



### ACTION N° 7.2 : ETUDE EXPLORATOIRE SUR LES VIRUS DANS LES EAUX USEES

#### CONTEXTE

---

Un grand nombre de virus entériques (intestinaux) pathogènes pour l'Homme, excrétés dans les fèces humains et les urines, sont retrouvés dans les eaux usées. Incapables de se multiplier en l'absence de leurs cellules-hôtes, ils peuvent néanmoins persister et rester infectieux plusieurs jours voire plusieurs semaines, notamment en présence de particules. Les cours d'eau d'Ile de France, étant le principal exutoire des eaux usées de l'agglomération parisienne, sont particulièrement sensibles à ce problème. Bien que leur quantification précise demeure insuffisante, on peut affirmer que les virus entériques pathogènes sont présents dans les rivières, ressources pour la production d'eau de consommation et les aires aquatiques récréatives à des teneurs non négligeables.

Même à de faibles concentrations, ces virus peuvent être responsables d'une grande variété de pathologies humaines comme des paralysies, des méningites, des affections respiratoires, des gastro-entérites ou encore des hépatites. Il est donc admis aujourd'hui que ces contaminations virales doivent être prises en compte spécifiquement dans les études du risque sanitaire lié à l'eau. Or, actuellement, la surveillance microbiologique réglementaire de la qualité de l'eau repose sur le suivi d'indicateurs bactériens de contamination fécale (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux par exemple) et parfois parasitaires. Pourtant les résultats de ces indicateurs ne corrélaient pas avec la présence de virus dans l'eau comme l'a démontré le laboratoire d'Eau de Paris à propos des rejets d'eau usée. En effet, la taille, la composition, la résistance ou encore la décantabilité de ces virus sont totalement différentes de celles des bactéries et parasites suivis. Nombre d'interrogations demeurent à propos de ces virus pathogènes, notamment au sujet de l'efficacité des filières de traitement des eaux usées d'autre part (pour réduire les flux émis vers le milieu récepteur, et donc la contamination de la ressource en amont). En effet, l'efficacité de ces barrières est insuffisamment connue à ce jour, particulièrement en cas de niveaux élevés de contamination, à la suite par exemple d'épisodes pluvieux ou lors d'épidémies virales.

Pour répondre à ces problématiques, le LEESU en partenariat avec Eau de Paris et la direction du développement et de la prospective du SIAAP, ont initié des travaux visant à améliorer les connaissances sur le comportement des virus dans le long des filières de traitement des eaux résiduaires urbaines et d'étudier les rejets en Seine de ces pathogènes. Par ailleurs cette action sur la contamination virale des rejets urbains est aussi rattachée à une thématique de recherche du PIREN-Seine sur la « Dynamique virale dans les rivières franciliennes : Eléments d'analyse de l'impact climatique ».

#### OBJECTIFS

---

Les objectifs de l'action 7.2, sont tout d'abord d'harmoniser les méthodes de concentration et de détection des virus entre les laboratoires d'Eau de Paris et de la DDP du SIAAP, et dans un deuxième temps de mieux cerner le comportement des virus dans différents ouvrages dédiés au traitement tertiaire et de mesurer les concentrations virales dans les rejets de STEP et les rejets urbains de temps de pluie.

## METHODOLOGIE ET PLANNING

---

### **I – sites d'étude**

*Sites étudiés.* Comme pour l'action 7.1, les prélèvements seront effectués sur 24h sur les mêmes ouvrages de traitement des eaux résiduaires urbaines et en amont et aval de chaque procédé à tester en utilisant des préleveurs automatiques réfrigérés. Toutefois l'action 7.2 sera restreinte aux traitements tertiaires, afin de s'affranchir pour cette étude exploratoire des problèmes de matrice. Les équipes techniques du SIAAP seront sollicitées pour participer aux campagnes de prélèvement.

La contamination virale des rejets de stations d'épuration et des déversoirs d'orage (Clichy-La Briche) sera évalué lors de campagnes de prélèvement basées sur le suivi de la Seine. Ces campagnes devraient permettre d'identifier les zones potentiellement impactées par les virus, lors des périodes de fort et de faible débit. Les échantillonnages seront réalisés lors des deux types d'événements climatiques.

