de 100 m. Le délai d'enfouissement est de 12 h à 24 h.

Les distances à respecter pour les éléments naturels :

- les berges et cours d'eau : en général 35 m. Il faut épandre à 100 m en cas de boues urbaines et effluents industriels
- les lieux de baignade : 200 m.
- les voies publiques de communication : il ne faut pas que les dépôts gênent la visibilité des carrefours et les épandages doivent être pratiqués afin d'éviter les ruissellements sur les routes. Distance minimale autorisée : 5 m. »

Le stockage et l'épandage des boues ont fait l'objet d'un document didactique (Figure 6) et visuel « Epandage et stockage des effluents organiques en Nord-Pas-de-Calais » [73].



**Boues d'épuration urbaines et effluents industriels soumis à plan d'épandage**

Type d'effluent	Distance (délais d'enfouissement sur sol nu)
Boues urbaines liquides ou déshydratées non stabilisées	100 m (48h)
Boues urbaines déshydratées et stabilisées (ex : boues chaulées)	100 m Pas de distances (enfouissement immédiat)
Boues urbaines hygiénisées (ex : boues séchées thermiquement)	Pas de distances
Effluents industriels	100 m si effluent odorant 50 m autres cas Les effluents solides ou pâteux non stabilisés sont à enfouir dans un délai max de 48h. Les délais d'enfouissement peuvent être fixés par l'arrêté d'autorisation de l'industriel

Figure 6 : Distances d'épandage vis-à-vis des habitations tiers [73]

Le ministère chargé de l'agriculture [74] a par ailleurs prévu, pour se mettre en conformité avec le plan national de réduction des émissions de polluants atmosphériques (PREPA) [75], au titre de la loi sur la transition énergétique (LTE) la suppression de l'épandage des boues liquides et des systèmes d'épandages émissifs comme les buses à palette. La suppression de l'épandage de boues liquides entrainerait la disparition des bioaérosols associés à l'épandage.

Il ressort des divers documents que l'épandage peut générer :

- des bioaérosols en quantité limitée lors d'un épandage de boues liquides avec des procédés pulvérisant les boues ;
- des poussières (en provenance directe de l'installation d'épandage ou du sol).

Ce risque est pris en compte dans les pratiques liées à l'épandage.

**En conclusion, en admettant que du virus infectieux puisse encore être présent dans les eaux usées, hypothèse fort improbable (voir partie ci-dessus) [36], l'épandage des boues sur le sol entraîne une dilution supplémentaire des agents infectieux potentiels.** Une aérosolisation de ces boues est possible en admettant que des personnes passant à proximité puissent être exposées à des aérosols (quantité limitée du fait des procédés d'épandage et des distances à respecter). Mais la littérature est solide pour montrer que le risque de contamination en extérieur, y compris dans l'air à proximité de lieux à forte densité virale (hôpitaux) est faible voire nul [76]. Une étude italienne a ainsi montré que, si ce risque de contamination existait, il faudrait qu'un individu soit exposé au moins 31 jours durant à des aérosols extérieurs d'une ville dans laquelle 25% de la population serait infectée et excréteraient des particules virales dans leurs sécrétions respiratoires [77]. D'autres auteurs ont réalisé des contrôles virologiques de l'air adjacent à des bâtiments d'élevage de visons dans lesquels sévissait une épidémie. Ces prélèvements étaient négatifs ou à un seuil trop faible pour représenter un risque contagieux dès 1,50m de la porte d'entrée du bâtiment, même quand celle-ci est ouverte [78]. Dinoi *et al.* (2022) [76] ont publié une revue systématique de la littérature sur le sujet. Les auteurs ont montré que la majorité des études (62,5%) ayant recherché du génome viral dans l'air en extérieur avait des résultats négatifs. Dans les études dans lesquelles des tests étaient positifs, les résultats retrouvaient des concentrations de génome viral excessivement faibles (< 10 copies/m<sup>3</sup>), n'exposant pas à un risque infectieux [76].

### III. Conclusions

Les données scientifiques actualisées montrent que :

- le virus SARS-CoV-2 est un virus fragile et progressivement dégradé dans les eaux usées ;
- la contamination humaine dans le milieu extérieur est exceptionnelle ;
- le virus infectieux est très rarement présent dans les matières fécales et les eaux usées ;
- il n'y a pas d'arguments épidémiologiques d'une infection Covid-19 à partir d'une exposition aux eaux usées ;
- les procédés techniques et les temps de traitements dans les stations d'épuration conduisent à l'inactivation des virus ;
- l'épandage des boues liquides n'entraîne pas d'aérosolisation significative pour les travailleurs et la population générale ;
- il n'existe aucune restriction liée au Covid-19 sur la valorisation des boues en agriculture dans les autres pays européens.

Bien qu'il n'y ait pas, à ce jour, de méthode formelle d'isolement du virus SARS-CoV-2 dans les milieux environnementaux, les données épidémiologiques, virologiques et techniques, fondées sur une actualisation des données scientifiques, ne vont pas dans le sens d'un maintien d'une éventuelle viabilité du virus SARS-CoV-2 dans les boues de stations d'épuration des eaux usées urbaines (ou des effluents mixtes urbains et industriels), sur la base des connaissances disponibles à la date de cet avis.

## Recommandations

Le HCSP recommande :

- de reconsidérer les traitements complémentaires d'hygiénisation des boues des stations d'épuration des eaux usées liés au SARS-CoV-2 et de pas maintenir les mesures restrictives d'épandage des boues, actuellement en vigueur ;
- de poursuivre le développement de méthodes d'analyse virale (méthodes d'isolement du virus et de viabilité) dans les milieux complexes ;
- de poursuivre les réflexions et les travaux sur l'évolution de la réglementation relative aux risques sanitaires et environnementaux liés à l'épandage des boues des stations d'épuration.

La Commission spécialisée risques liés à l'environnement a tenu sa réunion le 21 octobre 2022: sur 23 personnalités qualifiées 17 ont participé au vote : 0 conflit d'intérêt, vote pour : 17, abstention : 0, contre : 0

## Références :

- [1] AVIS de l'Anses relatif à une demande en urgence d'appui scientifique et technique sur les risques éventuels liés à l'épandage de boues d'épuration urbaines durant l'épidémie de COVID-19. (2020). <https://www.anses.fr/fr/content/avis-de-lanses-relatif-%C3%A0-une-demande-en-urgence-dappui-scientifique-et-technique-sur-les>
- [2] Instruction ministérielle du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues de STEU dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise Covid-19, (2020). <https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/circulaire%20boues.pdf>
- [3] Note d'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relative aux risques liés à l'épandage de boues d'épuration industrielles durant l'épidémie de Covid-19 en date du 17 avril 2020
- [4] Instruction STEP industrielles DGPR 23 avril 2020, (2020).
- [5] Arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19, (2020).
- [6] Lardy-Fontan, S., & Guigues, N. (2020). Abattement des bactériophages dans les boues de stations de traitement des eaux usées. 50.
- [7] AVIS et RAPPORT AST de l'Anses sur le projet d'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage de boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la crise de Covid-19. (2021). <https://www.anses.fr/fr/content/avis-et-rapport-ast-de-lanses-sur-le-projet-darr%C3%AAt%C3%A9-du-30-avril-2020-pr%C3%A9cisant-les-modalit%C3%A9s>
- [8] Questions relatives à l'application de la circulaire du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise de covid-19. (2021).
- [9] Foire aux questions complémentaire relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) suite à la publication de l'arrêté du 20 avril 2021 modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19. (2021).
- [10] Robinson, C. A., Hsieh, H.-Y., Hsu, S.-Y., Wang, Y., Salcedo, B. T., Belenchia, A., Klutts, J., Zemmer, S., Reynolds, M., Semkiw, E., Foley, T., Wan, X., Wieberg, C. G., Wenzel, J., Lin, C.-H., & Johnson, M. C. (2022). *Defining biological and biophysical properties of SARS-CoV-2 genetic material in wastewater*. *The Science of the Total Environment*, 807(Pt 1), 150786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150786>
- [11] Synthèse de l'étude de parangonnage réalisée en avril 2022 de 7 pays européens (Italie, Espagne, Portugal, Suède, Royaume-Uni, Pologne et Allemagne). (2022).
- [12] Lopez Viveros M., Azimi S., Pichon E., Roose-Amsaleg C., Bize A., Durandet F., Rocher V. (2022), *Wild type and variants of SARS-COV-2 in Parisian sewage: presence in raw water and through processes in wastewater treatment plants* - *Environmental Science and Pollution Research*, DOI : 10.1007/s11356-022-22665-x, published on line 27 August 2022
- [13] Montier O., Lopez-Viveros M., Le Tallec X., F. Belhadj-Kaabi F., Lazuka A. , Lacroix S., Tournié M., Soyeux E., Azimi S., Rocher V. (2021) - *Comportement de l'ARN du SARS-CoV-2 au sein des filières de traitement eaux et boues du site Seine Valenton – Siaap-Sival - Sars-CoV-2 RNA behavior in water and sludge treatment process in Seine Valenton WWTP Siaap-Sival*, TSM Spécial Covid-19 - 2021 | 43.

