

Direction de l'évaluation des produits réglementés
Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Expertise collective d'urgence
Demande en urgence d'appui scientifique et technique
relative à deux projets de protocoles de suivi d'abattement des phages dans les boues
et
relatives à l'actualisation des connaissances concernant, la présence de SARS-CoV-2 dans
les eaux usées/boues, l'efficacité des procédés d'hygiénisation des boues en ce qui
concerne l'abattement du SARS -CoV-2, les procédés qui pourraient conduire à un
abattement des teneurs en SARS-CoV-2 pour les boues non hygiénisées, et concernant
l'infectiosité du SARS-COV2 dans différentes matrices

Procès-verbal des réunions
des 3 et 10 juin 2020

*Considérant le décret n° 2012-745 du 9 mai 2012 relatif à la déclaration publique d'intérêts et à la transparence en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, ce procès-verbal retranscrit de manière synthétique les débats d'un collectif d'experts qui conduisent à l'adoption de conclusions. Ces conclusions fondent un avis de l'Anses sur une question de santé publique et de sécurité sanitaire, préalablement à une décision administrative.
Les avis de l'Anses sont publiés sur son site internet (www.anses.fr).*

Etaient présent(e)s :

- Experts rapporteurs
 - Mr Christophe DAGOT - Responsable Spécialité Environnement – ENSIL - ESTER - expert filière STEP - traitement des boues – membre du CES eau de l'Anses.
 - Mme Isabelle DEPORTES – Ingénieure impacts sanitaires et environnementaux de la gestion des déchets à l'ADEME – spécialiste traitements des déchets – membre du CES Matières Fertilisantes et supports de cultures de l'Anses.
 - M. MOULIN Laurent – Responsable R&D – Eau de Paris – Microbiologie, Virologie, Amibes, microbiome, méthode de l'analyse.
 - Mme MARTIN-LATIL Sandra – Chargée de projets scientifiques – Anses, Laboratoire de sécurité des aliments – virologie alimentaire, culture cellulaire, outils de diagnostic et de détection, hygiène des aliments

- Anses
 - DEPR - Thierry MERCIER, Jeremy PINTE, Jean-Rémi DUMENIL
 - DER : Pascale PANETIER, Estelle WESTERBERG
 - Pôle Recherche et Référence : Nicolas ETERRADOSSI

Présidence

Mr Thierry MERCIER assure la présidence de la séance



1. ORDRE DU JOUR

Finalisation de l'expertise et adoption du projet de note sur les demandes suivantes :

- saisine de l'association Robin des Bois relatives à l'actualisation des connaissances concernant, la présence de SARS-CoV-2 dans les eaux usées/boues, l'efficacité des procédés d'hygiénisation des boues, les procédés qui pourraient conduire à un abattement des teneurs en SARS-CoV-2 pour les boues non hygiénisées, et concernant l'infectiosité du SARS-COV2 dans différentes matrices,
- demande d'appui scientifique et technique du Ministère de la transition écologique et solidaire (Direction de l'aménagement du logement et de la nature) concernant 2 projets de protocoles de suivi d'abattement des phages dans les boues.

Relecture et validation du projet de note.

2. GESTION DES RISQUES DE CONFLIT D'INTERETS

Le président, après avoir vérifié en début de réunion que les experts n'ont pas de nouveaux liens d'intérêts à déclarer, précise que l'analyse des liens déclarés n'a pas mis en évidence de risque de conflit au regard des points de l'ordre du jour mentionné ci-dessus.

3. SYNTHÈSE DES DÉBATS, DÉTAIL ET EXPLICATION DES VOTES, Y COMPRIS LES POSITIONS DIVERGENTES

Le président vérifie que le quorum est atteint avec 4 experts sur 4 (les 3 et 10 juin) ne présentant pas de risque de conflit d'intérêts.

Les modalités organisationnelles, l'argumentaire et les conclusions/recommandations de l'expertise réalisée en urgence sont détaillées au niveau de la note de l'Anses, publié sur son site internet.

Concernant le protocole de suivi d'abattement des phages dans les boues

Les experts s'accordent sur le fait que le document proposé n'est pas un protocole (c'est à dire un document directement utilisable par un laboratoire d'analyse). Il s'agit plutôt d'une description du principe des méthodes mis en place. Les experts soulignent également que le document n'est pas assez détaillé et soulève de nombreuses questions rendant son évaluation complexe à réaliser.

Un expert se pose la question sur le caractère obligatoire de ce protocole. Sera-t-il une obligation pour pouvoir épandre les boues non hygiénisées au sens de l'arrêté du 8 janvier 1998 ou juste établie afin d'acquérir des connaissances ? Il se demande dans ce cas pourquoi le protocole n'inocule pas directement les boues avec un SARS CoV-2 inactivé ?

Les experts se posent également la question de la pertinence du protocole pour estimer l'abattement du SARS-CoV-2 au travers du suivie de bactériophages (bactériophages ARN F spécifiques et coliphages somatiques), dans des boues liquides non hygiénisées. Par définition les bactériophages et notamment ceux choisis pour ce protocole sont des virus qui se reproduisent dans des bactéries du tractus digestif humain (*Escherichia coli*). Ces bactéries sont nombreuses dans les boues non hygiénisées. Dans ce cadre comment est-il possible de mesurer un abattement de ces phages au cours du temps (stockage) alors que la boue non hygiénisée semble propice à leur multiplication ? La question se pose essentiellement, aux températures considérées, pour les coliphages somatiques plus que pour les phages ARN F qui ne peuvent entrer dans les cellules hôtes qui ne produisent pas de pilis sexuels aux températures environnementales considérées. Les experts considèrent que le lien entre l'abattement des phages ARN F spécifiques



et des phages somatiques comme indicateurs de la disparition des coronavirus SARS CoV-2 est peu justifié dans le document et reste à démontrer.