### **II – Protocole analytique**

Les méthodes de concentration des virus (entérovirus, neurovirus et adénovirus) seront comparées (kit d'extraction vs. filtration) afin de valider une méthode de préparation des échantillons pour quantification par PCR en temps réel (SIAAP et Eau de Paris). La filtration sur divers supports électro-négatifs et électro-positifs et l'ultracentrifugation tangentielle seront comparées pour une première étape de filtration. Une seconde étape de concentration, voire une concentration tertiaire seront nécessaires. Ces méthodes sont actuellement développées au sein du laboratoire d'Eau de Paris, mais devront être adaptées aux eaux usées traitées. La détection sera réalisée par PCR en temps réel, ces approches moléculaire ont été développées et validées sur germes test au sein du laboratoire d'Eau de Paris pour les entérovirus, les adénovirus, les rotavirus, les norovirus et les virus des hépatites A et E.

### **III. Moyens humains**

L'action exploratoire sera réalisée par B. Prévost qui débutera sa thèse en octobre 2012 (allocation doctorale du DIM R2DS). Cette thèse sera partagée avec le programme PIREN-Seine.

### **IV – Actions et calendrier**

- STEP : Le même calendrier de prélèvement que pour l'action 7.1 sera suivi pour évaluer l'efficacité des traitements tertiaires, le nombre de campagnes sera calqué sur celui des autres paramètres biologiques (5 à 10) :
  - a) Filtration sur sable couplée au traitement par les UV (STEP Seine Amont, 2012-2013)
  - b) Traitement sur charbon actif (prototype de la STEP Seine-Centre à Colombes, 2012-2013)
  - c) Désinfection par peroxydes et acide acétique (pilote de la STEP Seine Aval, 2013-2014)
- Rejets urbains en Seine : Les campagnes d'échantillonnage seront basées sur le suivi régulier de Seine par le SIAAP et Eau de Paris, avec des points en amont et aval des rejets de STEP et des déversoirs d'orage. Une estimation rapide des capacités analytiques, en se basant sur les méthodes actuellement utilisée au sein du laboratoire d'Eau de Paris, nous indique qu'il est possible d'analyser une quinzaine d'échantillons par semaine.

## RESULTATS ATTENDUS ET RETOMBÉES

---

Les résultats obtenus au cours de la phase 4 d'OPUR permettront de valider une méthode de concentration des échantillons qui soit efficace sur différents types de virus et sur différentes matrices (eaux usées traitées, eaux de surface). Les résultats permettront également d'accroître les connaissances sur l'efficacité des filières de traitement tertiaire des eaux résiduaires urbaines vis à vis des virus. Cette action viendra compléter des études précédentes faites en PCR quantitatives sur

les lagunes, filtres à sable, traitements membranaires en STEP effectuées par le CEERAM (Nantes). L'étude de l'apport en virus par les déversoirs d'orage et les rejets de station d'épuration, pourrait permettre de mieux modéliser les flux, et prédire de l'évolution de la contamination virale, notamment vis-à-vis des évolutions climatiques futures.

## **PARTENAIRES**

---

- Partenaires scientifiques : Laurent Moulin, Eau de Paris  
Sébastien Wurtzer, Eau de Paris
- Partenaires opérationnels : Vincent Rocher et Alexandre Goncalves, SIAAP

## **CONTACTS**

---

Françoise Lucas (Leesu) : [lucas@u-pec.fr](mailto:lucas@u-pec.fr)  
Laurent Moulin (Eau de paris) : [Laurent.Moulin@eaudeparis.fr](mailto:Laurent.Moulin@eaudeparis.fr)  
Vincent Rocher (SIAAP) : [Vincent.ROCHER@siaap.fr](mailto:Vincent.ROCHER@siaap.fr)  
Alexandre Goncalves (SIAAP) : [Alexandre.GONCALVES@siaap.fr](mailto:Alexandre.GONCALVES@siaap.fr)