- [14] Serra-Compte A., Gonzalez S., Arnaldos M., Berlendis S., Courtois S., Loret J.F., Schlosser O., Yanez A.M., Soria-Soria E., Fittipaldi M., Saucedo G., Pinar-Mendez A., Paraira M., Galofre B., Lema J.M., Balboa S., Mauricio-Iglesias M., Bosch A., Pinto R.M., Bertrand I., Gantzer C., Montero C., Litrico X. (2021), *Elimination of SARS-CoV-2 along wastewater and sludge treatment processes*, *Water Research* 202 (2021) 117435
- [15] Varbanov, M., Bertrand, I., Philippot, S., Retourney, C., Gardette, M., Hartard, C., Jeulin, H., Duval, R. E., Loret, J.-F., Schvoerer, E., & Gantzer, C. (2021). *Somatic coliphages are conservative indicators of SARS-CoV-2 inactivation during heat and alkaline pH treatments*. *Science of The Total Environment*, 797, 149112. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149112>
- [16] Haut Conseil de la santé publique. Rapport du 23 juillet 2020 relatif à l'actualisation de la prise en charge des patients atteints de Covid-19 [Internet]. Disponible sur : <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/AvisRapportsDomaine?clefr=899>
- [17] Rando, H. M., MacLean, A. L., Lee, A. J., Lordan, R., Ray, S., Bansal, V., Skelly, A. N., Sell, E., Dziak, J. J., Shinholster, L., D'Agostino McGowan, L., Ben Guebila, M., Wellhausen, N., Knyazev, S., Boca, S. M., Capone, S., Qi, Y., Park, Y., Mai, D., ... Greene, C. S. (2021). *Pathogenesis, Symptomatology, and Transmission of SARS-CoV-2 through Analysis of Viral Genomics and Structure*. *MSystems*, 6(5), e0009521. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00095-21>
- [18] Sethuraman, N., Jeremiah, S. S., & Ryo, A. (2020). *Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2*. *JAMA*, 323(22), 2249-2251. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
- [19] Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., Yin, H., Xiao, Q., Tang, Y., Qu, X., Kuang, L., Fang, X., Mishra, N., Lu, J., Shan, H., Jiang, G., & Huang, X. (2020). *Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples*. *The Lancet. Gastroenterology & Hepatology*, 5(5), 434-435. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)
- [20] Moreira, L. V. L., de Souza Luna, L. K., Barbosa, G. R., Perosa, A. H., Chaves, A. P. C., Conte, D. D., Carvalho, J. M. A., & Bellei, N. (2021). *Test on stool samples improves the diagnosis of hospitalized patients: Detection of SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNA*. *The Journal of Infection*, 82(5), 186-230. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.11.034>
- [21] Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Liu, Y., Li, X., & Shan, H. (2020). *Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2*. *Gastroenterology*, 158(6), 1831-1833.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>
- [22] Heneghan, C. J., Spencer, E. A., Brassey, J., Plüddemann, A., Onakpoya, I. J., Evans, D. H., Conly, J. M., & Jefferson, T. (2021). *SARS-CoV-2 and the role of orofecal transmission: A systematic review*. *F1000Research*, 10, 231. <https://doi.org/10.12688/f1000research.51592.2>
- [23] Zhang, N., Gong, Y., Meng, F., Shi, Y., Wang, J., Mao, P., Chuai, X., Bi, Y., Yang, P., & Wang, F. (2021). *Comparative study on virus shedding patterns in nasopharyngeal and fecal specimens of COVID-19 patients*. *Science China. Life Sciences*, 64(3), 486-488. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1783-9>
- [24] Bivins, A., North, D., Ahmad, A., Ahmed, W., Alm, E., Been, F., Bhattacharya, P., Bijlsma, L., Boehm, A. B., Brown, J., Buttiglieri, G., Calabro, V., Carducci, A., Castiglioni, S., Cetecioglu Gurol, Z., Chakraborty, S., Costa, F., Curcio, S., de Los Reyes, F. L., Bibby, K. (2020). *Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight Against COVID-19*. *Environmental Science & Technology*, 54(13), 7754-7757. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02388>
- [25] Schang, C., Crosbie, N. D., Nolan, M., Poon, R., Wang, M., Jex, A., John, N., Baker, L., Scales, P., Schmidt, J., Thorley, B. R., Hill, K., Zamyadi, A., Tseng, C.-W., Henry, R., Kolotelo, P., Langeveld, J., Schilperoort, R., Shi, B., ... McCarthy, D. T. (2021). *Passive Sampling of SARS-*

- CoV-2 for Wastewater Surveillance. *Environmental Science & Technology*, 55(15), 10432-10441. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c01530>
- [26] Mackuľak, T., Gál, M., Špalková, V., Fehér, M., Briestenská, K., Mikušová, M., Tomčíková, K., Tamáš, M., & Butor Škulcová, A. (2021). *Wastewater-Based Epidemiology as an Early Warning System for the Spreading of SARS-CoV-2 and Its Mutations in the Population*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5629. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115629>
- [27] Jeong, H. W., Kim, S.-M., Kim, H.-S., Kim, Y.-I., Kim, J. H., Cho, J. Y., Kim, S., Kang, H., Kim, S.-G., Park, S.-J., Kim, E.-H., & Choi, Y. K. (2020). *Viable SARS-CoV-2 in various specimens from COVID-19 patients*. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(11), 1520-1524. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.07.020>
- [28] Kim, J.-M., Kim, H. M., Lee, E. J., Jo, H. J., Yoon, Y., Lee, N.-J., Son, J., Lee, Y.-J., Kim, M. S., Lee, Y.-P., Chae, S.-J., Park, K. R., Cho, S.-R., Park, S., Kim, S. J., Wang, E., Woo, S., Lim, A., Park, S.-J., ... Yoo, C. K. (2020). *Detection and Isolation of SARS-CoV-2 in Serum, Urine, and Stool Specimens of COVID-19 Patients from the Republic of Korea*. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 11(3), 112-117. <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2020.11.3.02>
- [29] Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., & Tan, W. (2020). *Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens*. *JAMA*, 323(18), 1843-1844. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>
- [30] Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., & Wendtner, C. (2020). *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019*. *Nature*, 581(7809), 465-469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
- [31] Zhang, Y., Chen, C., Zhu, S., Shu, C., Wang, D., Song, J., Song, Y., Zhen, W., Feng, Z., Wu, G., Xu, J., & Xu, W. (2020). *Isolation of 2019-nCoV from a Stool Specimen of a Laboratory-Confirmed Case of the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. *China CDC Weekly*, 2(8), 123-124.
- [32] Albert, S., Ruíz, A., Pemán, J., Salavert, M., & Domingo-Calap, P. (2021). *Lack of evidence for infectious SARS-CoV-2 in feces and sewage*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40(12), 2665-2667. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04304-4>
- [33] Cerrada-Romero, C., Berastegui-Cabrera, J., Camacho-Martínez, P., Goikoetxea-Aguirre, J., Pérez-Palacios, P., Santibáñez, S., José Blanco-Vidal, M., Valiente, A., Alba, J., Rodríguez-Álvarez, R., Pascual, Á., Oteo, J. A., Miguel Cisneros, J., Pachón, J., Casas-Flecha, I., Cordero, E., Pozo, F., & Sánchez-Céspedes, J. (2022). *Excretion and viability of SARS-CoV-2 in feces and its association with the clinical outcome of COVID-19*. *Scientific Reports*, 12(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11439-7>
- [34] Dergham, J., Delerce, J., Bedotto, M., La Scola, B., & Moal, V. (2021). *Isolation of Viable SARS-CoV-2 Virus from Feces of an Immunocompromised Patient Suggesting a Possible Fecal Mode of Transmission*. *Journal of Clinical Medicine*, 10(12), 2696. <https://doi.org/10.3390/jcm10122696>
- [35] Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, et al. *Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore* [published correction appears in *JAMA*. 2020 Apr 21;323(15):1510]. *JAMA*. 2020;323(15):1488-1494. doi:10.1001/jama.2020.3204
- [36] Wurtzer, S., Lacote, S., Murri, S., Marianneau, P., Monchatre-Leroy, E., Boni, M., Ferraris, O., Maday, Y., Kébé, O., Dia, N., Peyrefitte, C., Sokol, H., OBEPINE Consortium, Moulin, L., &