Les experts et l'Anses rappellent toutefois que les protocoles décrits présentent un intérêt pour valider des indicateurs d'efficacité de traitement d'inactivation virale au titre de l'acquisition des connaissances.

L'Anses se pose également la question de l'abattement de 3 log sur les bactériophages et le SARS-CoV-2. Les experts soulignent que les processus d'inactivation virale sont le plus souvent validés lorsqu'un abattement logarithmique de 4 est atteint. Les experts se posent donc la question du choix des 3 log d'abattement et de son interprétation.

Un expert s'interroge sur l'utilisation possible d'autres virus modèles du SARS-CoV-2 : souches animales de coronavirus non pathogènes pour l'homme, bactériophages enveloppés (similitudes structurales / SARS-CoV-2).

Les experts soulignent que d'autres approches, plus directes, comme l'analyse du génome viral du SARS-CoV-2 dans les boues non hygiénisées. Il est en effet souligné par les experts que l'absence de génome viral de SARS-CoV-2 dans les boues analysées, est synonyme d'absence de SARS-CoV-2 infectieux et pourrait permettre l'épandage de ces boues. En effet, si la présence de génome viral est difficilement interprétable en termes de risques sanitaires induits, *a contrario*, l'absence de génome viral permet de garantir l'absence de virus infectieux dans la prise d'essai ayant fait l'objet de l'analyse. Un expert souligne par ailleurs que des laboratoires proposent déjà cette prestation.

Les experts rappellent également qu'à ce jour l'infectiosité du virus n'est pas démontré dans les selles de patients infectés, alors même que le génome du virus est retrouvé.

L'Anses souligne également l'importance de travailler uniquement sur des matrices fraîches (sans congélation préalable) afin de pouvoir ré-isoler les virus (ex influenza). La congélation semblant détruite le virus.

Concernant l'actualisation des connaissances

Les experts et l'Anses soulignent le très faible nombre de nouvelles études qui pourraient permettre de revenir sur les conclusions et recommandations précédemment émises par l'Agence. De plus toutes les publications trouvées sont des pré-print n'ayant pas encore fait l'objet d'une validation par les pairs et donc difficile à valider.

L'Anses indiquent que la plupart des études identifiées dans la littérature traitent du suivi épidémiologique par la recherche de génome de SARS-CoV-2 dans les eaux usées. Seules 2 publications traitent plus particulièrement de la recherche du SARS-CoV-2 dans les boues et une seule de l'infectivité, avec cependant toutes les incertitudes d'interprétations liées à des études en pré-print.

Les experts soulignent que cette dernière étude montre que l'infectiosité du SARS-CoV-2 (évaluée au travers de l'observation d'effet cytopathique sur les cellules Vero E6), n'a pu être mise en évidence, malgré le nombre probablement élevé de copies d'ARN présentes dans les échantillons. Cependant, les experts relèvent que cette étude ne présente pas de témoin positif (montrant un ECP après infection des cellules Véro E6 par le SARS-CoV-2), qui permettrait de déterminer à partir de quel titre viral dans le liquide prélevé il est possible de ré-isoler le SARS-CoV-2. Les experts notent que cette étude est un « pre-print » qui n'a donc pas été validé par un comité de lecture et qu'il est donc difficile de la prendre en compte.



Concernant l'efficacité des procédés appliqués aux boues en ce qui concerne l'abattement du SARS-CoV-2, une seule étude a été identifiée. Les experts soulignent toutefois que cette étude n'a pas été conduite sur des boues mais sur des digestats de méthanisation de déchets de sous-produits animaux. L'Anses précise que cette étude montre que la digestion mésophile (37 °C) de déchets de sous-produit animaux est, pour un temps de séjour de 28 jours efficace sur l'élimination d'entérovirus bovin (artificiellement introduit dans le digesteur). Pour les experts les résultats de cette étude ne peuvent être extrapolés.

Le président propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente.

En ce qui concerne le protocole les experts s'accordent sur le fait que les protocoles décrits présentent un intérêt pour valider des indicateurs d'efficacité de traitement d'inactivation virale au titre de l'acquisition des connaissances avec quelques réserves par rapport aux coliphages somatiques et surtout sur le fait que le lien spécifique entre cinétique d'abattement des phages ARN F spécifiques et des phages somatiques comme indicateurs de disparition du SARS-CoV-2, reste à démontrer et que d'autres approches, plus directes, comme l'analyse du génome viral du SARS CoV 2 dans les boues non hygiénisées pourrait permettre de s'assurer si absence de génome viral, de l'absence de SARS CoV 2 infectieux dans ces dernières.

En ce qui concerne l'actualisation des données, les experts s'accordent sur le fait qu'aucune donnée ne permet actuellement d'actualiser les informations relatives à l'efficacité des procédés d'hygiénisation des boues en ce qui concerne l'abattement du SARS-CoV-2, de définir les procédés qui pourraient conduire à un abattement du SARS-CoV-2 (durée de stockage ou température) ou de définir le caractère infectieux du SARS-CoV-2 provenant de différentes matrices (eaux usées brutes ou boues).

Sur cette base, les experts rapporteurs adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise relative à cette demande d'appui scientifique et technique relative à deux projets de protocoles de suivi d'abattement des phages dans les boues et relatives à l'actualisation des connaissances concernant, la présence de SARS-CoV-2 dans les eaux usées/boues, l'efficacité des procédés d'hygiénisation des boues en ce qui concerne l'abattement du SARS-CoV-2, les procédés qui pourraient conduire à un abattement des teneurs en SARS-CoV-2 pour les boues non hygiénisées, et concernant l'infectiosité du SARS-COV-2 dans différentes matrices.