- Maréchal, V. (2022). *Reduction in SARS-CoV-2 Virus Infectivity in Human and Hamster Feces*. *Viruses*, 14(8), 1777. <https://doi.org/10.3390/v14081777>
- [37] Qian, Q., Fan, L., Liu, W., Li, J., Yue, J., Wang, M., Ke, X., Yin, Y., Chen, Q., & Jiang, C. (2021). *Direct Evidence of Active SARS-CoV-2 Replication in the Intestine*. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 73(3), 361-366. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa925>
- [38] Xiao, F., Sun, J., Xu, Y., Li, F., Huang, X., Li, H., Zhao, J., Huang, J., & Zhao, J. (2020). *Infectious SARS-CoV-2 in Feces of Patient with Severe COVID-19*. *Emerging Infectious Diseases*, 26(8), 1920-1922. <https://doi.org/10.3201/eid2608.200681>
- [39] Zang, R., Gomez Castro, M. F., McCune, B. T., Zeng, Q., Rothlauf, P. W., Sonnek, N. M., Liu, Z., Brulois, K. F., Wang, X., Greenberg, H. B., Diamond, M. S., Ciorba, M. A., Whelan, S. P. J., & Ding, S. (2020). *TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes*. *Science Immunology*, 5(47), eabc3582. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abc3582>
- [40] Cherne, M. D., Gentry, A. B., Nemudraia, A., Nemudryi, A., Hedges, J. F., Walk, H., Blackwell, K., Snyder, D. T., Jerome, M., Madden, W., Hashimi, M., Sebrell, T. A., King, D. B., Plowright, R. K., Jutila, M. A., Wiedenheft, B., & Bimczok, D. (2022). *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Is Detected in the Gastrointestinal Tract of Asymptomatic Endoscopy Patients but Is Unlikely to Pose a Significant Risk to Healthcare Personnel*. *Gastro Hep Advances*, 1(5), 844-852. <https://doi.org/10.1016/j.gastha.2022.06.002>
- [41] Sobsey, M. D. (2021). *Absence of virological and epidemiological evidence that SARS-CoV-2 poses COVID-19 risks from environmental fecal waste, wastewater and water exposures*. *Journal of Water and Health*, 20(1), 126-138. <https://doi.org/10.2166/wh.2021.182>
- [42] Bivins, A., Greaves, J., Fischer, R., Yinda, K. C., Ahmed, W., Kitajima, M., Munster, V. J., & Bibby, K. (2020). *Persistence of SARS-CoV-2 in Water and Wastewater*. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(12), 937-942. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00730>
- [43] Wurtzer, S., Waldman, P., Ferrier-Rembert, A., Frenois-Veyrat, G., Mouchel, J. M., Boni, M., Maday, Y., Marechal, V., & Moulin, L. (2021). *Several forms of SARS-CoV-2 RNA can be detected in wastewaters: Implication for wastewater-based epidemiology and risk assessment*. *Water Research*, 198, 117183. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117183>
- [44] Bonanno Ferraro, G., Veneri, C., Mancini, P., Iaconelli, M., Suffredini, E., Bonadonna, L., Lucentini, L., Bowo-Ngandji, A., Kengne-Nde, C., Mbagha, D. S., Mahamat, G., Tazokong, H. R., Ebogo-Belobo, J. T., Njouom, R., Kenmoe, S., & La Rosa, G. (2021). *A State-of-the-Art Scoping Review on SARS-CoV-2 in Sewage Focusing on the Potential of Wastewater Surveillance for the Monitoring of the COVID-19 Pandemic*. *Food and Environmental Virology*. <https://doi.org/10.1007/s12560-021-09498-6>
- [45] Foladori, P., Cutrupi, F., Cadonna, M., & Manara, S. (2022). *Coronaviruses and SARS-CoV-2 in sewerage and their removal: Step by step in wastewater treatment plants*. *Environmental Research*, 207, 112204. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112204>
- [46] Paital, B., Das, K., Malekdar, F., Sandoval, M. A., Niaragh, E. K., Frontistis, Z., Behera, T. R., Balacco, G., Sangkham, S., Hati, A., & Mousazadeh, M. (2022). *A State-of-the-Art Review on SARS-CoV-2 Virus Removal Using Different Wastewater Treatment Strategies*. *Environments*, 9(9), 110. <https://doi.org/10.3390/environments9090110>
- [47] Gholipour, S., Ghalhari, M. R., Nikaeen, M., Rabbani, D., Pakzad, P., & Miranzadeh, M. B. (2022). *Occurrence of viruses in sewage sludge : A systematic review*. *Science of The Total Environment*, 824, 153886. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153886>

- [48] Döhla, M., Schulte, B., Wilbring, G., Kümmerer, B. M., Döhla, C., Sib, E., Richter, E., Ottensmeyer, P. F., Haag, A., Engelhart, S., Eis-Hübinger, A. M., Exner, M., Mutters, N. T., Schmithausen, R. M., & Streeck, H. (2022). *SARS-CoV-2 in Environmental Samples of Quarantined Households*. *Viruses*, 14(5), 1075. <https://doi.org/10.3390/v14051075>
- [49] Wang, J., Feng, H., Zhang, S., Ni, Z., Ni, L., Chen, Y., Zhuo, L., Zhong, Z., & Qu, T. (2020). *SARS-CoV-2 RNA detection of hospital isolation wards hygiene monitoring during the Coronavirus Disease 2019 outbreak in a Chinese hospital*. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 94, 103-106. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.024>
- [50] Rimoldi, S. G., Stefani, F., Gigantiello, A., Polesello, S., Comandatore, F., Mileto, D., Maresca, M., Longobardi, C., Mancon, A., Romeri, F., Pagani, C., Cappelli, F., Roscioli, C., Moja, L., Gismondo, M. R., & Salerno, F. (2020). *Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers*. *Science of The Total Environment*, 744, 140911. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140911>
- [51] Brahim Belhaouari, D., Wurtz, N., Grimaldier, C., Lacoste, A., Pires de Souza, G. A., Penant, G., Hannat, S., Baudoin, J.-P., & La Scola, B. (2021). *Microscopic Observation of SARS-Like Particles in RT-qPCR SARS-CoV-2 Positive Sewage Samples*. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(5), 516. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050516>
- [52] Westhaus, S., Weber, F.-A., Schiwiy, S., Linnemann, V., Brinkmann, M., Widera, M., Greve, C., Janke, A., Hollert, H., Wintgens, T., & Ciesek, S. (2021). *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*, 751, 141750. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141750>
- [53] Barbosa, M. R. F., Garcia, S. C., Bruni, A. de C., Machado, F. S., de Oliveira, R. X., Dropa, M., da Costa, A. C., Leal, E., Brandão, C. J., da Silva, R. L. O., Iko, B. Y., Kondo, V. K. M., de Araújo, R. S., da Silveira, V. B., de Andrade, T. M., Nunes, D. R., Janini, L. M. R., Braconi, C. T., Maricato, J. T., & Sato, M. I. Z. (2022). *One-year surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater from vulnerable urban communities in metropolitan São Paulo, Brazil*. *Journal of Water and Health*, 20(2), 471-490. <https://doi.org/10.2166/wh.2022.210>
- [54] Giacobbo, A., Rodrigues, M. A. S., Zoppas Ferreira, J., Bernardes, A. M., & de Pinho, M. N. (2021). *A critical review on SARS-CoV-2 infectivity in water and wastewater. What do we know?* *Science of The Total Environment*, 774, 145721. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145721>
- [55] de Oliveira, L. C., Torres-Franco, A. F., Lopes, B. C., Santos, B. S. Á. da S., Costa, E. A., Costa, M. S., Reis, M. T. P., Melo, M. C., Polizzi, R. B., Teixeira, M. M., & Mota, C. R. (2021). *Viability of SARS-CoV-2 in river water and wastewater at different temperatures and solids content*. *Water Research*, 195, 117002. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117002>
- [56] Sala-Comorera, L., Reynolds, L. J., Martin, N. A., O'Sullivan, J. J., Meijer, W. G., & Fletcher, N. F. (2021). *Decay of infectious SARS-CoV-2 and surrogates in aquatic environments*. *Water Research*, 201, 117090. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117090>
- [57] Kang, M., Wei, J., Yuan, J., Guo, J., Zhang, Y., Hang, J., Qu, Y., Qian, H., Zhuang, Y., Chen, X., Peng, X., Shi, T., Wang, J., Wu, J., Song, T., He, J., Li, Y., & Zhong, N. (2020). *Probable Evidence of Fecal Aerosol Transmission of SARS-CoV-2 in a High-Rise Building*. *Annals of Internal Medicine*, 173(12), 974-980. <https://doi.org/10.7326/M20-0928>
- [58] Yu, I. T. S., Li, Y., Wong, T. W., Tam, W., Chan, A. T., Lee, J. H. W., Leung, D. Y. C., & Ho, T. (2004). *Evidence of airborne transmission of the severe acute respiratory syndrome virus*. *The New England Journal of Medicine*, 350(17), 1731-1739. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032867>
- [59] Brisolaro, K. F., Maal-Bared, R., Sobsey, M. D., Reimers, R. S., Rubin, A., Bastian, R. K., Gerba, C., Smith, J. E., Bibby, K., Kester, G., & Brown, S. (2021). *Assessing and managing*

- SARS-CoV-2 occupational health risk to workers handling residuals and biosolids. *The Science of the Total Environment*, 774, 145732. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145732>
- [60] Dada, A. C., & Gyawali, P. (2021). *Quantitative microbial risk assessment (QMRA) of occupational exposure to SARS-CoV-2 in wastewater treatment plants*. *The Science of the Total Environment*, 763, 142989. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142989>
- [61] Zaneti, R. N., Girardi, V., Spilki, F. R., Mena, K., Westphalen, A. P. C., da Costa Colares, E. R., Pozzebon, A. G., & Etchepare, R. G. (2021). *Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants*. *The Science of the Total Environment*, 754, 142163. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142163>
- [62] World Health Organization, & Fund (UNICEF), U. N. C. (2020). *Water, sanitation, hygiene, and waste management for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19 : Interim guidance, 29 July 2020 (WHO/2019-nCoV/IPC\_WASH/2020.4)*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/333560>
- [63] Water Environment Federation. (2021). <https://wef.org/news-hub/current-priorities/coronavirus/>
- [64] Degrémont SA (Éd.). (2005). *Mémento technique de l'eau* (10e éd). Degrémont-Suez diff. Lavoisier.
- [65] Caillaud, D. (2002). Les maladies respiratoires professionnelles en milieu rural. In 8ème Congrès National de la Société Française d'Aérobiologie « Aérobiologie et milieu rural : Risques sanitaires et prévention ».
- [66] Tanner, B. D., Brooks, J. P., Haas, C. N., Gerba, C. P., & Pepper, I. L. (2005). *Bioaerosol emission rate and plume characteristics during land application of liquid class B biosolids*. *Environmental Science & Technology*, 39(6), 1584-1590. <https://doi.org/10.1021/es0404466>
- [67] Base scientifique de l'évaluation des risques sanitaires relatifs aux agents pathogènes (Convention ADEME : Evaluation des risques sanitaires des filières d'épandage des boues de stations d'épuration) | Ineris. <https://www.ineris.fr/fr/base-scientifique-evaluation-risques-sanitaires-relatifs-agents-pathogenes-convention-ademe>
- [68] Brooks, J. P., Tanner, B. D., Josephson, K. L., Gerba, C. P., Haas, C. N., & Pepper, I. L. (2005). *A national study on the residential impact of biological aerosols from the land application of biosolids*. *Journal of Applied Microbiology*, 99(2), 310-322. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02604.x>
- [69] Public health risk assessment of sludge landspreading | Ineris. <https://www.ineris.fr/fr/public-health-risk-assessment-sludge-landspreading>
- [70] Ciuraru, R., Kammer, J., Decuq, C., Vojkovic, M., Haider, K., Carpentier, Y., Lafouge, F., Berger, C., Bourdat-Deschamps, M., Ortega, I. K., Levavasseur, F., Houot, S., Loubet, B., Petitprez, D., & Focsa, C. (2021). *New particle formation from agricultural recycling of organic waste products*. *Npj Climate and Atmospheric Science*, 4(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41612-021-00160-3>
- [71] Vantarakis, A., Pappadopoulos, S., Kokkinos, P., Vantarakis, G., Fragou, K., & Detorakis, I. (2016). *Impact on the Quality of Life When Living Close to a Municipal Wastewater Treatment Plant*. *Journal of Environmental and Public Health*, 2016, 8467023. <https://doi.org/10.1155/2016/8467023>
- [72] Epandage de lisier près des habitations : Réglementation et normes. (2016, mars 22). BO Agrizone. <https://www.agrizone.net/blog/epandage-de-lisier-pres-des-habitations-reglementation-et-normes>

- [73] Chambre d'agriculture Nord-Pas de Calais. (2019, janvier). *Épandage et stockage des effluents organiques en Nord-Pas de Calais*. <https://www.pas-de-calais.gouv.fr/content/download/54276/318874/file/Distance%20%C3%A9pandage%20mat%20organiques.pdf>
- [74] Épandage : Un plan d'actions ministériel pour supprimer l'utilisation des matériels les plus émissifs à horizon 2025. (2021, mars 31). Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire. <https://agriculture.gouv.fr/epandage-un-plan-dactions-ministeriel-pour-supprimer-lutilisation-des-materiels-les-plus-emissifs>
- [75] Décret n° 2017-949 du 10 mai 2017 fixant les objectifs nationaux de réduction des émissions de certains polluants atmosphériques en application de l'article L. 222-9 du code de l'environnement, 2017-949 (2017).
- [76] Dinoi, A., Feltracco, M., Chirizzi, D., Trabucco, S., Conte, M., Gregoris, E., Barbaro, E., La Bella, G., Ciccicarese, G., Belosi, F., La Salandra, G., Gambaro, A., & Contini, D. (2022). *A review on measurements of SARS-CoV-2 genetic material in air in outdoor and indoor environments : Implication for airborne transmission*. *The Science of the Total Environment*, 809, 151137. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151137>
- [77] Belosi, F., Conte, M., Gianelle, V., Santachiara, G., & Contini, D. (2021). *On the concentration of SARS-CoV-2 in outdoor air and the interaction with pre-existing atmospheric particles*. *Environmental Research*, 193, 110603. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110603>
- [78] de Rooij, M. M. T., Hakze-Van der Honing, R. W., Hulst, M. M., Harders, F., Engelsma, M., van de Hoef, W., Meliefste, K., Nieuwenweg, S., Oude Munnink, B. B., van Schothorst, I., Sikkema, R. S., van der Spek, A. N., Spierenburg, M., Spithoven, J., Bouwstra, R., Molenaar, R.-J., Koopmans, M., Stegeman, A., van der Poel, W. H. M., & Smit, L. A. M. (2021). *Occupational and environmental exposure to SARS-CoV-2 in and around infected mink farms*. *Occupational and Environmental Medicine*, 78(12), 893-899. <https://doi.org/10.1136/oemed-2021-107443>

## Annexe 1 : Saisine du 26 juillet 2022



### GOVERNEMENT

Liberté  
Égalité  
Fraternité

Ministère de la Transition Ecologique et de la Cohésion  
des territoires

Direction générale de l'aménagement, du logement et de la  
nature,  
Direction générale de la prévention des risques

Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté  
alimentaire

Direction générale de la performance économique et  
environnementale des entreprises  
Direction générale de l'alimentation

Ministère de la Santé et de la Prévention

Direction générale de la santé

Paris, le

La Directrice générale de l'aménagement, du  
logement et de la nature  
Le Directeur général de la prévention des risques  
Le Directeur général de la santé  
La Directrice générale de l'alimentation

A

Monsieur le Président du Haut Conseil de la Santé  
Publique

**OBJET** : Demande d'avis du Haut Conseil de la santé publique au sujet des traitements appliqués aux boues  
de stations d'épuration en période de Covid-19.

#### Contexte

Depuis le début de l'épidémie de COVID-19, plusieurs études ont mis en évidence la présence d'ARN viral du SARS-COV 2 dans les eaux usées. Cela a conduit l'État à interroger l'ANSES sur les risques de propagation du virus via l'épandage des boues d'épuration urbaines et industrielles « mixtes »<sup>1</sup> sur les sols agricoles et les éventuelles mesures à prendre pour limiter ce risque. L'ANSES a rendu son avis le 27 mars 2020. Sur la base de ses recommandations, l'État a conditionné, via l'arrêté du 30 avril 2020, l'épandage de boues à leur hygiénisation préalable. En parallèle de cet arrêté, la DGPR a pris le 23 avril 2020 une instruction pour encadrer l'épandage des boues de stations d'épuration industrielles traitant des eaux-vannes<sup>2</sup>, contenant des dispositions similaires à celles de l'arrêté, mais adaptées aux enjeux posés par ces boues<sup>3</sup>. Les dispositions de l'arrêté et de l'instruction concernent toutes les boues extraites après la date d'entrée en zone d'exposition à risque pour le COVID-19. Cette date correspond au moment où le taux d'incidence dans le département a dépassé le seuil de 10 pour 100.000 habitants.

<sup>1</sup> Stations d'épuration industrielles traitant également des effluents urbains dans une proportion supérieure à 1%

<sup>2</sup> Station d'épuration industrielle ne recueillant pas d'effluents urbains mais traitant les eaux vannes issues des sanitaires du site, en très faible proportion

<sup>3</sup> Se référer aux dispositions de l'instruction en annexe

Tour Séquoia – 92055 Paris La Défense cedex – Tél. 01 40 81 21 22 – [www.ecologie.gouv.fr](http://www.ecologie.gouv.fr)  
14 avenue Duquesne – 75350 Paris 07 SP - Tél. 01 40 56 60 00 - [www.social-sante.gouv.fr](http://www.social-sante.gouv.fr)  
3 rue Barbet de Jouy – 75349 Paris 07 SP – Tél. 01 49.55.46.50 – [www.agriculture.gouv.fr](http://www.agriculture.gouv.fr)

Le traitement de vos données est nécessaire à la gestion de votre demande et entre dans le cadre des missions confiées aux ministères sociaux.  
Conformément au règlement général sur la protection des données (RGPD), vous pouvez exercer vos droits à l'adresse [dcs-csod@sante.gouv.fr](mailto:dcs-csod@sante.gouv.fr) ou par voie postale.  
Pour en savoir plus : <https://solidarites-sante.gouv.fr/ministera/actualites/donnees-personnelles-et-cookies>

Ces nouvelles exigences ont conduit les collectivités et les industriels concernés à recourir à des solutions de traitement ou d'élimination alternatives à l'épandage des boues qui ne répondent pas aux critères de l'arrêté du 30 avril 2020 ou de l'instruction du 23 avril 2020 en vigueur. Malgré le dispositif exceptionnel d'aide financière mis en place par les agences de l'eau, ces nouvelles dispositions posent des difficultés aux collectivités et aux industriels du fait des dépenses imprévues et parfois élevées qu'elles occasionnent, en fonctionnement et/ou en investissement. Les solutions mises en œuvre par les collectivités et les industriels sont pour la plupart temporaires et consistent par exemple à mutualiser des équipements de traitement des boues ou de stockage.

Face à cette situation, et sur la base d'un nouvel avis sollicité auprès de l'ANSES fin 2020, l'arrêté du 30 avril 2020 relatif aux modalités d'épandage des boues en situation épidémique a été modifié afin d'ouvrir de nouvelles possibilités d'épandage (arrêté du 20 avril 2021). Ainsi, depuis mai 2021, il est notamment possible d'épandre des boues ayant fait l'objet d'un traitement par chaulage, séchage solaire ou digestion anaérobie, suivi d'une période de stockage minimale (sous réserve que le traitement ait montré son efficacité, en abattant d'au moins 4 log la concentration des boues en coliphages somatiques).

Concernant les boues industrielles contenant des eaux-vannes, les dispositions applicables sont inchangées depuis avril 2020 : celles-ci peuvent notamment être épandues si l'épandage se fait par des techniques limitant la formation d'aérosols et après une certaine durée de stockage.

A la demande des ministères en charge de la santé et de l'environnement, l'ANSES a également mis en place un laboratoire national de référence (LNR) chargé notamment de fiabiliser les données de surveillance du virus du SARS-Cov2 dans les eaux usées et les boues.

Malgré les nouvelles possibilités d'épandage ouvertes par l'arrêté du 20 avril 2021, les contraintes restent fortes notamment pour les collectivités rurales, à la fois sur les plans technique et financier.

**Aujourd'hui, selon les premiers résultats d'une enquête en cours auprès des services des préfets en charge de la police de l'eau, 40% des collectivités hygiéniseraient leurs boues conformément à l'arrêté du 30 avril 2020 afin de pouvoir les épandre, 20% utiliseraient les alternatives prévues par l'arrêté du 20 avril 2021 et 40% des collectivités n'auraient pas trouvé de solutions adaptées et seraient donc dans l'impossibilité d'épandre leurs boues.**

Par ailleurs, les difficultés à trouver un débouché pour les boues risquent d'impacter de plus en plus fortement, d'une part, le fonctionnement des stations d'épuration et donc d'avoir des conséquences sanitaires et environnementales potentiellement plus dommageables que l'épandage des boues qu'elles produisent et, d'autre part, les moyens financiers des collectivités pour l'exercice, dans de bonnes conditions, de leur compétence assainissement (réduction de la capacité d'investissement par exemple).

Enfin, un parangonnage réalisé par le réseau international des services économiques du ministère de l'économie, des finances et de la relance auprès de 7 pays européens (Italie, Espagne, Portugal, Suède, Royaume-Uni, Pologne et Allemagne) met en avant qu'aucun des pays consultés ne semble avoir pris de mesures spécifiques du fait de l'épidémie parce que les traitements requis avant épandage (notamment hygiénisation) permettent de prévenir un risque de propagation du virus (Portugal, Espagne...) et/ou parce que les Etats ont estimé qu'aucune preuve scientifique documentait clairement que le COVID-19 se transmettait par la voie fécale-orale et donc via les boues (seules des traces de matériel génétique apparaissent dans l'eau mais celles-ci ne présentent pas de capacité infectieuse) (Royaume Uni, Suède) ...

#### **Nos principales interrogations et attentes**

Dans ce contexte, nous sollicitons le HCSP afin de recueillir avant le 31 octobre 2022 son avis sur les points suivants :

- Les données scientifiques et techniques relatives à la présence et l'infectiosité du virus dans les eaux usées et les boues d'épuration sont-elles de nature à justifier le maintien des restrictions d'épandage des boues d'épuration actuellement en vigueur du fait de la pandémie de Covid 19 ? La réponse est-elle la même lorsque les boues proviennent d'une station d'épuration industrielle traitant des eaux-vannes en très faible proportion ?
- Si leur levée complète n'apparaît pas opportune au regard de ces informations, un allègement de ces mesures ou leur remplacement par d'autres dispositions moins contraignantes est-elle toutefois envisageable ? Ces dispositions pourraient par exemple porter sur les modalités

3

d'épandage des boues, en prévoyant que celles-ci soient enfouies rapidement une fois déposées sur le sol.

- Par ailleurs, s'il s'avérait que la présence du virus du SARS-Cov2 dans les boues présente un risque sanitaire, celui-ci pourrait-il être évalué au moyen d'un ou plusieurs indicateurs ?

Pour émettre son avis, le HCSP aura à sa disposition les avis de l'Anses, les résultats de l'étude de parangonnage ainsi que des éléments bibliographiques en annexe qu'il devra compléter.

Nos services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

**La directrice générale de l'aménagement, du logement et de la nature**

  
Stéphanie DUPUY-LYON

**La directrice générale de l'alimentation**

EMMANUELLE Signature numérique de  
SOUBEYRAN ID EMMANUELLE SOUBEYRAN ID  
Maud FAIPOUX Date : 2022.07.22 10:48:54 +02'00'

**Le directeur général de la prévention des risques**

Cédric BOURILLET Signature numérique de Cédric  
cedric.bourillet BOURILLET cedric.bourillet  
Cédric BOURILLET Date : 2022.07.22 18:19:18 +02'00'

**Le directeur général de la santé**

  
Jérôme SALOMON

**Annexes**

- Instruction DGPR du 23 avril 2020
- Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande en urgence d'appui scientifique et technique sur les risques éventuels liés à l'épandage de boues d'épuration urbaines durant l'épidémie de COVID-19 datant du 27 mars 2020
- Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage de boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la crise de COVID-19 datant du 19 février 2021
- Rapport d'étude du laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE) sur l'abattement des bactériophages dans les boues de stations de traitement des eaux usées, S. Lardy-Fontan, N. Guigues et en collaboration avec C. Gantzer (Université de Lorraine/CNRS), la FNCCR et la FP2E
- Une synthèse de l'étude de parangonnage réalisée en avril 2022 de 7 pays européens (Italie, Espagne, Portugal, Suède, Royaume-Uni, Pologne et Allemagne)
- Article bibliographie : *Defining biological and biophysical properties of SARS-CoV-2 genetic material in wastewater*, Carolyn A. Robinson, Hsin-Yeh Hsieh, Shu-Yu Hsu, Yang Wang, Braxton T. Salcedo, Anthony Belenchia, Jessica Klutts, Sally Zemmer, Melissa Reynolds, Elizabeth Semkiw, Trevor Foley, XiuFengWan, Chris G. Wieberg, Jeff Wenzel, Chung-Ho Lin, Marc C. Johnson. *Science of the Total Environment* 807 (2022) 150786
- Arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19 : <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000041845678/>
- Instruction ministérielle du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues de STEU dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise COVID-19 : <https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/circulaire%20boues.pdf>
- Questions relatives à l'application de la circulaire du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise de covid-19 : [https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ%20BOUES%2009\\_03\\_2021.pdf](https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ%20BOUES%2009_03_2021.pdf)
- Foire aux questions relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) suite à la publication de l'arrêté du 20 avril 2021 modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19 : [https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ\\_BOUES\\_Comp%3%A9ments\\_avril%202021.pdf](https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ_BOUES_Comp%3%A9ments_avril%202021.pdf)

## **Annexe 2 : Composition du groupe de travail (GT)**

Fabien SQUINAZI, Président de la Cs-RE du HCSP, pilote du GT

Jean-Marc BRIGNON, membre de la Cs-RE du HCSP

Éric GAFFET, membre de la Cs-RE du HCSP

Bruno POZZETTO, membre de la Cs-MIME du HCSP

Matthieu REVEST, membre de la Cs-MIME du HCSP

Nicolas ROCHE, membre de la Cs-RE du HCSP

Jean-Louis ROUBATY, ancien Professeur Sorbonne Paris-cité (Université Denis Diderot)

France WALLET, membre de la Cs-RE du HCSP

### **Secrétariat général du HCSP**

Soizic URBAN-BOUDJELAB

Muriel SALLENDRÉ

## **Annexe 3 : Liste des personnes/structures auditionnées le vendredi 16 septembre 2022**

- **Unité mixte de recherche INSERM U1092 / Université de Limoges**

Pr Christophe DAGOT, UMR Inserm 1092, Agents anti-microbiens, CBRS - Université de Limoges

- **SUEZ CIRSEE (Centre International de Recherche sur l'Eau et l'Environnement)**

Dr Jean-François LORET, Responsable du département santé et environnement

- **Service public de l'assainissement francilien – SIAAP**

M. Jacques OLIVIER, Directeur Général

M. Vincent ROCHER, Directeur Innovation

- **Antea Group France, IRH Ingénieur Conseil**

M. Thierry PICHARD, Expert procédés traitement des eaux, Direction Eau France, Pôle Expertise

## **Annexe 4 : Synthèse des documents annexés à la saisine du 26 juillet 2022 de la Direction générale de l'aménagement, du logement et de la nature, de la Direction générale de la prévention des risques, de la Direction générale de la santé et de la Direction générale de l'alimentation sur les traitements appliqués aux boues de stations d'épuration en période de Covid-19**

### **1. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande en urgence d'appui scientifique et technique sur les risques éventuels liés à l'épandage de boues d'épuration urbaines durant l'épidémie de Covid-19 datant du 27 mars 2020**

L'ANSES a pris en considération les procédés de traitement des eaux usées réalisés en stations d'épuration urbaines (les prétraitements, les traitements primaires (décantation), secondaires (biologiques, lagunage ou cultures fixes) et tertiaires (traitement de l'azote et du phosphore).

Dans le procédé de traitement des eaux usées, deux types de boues sont générées : les boues primaires issues d'une décantation primaire située en tête de traitement et les boues secondaires, résultats de l'oxydation de la matière organique par des floccs bactériens (écosystème épurateur constitués de bactéries et de polymères), et purgées à la sortie du clarificateur, ouvrage de séparation liquide solide. Toutefois, les deux types de boues sont mélangés en vue de leur traitement et de leur valorisation tel que l'épandage.

L'ANSES a pris également en considération les procédés classiques du traitement des boues (digestion aérobie mésophile, digestion aérobie thermophile, digestion anaérobie mésophile, digestion anaérobie thermophile, conditionnement thermique, chaulage, compostage, séchage, oxydation voie humide, acidification « aux nitrites », lits plantés de roseaux, minéralisées, stabilisées et partiellement hygiénisées).

L'ANSES a examiné l'efficacité des traitements appliqués aux boues vis-à-vis du SARS-CoV-2 dans les boues (la résistance des virus à la chaleur, la résistance des virus à pH basique).

L'ANSES conclut :

- concernant les boues ayant subi un traitement considéré hygiénisant (arrêté du 8 janvier 1998) produites au cours de la période épidémique, que la contamination par le SARS-CoV-2 devrait être faible à négligeable.
- concernant les boues ayant subi un traitement considéré comme non suffisamment hygiénisant qu'elles sont à considérer comme des boues n'ayant pas subi de traitement considéré hygiénisant.
- concernant les boues n'ayant pas subi de traitement considéré hygiénisant (arrêté du 8 janvier 1998) produites au cours de la période épidémique,
  - qu'une contamination par le SARS-CoV-2 ne peut être exclue selon les données disponibles ;
  - que, le risque de transmission majoritaire du SARS-CoV-2 concernant les voies respiratoires, la préoccupation majeure concerne l'exposition aux aérosols et aux poussières susceptibles d'être émis au cours de l'épandage et de l'enfouissage des boues non hygiénisées ;
  - que les connaissances actuelles indiquent un abattement de la teneur en certains virus en fonction du temps et de la température (à titre d'exemple, considérant des virus enveloppés comme modèles, un stockage de l'ordre de 6 semaines à 5 °C pourrait permettre une division par mille de la quantité initiale de virus) mais que cependant les informations sur la persistance et le pouvoir infectieux du SARS-CoV-2 dans les boues non hygiénisées restent insuffisantes.

En conséquence de ces incertitudes il n'est pas possible de définir avec précision une période de stockage au-delà de laquelle le SARS-CoV-2 pourrait être inactivé. En conséquence, l'Anses recommande de ne pas épandre ces boues sans hygiénisation préalable.

**2. Instruction ministérielle du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues de STEU dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise Covid-19 : <https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/circulaire%20boues.pdf>**

Cette instruction aux préfets de département indique les dispositions à mettre en œuvre concernant la gestion des boues lors de la crise sanitaire. Cette instruction indique notamment :

- Les boues de stations d'épuration (STEP) urbaines ayant subi un traitement d'hygiénisation (tel que le compostage, le séchage thermique, la digestion anaérobie thermophile (méthanisation) ou le chaulage...) peuvent continuer à être épandues sans restriction, dans le respect de la réglementation en vigueur.  
Jusqu'à la fin de la période épidémique, le traitement de ces boues fera l'objet d'une surveillance renforcée pour s'assurer de leur bonne hygiénisation.
- Les boues non hygiénisées extraites après le début de l'épidémie, à partir des dates établies pour chaque département par Santé publique France et figurants en annexe de l'instruction, doivent être stockées puis redirigées vers une filière d'hygiénisation ou d'incinération.  
Il est précisé dans l'annexe de cette instruction relative aux pistes de solutions alternatives à l'épandage des boues non hygiénisées, que conformément à l'avis de l'Anses du 27 mars 2020 le stockage des boues des STEP urbaines ne peut constituer une solution permettant de faire face à l'impossibilité de les épandre, dans le contexte de la crise Covid-19 car l'état des connaissances disponibles ne permet pas de définir une période de stockage au-delà de laquelle le SARS-CoV-2 pourrait être inactivé.

**3. Instruction DGPR du 23 avril 2020 relative à la gestion des boues des stations d'épuration industrielles contenant des eaux-vannes**

Cette instruction adressée aux préfets de département prescrit les conditions permettant l'épandage des boues de stations d'épuration (STEP) industrielles contenant des eaux vannes (les eaux vannes proviennent des toilettes et des urinoirs).

Les boues de STEP industrielles peuvent être épandues sans hygiénisation préalable lorsque :

- l'apport d'eaux vannes est inférieur à 0,1% du volume, la durée de stockage des boues est supérieure à 1 mois et les boues sont déshydratées ;
- l'application se fait par herse, les périodes de stockage des boues sont supérieures à 7 jours et les eaux vannes ont été traitées par une augmentation du pH au-dessus de 11 ou de la température au-dessus de 50 °C ;
- l'application est faite par injection directe ou à la herse, les durées de stockage des boues sont supérieures à 7 jours et les eaux vannes ont été traitées par une augmentation du pH au-dessus de 11 ou de la température au-dessus de 50 °C.

Selon l'instruction, le chaulage, le compostage, la méthanisation et l'incinération sont des solutions à envisager pour les boues déjà extraites et qui n'ont pas pu être épandues.

Pour les boues industrielles contenant des eaux vannes, l'instruction invite enfin à examiner la possibilité, en attendant la fin de l'épidémie, d'autres circuits que la STEP industrielle pour les

effluents susceptibles de contenir des matières fécales humaines (par exemple par l'installation de toilettes provisoires de chantier).

Pour les boues de STEP mixtes recevant des fractions significatives d'effluents domestiques, les dispositions sont similaires à celles des boues de STEP urbaines définies par l'instruction du 2 avril 2020.

#### **4. Arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19 : <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000041845678>**

L'arrêté du 30 avril 2020 prend assise sur l'avis n° 2020-SA-0043 de l'ANSES du 27 mars 2020 relatif à une demande en urgence d'appui scientifique et technique sur les risques éventuels liés à l'épandage de boues d'épuration urbaines durant l'épidémie de covid-19.

Cet arrêté s'applique aux boues de STEP urbaines et aux boues de STEP d'installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation dont l'apport d'eaux vanes est inférieur à 0,1% du volume.

Cet arrêté interdit d'épandre les boues produites après le début d'exposition à risques pour la Covid-19 et qui ne sont pas hygiénisées. La date à prendre en compte pour le début d'exposition à risques pour la Covid-19 est définie, pour chaque département, en annexe de l'arrêté et a été définie à partir des données transmises par l'Agence nationale de santé publique concernant les dates d'entrée des départements dans une zone d'exposition à risques pour la covid-19.

Les critères d'hygiénisation sont définis à l'article 16 de l'arrêté du 8 janvier 1998 ou définis par la norme NF U 44-095.

Selon le type de boues, un suivi supplémentaire ou un enregistrement du contrôle de la température, de la durée de compostage et du nombre de retournements est également requis.

Le producteur de boues doit tenir à la disposition du préfet les résultats des analyses garantissant le respect des critères d'hygiénisation.

#### **5. Rapport d'étude du laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE) sur l'abattement des bactériophages dans les boues de stations de traitement des eaux usées, S. Lardy-Fontan, N. Guigues et en collaboration avec C. Gantzer (Université de Lorraine/CNRS), la FNCCR et la FP2E**

Une étude nationale construite avec les acteurs de cette filière a été réalisée entre avril et septembre 2020 afin de pouvoir estimer dans différentes configurations les taux d'abattement du SARS-CoV-2 de manière indirecte dans les stations d'épuration ne pratiquant pas l'hygiénisation de leurs boues. En l'absence de méthode quantitative reconnue pour l'analyse du SARS-CoV-2 dans les boues au moment de cette étude, que ce soit par RT-PCR ou par culture cellulaire, une méthode indirecte, consistant à cibler certains bactériophages fécaux plus résistants que les coronavirus et pour lesquels des méthodes reconnues existent, a été suivie afin d'estimer les taux d'abattement du SARS-CoV-2 dans les STEP.

Deux approches complémentaires à l'hygiénisation ont été étudiées :

- La première étude vise à définir la cinétique d'inactivation de deux types de bactériophages, les coliphages somatiques et les bactériophages à ARN spécifique F, dans les boues activées à aération prolongée (liquides) de la STEP de Reims, en conditions contrôlées de laboratoire. Le contrôle est effectué à deux températures : 5°C et 22°C pendant 96 jours. Selon le rapport, cette étude vise à définir les conditions de stockage qui pourraient permettre d'obtenir 4 unités logarithmiques d'abattement (soit un abattement de 99,99%). Les résultats de cette première étude montrent :

- Que ce soit pour les coliphages somatiques ou les bactériophages ARN F-spécifiques, les cinétiques montrent une tendance à la diminution plus forte à 22 °C qu'à 5 °C. Cette tendance étant nettement plus nuancée pour les coliphages somatiques. Cet élément confirme les hypothèses que la température est un élément critique de la stabilité des bactériophages et par extrapolation un élément clé à considérer pour l'étude des filières
  - Pour les coliphages somatiques : à 5 °C il faut attendre J96 pour observer une première tendance à la décroissance. J96 étant le dernier point de l'étude, il n'est cependant pas possible de conclure. A 22 °C, une première étape de décroissance est observée dès J28 avec l'atteinte d'un plateau et une seconde phase entre J56 et 96. Là encore cette deuxième phase ne peut être confirmée en l'absence de point supplémentaire (post J96).
  - Pour les bactériophages ARN F-spécifiques : aucune diminution significative n'est observée à 5 °C. Au contraire, à 22 °C, très rapidement une décroissance du niveau de concentrations est observée, qui est en-dessous des seuils de performances de la méthode dès J42.
- La deuxième étude présentée a été réalisée en conditions réelles (in situ) pour évaluer le taux d'abattement des deux mêmes types de bactériophages (coliphages somatiques et bactériophages à ARN spécifique de F) après stockage des boues brutes pour une sélection de STEP utilisant différents procédés de traitement des boues (stockage non aéré des boues liquides, chaulage (filtre presse ou post-chaulage), filtres à roseaux, séchage en serre, lits de séchage, digestion anaérobie mésophile). Les résultats montrent :
- Le taux d'abattement semble fortement dépendant du type de traitement et du temps de stockage mis en œuvre. Ainsi le chaulage des boues (filtre presse ou post chaulage) et le stockage en serre solaire ou avec plancher chauffant permettent en général d'avoir des abattements très importants en coliphages somatiques (supérieurs à 5 log) et en phages ARN F-spécifiques (supérieurs à 3 log). Par ailleurs, pour ces filières, les concentrations mesurées en bactériophages dans les boues stockées sont dans la plupart des cas inférieures à la limite de quantification de 10 pfu/g de matière brutes.
  - Pour les autres types de traitement et stockage comme les boues liquides en stockage non aéré et les filtres plantés de roseaux (rhizocompostage et rhizofiltration), l'abattement en coliphages somatiques et en phages ARN F-spécifiques est faible, majoritairement inférieur à 3 log.
  - Enfin le taux d'abattement en bactériophages (coliphages somatique et phages ARN F spécifiques) est très dispersé pour la digestion anaérobie mésophile et les lits de séchage, avec probablement des résultats très différents selon les STEU concernées pour chacune de ses filières.

Les résultats des deux protocoles de cette étude confortent les choix stratégiques et techniques effectués : Les bactériophages sont des indicateurs fiables pour évaluer l'efficacité de l'élimination de la charge virale des boues produites par les différents procédés disponibles en France métropolitaine lors du stockage.

De plus, le LNE propose, pour chaque procédé (boues chaulées, serre solaire ou avec chauffage au sol, lit de séchage, digestion anaérobie mésophile, boues liquides en stockage non aéré, filtres plantés de roseaux), les conditions minimales de stockage requises et les conditions spécifiques d'épandage (confirmation d'un taux d'abattement de 4 log de coliphages somatiques pour chaque lot, ou hygiénisation requise, ou aucune).

## **6. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage de boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la crise de Covid-19 date du 19 février 2021**

Concernant le taux d'incidence hebdomadaire de l'épidémie de SRAS-CoV-19, l'Anses considère que l'utilisation de cet indicateur pour estimer l'absence de virus dans les boues des STEP présentes dans ce département, pendant la période de production des boues, présente trop d'incertitudes. En particulier, il existe une incertitude temporelle : le SRAS-CoV-2 peut être détecté très tôt dans les eaux usées générant des boues, bien avant les indicateurs épidémiologiques, et le taux d'incidence hebdomadaire étant une moyenne, il ne représente que partiellement l'éventuelle évolution rapide de l'épidémie. Il existe également une incertitude spatiale, liée à la difficulté dans certaines situations d'établir une correspondance entre l'incidence hebdomadaire d'un département, qui représente une valeur moyenne sur le département, et des contaminations potentiellement différentes entre les stations d'épuration situées à différents endroits de ce département.

En ce qui concerne le devenir du SARS-CoV-2 dans les stations d'épuration des eaux usées urbaines, l'efficacité partielle de plusieurs étapes de traitement pour éliminer la présence du génome du SARS-CoV-2 dans les eaux usées a été rapportée par plusieurs auteurs. Cependant, d'autres auteurs ont rapporté des observations divergentes, voire contradictoires. Concernant la présence du génome viral du SRAS-CoV-2 dans les boues, les résultats des études scientifiques sont plus homogènes et montrent des détections fréquentes du génome dans les boues. L'Anses considère que ces résultats ne sont pas contradictoires et qu'ils illustrent le transfert probable du génome viral du SARS-CoV-2 des eaux usées vers les boues lors du traitement des eaux usées. La répartition du virus entre les phases solide et liquide et les différences de choix méthodologiques entre les études en termes d'échantillonnage et de préparation des échantillons pourraient expliquer, au moins en partie, les apparentes divergences concernant l'efficacité des procédés de traitement mis en œuvre. L'Anses déduit de ce phénomène de transfert que la mesure de l'efficacité des solutions de traitement des eaux usées (évaluée par la quantité de génome viral présent dans les effluents liquides) n'est d'aucune utilité pour évaluer le devenir du génome viral du SRAS-CoV-2 dans les boues.

L'Anses précise également que, comme cela a été montré pour d'autres virus enveloppés (Kumar et al. 2020 ; Y. Ye et al. 2016a), cette adsorption potentielle du SRAS-CoV-2 sur les constituants solides des boues pourrait permettre une meilleure protection des particules virales en les soustrayant à l'effet des détergents et antiseptiques présents dans l'eau (Kweinor Tetteh et al. 2020).

Malgré les résultats d'études scientifiques montrant l'absence de particules virales infectieuses dans les eaux usées malgré la présence d'ARN viral, et compte tenu de la complexité méthodologique nécessaire pour extraire les virus des boues, les cultiver et caractériser leur virulence, l'Anses indique qu'il n'est pas possible de conclure ni à l'absence ni à la présence de risque infectieux associé aux boues. L'ARN total étant plus stable que la fraction infectieuse, les quantifications de virus par RT-PCR sont un bon outil pour surveiller la présence de virus dans les eaux usées et les boues, mais en même temps elles surestiment probablement l'importance du matériel infectieux dans ces matrices.

L'Anses conclut concernant l'actualisation des connaissances sur le virus SARS-CoV-2 dans les boues que :

- L'analyse de la bibliographie, arrêtée au 31 décembre 2020, confirme une nouvelle fois la présence de génome du SARS-CoV-2 dans des eaux usées brutes, dans les eaux usées traitées ou dans les boues des STE Urbaines, sans toutefois préciser ni la persistance, ni l'intégrité du virus dans les boues traitées, ni le risque infectieux associé. Elle indique que, malgré une potentielle persistance relative (quelques jours) dans les eaux usées comme

dans les selles, le virus semble perdre dans les eaux usées une partie de son intégrité et de son caractère infectieux.

- Aucune donnée retrouvée au 31 décembre 2020 ne permet d'actualiser la liste des procédés qui pourraient conduire à un abattement du SARS-CoV-2 (durée de stockage ou température).

Concernant l'intérêt de la surveillance des bactériophages comme indicateur du SRAS-CoV-2, l'Anses conclut que les bactériophages sont plus résistants que les virus enveloppés, dont le SRAS-CoV-2, et qu'il est acceptable d'utiliser la cinétique d'élimination des bactériophages comme indicateur du SRAS-CoV-2. L'Anses souligne toutefois que ce raisonnement est théorique qui reste à démontrer expérimentalement. Un abattement de 4 log (soit 99,99%) est le seuil retenu pour valider l'efficacité d'un traitement. Sur cette base et compte tenu des résultats présentés dans le rapport du LNE (2020), l'Anses recommande les conditions d'épandage suivantes :

**Tableau 2 : Synthèse des filières de traitements/stockage pouvant être retenues sur la base du rapport du LNE (2020) de suivi des bactériophages.**

Filières	Conditions minimales de stockage	Possibilité d'épandage et conditions
Boues chaulées	3 mois	Epandage possible de ces boues si et seulement si confirmation d'un taux abattement en coliphages somatiques de 4 log pour chaque lot
Serre solaire ou avec plancher chauffant	Teneur de matières sèche > 80 %	
Lit de séchage	1,5 mois	
Digestion anaérobie mésophile	4 mois	Pas de possibilité d'épandage
Stockage non aéré de boues liquides	Aucune	
Centrifugation et stockage en benne	Aucune	
Filtres plantés de roseaux	Aucune	Pas de possibilité d'épandage sur la base du rapport du LNE (2020). Toutefois, les experts considèrent que ces boues pourraient être épandues sans conditions préalables de suivi des bactériophages.

## 7. Questions relatives à l'application de la circulaire du 2 avril 2020 relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) dans le cadre de la continuité des services d'assainissement pendant la crise de covid-19 : [https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ%20BOUES%2009\\_03\\_2021.pdf](https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ%20BOUES%2009_03_2021.pdf)

Cette FAQ répond à des questions très pragmatiques sur le stockage des boues (boues non hygiénisées, lot de boues, y compris les boues extraites avant et pendant l'épidémie), les traitements des boues (comment les mettre en œuvre pour assurer l'hygiénisation des boues), le compostage, les admissions, le mélange et quelques questions diverses. Il est indiqué notamment que :

- L'efficacité des procédés d'hygiénisation est principalement garantie par le respect de certaines conditions lors de leur mise en œuvre : le temps (pour tous les procédés), la température (digestion, stabilisation, compostage, chaux vive) et le pH pour le chaulage. Outre les traitements par compostage, chaulage, séchage thermique ou digestion

anaérobie thermophile, décrits dans l'avis de l'ANSES du 27 mars 2020, tout traitement thermique ou basique peut être considéré comme hygiénisant si les critères de l'article 16 de l'arrêté du 8 janvier 1998 sont respectés et s'il est réalisé en respectant les conditions de température/temps ou de pH/temps. A titre indicatif, ces conditions consistent en :

- Pour les traitements thermiques : 55 °C pendant 14 jours consécutifs / 60 °C pendant 7 jours consécutifs / 65 °C pendant 3 jours consécutifs / 70 °C pendant une heure (recommandations du Haut conseil de la santé publique dans son avis du 19 mars 2020 [Gestion des déchets d'activités de soins \(DAS\) produits au cours de l'épidémie de Covid-19, en particulier en milieu diffus \(hcsp.fr\)](#) ;
  - Pour les traitements basiques : 10 jours consécutifs à Ph12 (recommandation de l'ANSES dans son avis du 27 mars 2020).
- Il n'était pas possible d'épandre des boues non hygiénisées par enfouissement direct (injection). Cela faisait partie des propositions du SYPREA jointes à la saisine de l'ANSES, qui ne les a pas reprises dans ses recommandations, essentiellement basées sur le caractère hygiénisé ou non des boues.
  - Les distances d'isolement à respecter pour l'épandage des boues hygiénisées par rapport aux activités à protéger restent celles fixées par l'annexe 1 de l'arrêté du 8 janvier 1998. L'ANSES ne recommande pas de les renforcer. Toutefois, si localement, le préfet estime nécessaire d'augmenter ces distances, il peut le faire.
  - Le décret du 30 avril 2020 prévoit que l'obligation d'hygiénisation des boues avant épandage s'applique à tous les sols (sols agricoles, sols forestiers ou sols de revégétalisation ou de reconstitution).

**8. Foire aux questions complémentaire relative à la gestion des boues des stations de traitement des eaux usées (STEU) suite à la publication de l'arrêté du 20 avril 2021 modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19 : [https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ\\_BOUES\\_Comp%3%A9ments\\_avril%202021.pdf](https://www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr/PortailAC/documents/FAQ_BOUES_Comp%3%A9ments_avril%202021.pdf)**

Deux nouvelles possibilités d'épandage des boues ont été introduites par l'arrêté du 20 avril 2021 en complément des dispositions de l'arrêté du 30 avril 2020. Les deux cas supplémentaires d'épandage possible sont :

- Les boues ont été traitées par chaulage suivi d'un stockage de 3 mois, par séchage solaire ou par digestion anaérobie suivi d'un stockage de 4 mois et une analyse de lot confirme un taux d'abattement des coliphages somatiques supérieur ou égal à 4 log ;
- Les boues sont obtenues après traitement des eaux usées par lagunage ou rhizofiltration ou ont été traitées par rhizocompostage. Les boues doivent être éliminées après un repos minimum d'un an du système de traitement, sans provoquer de dysfonctionnement du système d'assainissement.

Cette FAQ explique comment mettre en œuvre ces deux nouvelles possibilités d'épandage des boues.

**9. Article bibliographie : Defining biological and biophysical properties of SARS-CoV-2 genetic material in wastewater, Carolyn A. Robinson, Hsin-Yeh Hsieh, Shu-Yu Hsu, Yang Wang, Braxton T. Salcedo, Anthony Belenchia, Jessica Klutts, Sally Zemmer, Melissa Reynolds, Elizabeth Semkiw, Trevor Foley, XiuFeng Wan, Chris G. Wieberg, Jeff Wenzel, Chung-Ho Lin, Marc C. Johnson, Science of the Total Environment 807 (2022) 150786**

Le matériel génétique du SRAS-CoV-2 a été détecté dans les eaux usées brutes dans le monde entier tout au long de la pandémie de Covid-19 et a servi d'outil utile pour surveiller les niveaux

communautaires d'infections par le SRAS-CoV-2. Dans cette étude, les auteurs caractérisent notamment le matériel génétique collecté à partir d'échantillons d'eaux usées brutes.

À titre de contrôle lors de cette étude, un virus VIH dérivé de NL4-3 contenant un gène de résistance à la puromycine piloté par CMV et dépourvu des gènes accessoires Vif, Vpr, Nef et Env (ci-après appelé "virus Puro") a été ajouté aux échantillons d'eaux usées brutes à une concentration de  $5,1 \times 10^7$  particules virales par échantillon. Les auteurs ont noté qu'en comparant le signal détecté dans des échantillons très riches ( $>1,5$  million de copies/L du signal du SARS-CoV-2) avant et après concentration, la récupération du SARS-CoV-2 était systématiquement supérieure à celle du virus Puro. En moyenne, la récupération du SARS-CoV-2 était 2,7 fois plus élevée que celle du virus Puro (N = 14). Cela a conduit les auteurs à s'interroger sur la nature du matériel génétique du SRAS-CoV-2 détecté dans les eaux usées.

Les auteurs montrent que sur une période de 24 heures, les changements de température sont tolérés car il n'y a pas de différence significative dans les signaux des échantillons conservés à 4 °C, à la température ambiante ou à 37 °C. Ce résultat suggère une certaine protection du matériel génétique contre la dégradation et indique que les températures extérieures n'ont pas d'impact sur la fiabilité de la détection des signaux lorsque les niveaux de matériel génétique du SRAS-CoV-2 sont suivis dans le temps. Les auteurs démontrent également dans cette étude que l'ARN génomique collecté à partir d'échantillons d'eaux usées est sensible au détergent. Cette découverte suggère que le matériel génomique est protégé par une bicouche lipidique, car l'inactivation des particules virales par les détergents est bien documentée. En outre, dans cette étude la densité des échantillons était comparable à celle des particules de rétrovirus enveloppées. Pourtant, il est intéressant de noter que lorsque des échantillons d'eaux usées brutes ont été utilisés pour inoculer des cellules, aucun effet cytopathique n'a été observé, ce qui indique que les échantillons d'eaux usées ne contenaient pas de SARS-CoV-2 infectieux.

Selon les auteurs de l'étude, il est possible que les enzymes présentes dans le tube digestif, comme la trypsine, coupent une grande partie de la glycoprotéine Spike du virus présent dans le tube digestif, ce qui donne des particules virales enveloppées mais non infectieuses. Le matériel génomique du SARS-CoV-2 trouvé dans les eaux usées est ainsi non infectieux tout en restant protégé par une bicouche lipidique. Les auteurs de cette étude recommandent que d'autres études soient menées pour déterminer si le matériel génomique est du matériel génomique complet du SARS-CoV-2 et pour examiner pourquoi le matériel génomique trouvé dans les eaux usées peut être non infectieux tout en restant protégé par une bicouche lipidique.

## **10. Une synthèse de l'étude de parangonnage réalisée en avril 2022 de 7 pays européens (Italie, Espagne, Portugal, Suède, Royaume-Uni, Pologne et Allemagne)**

Sur les 7 pays ayant répondu à l'enquête, aucun n'a modifié les modalités de gestion des boues d'épuration du fait de la pandémie de Covid-19.

3 pays (Espagne, Suède et Allemagne) + 1 pays de manière marginale et sous conditions (Royaume-Uni) permettaient avant la pandémie et permettent encore d'épandre des boues brutes. Au Royaume-Uni, sous certaines conditions, l'utilisation de boues non traitées, est autorisée si elles sont injectées ou enfouies dans le sol. Cela représente une quantité marginale. Toutes les autres boues produites par les entreprises de traitement des eaux usées, destinées à être épandues sur les terres agricoles, font l'objet d'un traitement. 75 % des boues seraient traitées grâce à la méthanisation.

3 pays (Portugal, Pologne et Italie) imposaient avant la pandémie et imposent toujours que les boues soient stockées et/ou traitées avant épandage :

- Au Portugal : hygiénisation, chaulage, compostage (93%), méthanisation et durée minimale de stockage de 3 mois.

- En Pologne : Les boues doivent être stabilisées : hygiénisation, chaulage. Il n'y a pas de stockage préalable des boues avant épandage.
- En Italie : Des traitements préalables sont appliqués mais cela dépend des cas : hygiénisation, séchage, chaulage, compostage, méthanisation. Il n'y a pas nécessairement de stockage préalable des boues avant épandage.

Avis produit par la Commission spécialisée Risques liés à l'environnement

Le 21 octobre 2022

**Haut Conseil de la santé publique**

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

[www.hcsp.fr](http://www.hcsp.fr)