

# Abattement des bactériophages dans les boues de stations de traitement des eaux usées

S. Lardy-Fontan, N. Guigues

En collaboration avec  
C. Gantzer (Université de Lorraine/CNRS),  
la FNCCR et la FP2E

## RAPPORT D'ETUDE

Demandeur :	Laure Souillac, Adjointe à la sous directrice Sous direction de la protection et de la gestion de l'eau, des ressources minérales et des écosystèmes aquatiques  Direction de l'eau et de la biodiversité Ministère de la transition écologique et solidaire 1 place Carpeaux 92055 La Défense Cedex
Date de la commande :	Commande n° 1405033489 du 7/05/2020
Objet :	20EARM06 – Epandage des boues non hygiénisées

**La reproduction du présent document n'est autorisée que sous sa forme intégrale.  
Il comporte 50 pages.**

## TABLE DES MATIERES

1	CONTEXTE ET OBJECTIFS.....	4
1.1	<b>Gouvernance</b> .....	<b>4</b>
1.2	<b>Justification de l'utilisation des bactériophages comme indicateurs</b> .....	<b>5</b>
1.2.1	Méthodes directes de recherche et de dénombrement du SARS-CoV-2 : principes, limites et capacité des laboratoires.....	5
1.2.2	Intérêt des bactériophages comme indicateurs .....	7
2	MATERIELS ET METHODES .....	9
2.1	<b>Méthodes d'analyse des bactériophages</b> .....	<b>9</b>
2.2	<b>Assurance qualité / contrôle qualité</b> .....	<b>10</b>
2.3	<b>Performances de la méthode</b> .....	<b>10</b>
3	ETUDE CINETIQUE.....	12
3.1	<b>Choix de la matrice d'essai</b> .....	<b>12</b>
3.2	<b>Choix de la durée et des conditions thermiques de stockage</b> .....	<b>12</b>
3.3	<b>Protocole général d'étude de la cinétique d'abattement</b> .....	<b>13</b>
3.4	<b>Résultats</b> .....	<b>15</b>
3.4.1	Etude de stabilité.....	15
3.4.1	Evaluation de l'abattement .....	18
4	ETUDE DE L'ABATTEMENT DES BACTERIOPHAGES DANS LES BOUES DE STATIONS DE TRAITEMENT DES EAUX USEES .....	19
4.1	<b>Sélection des stations de traitement des eaux usées</b> .....	<b>19</b>
4.2	<b>Prélèvements et analyses de boues brutes et stockées</b> .....	<b>22</b>
4.3	<b>Types et conditions de stockage de boues</b> .....	<b>23</b>
4.3.1	Boues chaulées.....	23
4.3.2	Stockage non aéré de boues liquides.....	26
4.3.3	Digestion anaérobie mésophile .....	29
4.3.4	Filtre planté de roseaux.....	31
4.3.5	Lit de séchage.....	33
4.3.6	Serre .....	34
4.4	<b>Résultats</b> .....	<b>36</b>
4.4.1	Traitement des données.....	36
4.4.2	Taux de matière sèche.....	37
4.4.3	Concentration et abattement en bactériophages .....	38
4.4.4	Analyse détaillée par filière de traitement des boues.....	41
5	CONCLUSIONS-PERSPECTIVES.....	46
6	REFERENCES.....	49

## GLOSSAIRE

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation)

MTESS : Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire

DGALN : Direction Générale de l'Aménagement, du Logement et de la Nature (Ministère de la Transition Ecologique)

DEB : Direction de l'Eau et de la Biodiversité (Ministère de la Transition Ecologique)

FP2E : Fédération Professionnelle des Entreprises de l'Eau

FNCCR : Fédération nationale des collectivités concédantes et régies

STEU : Station de traitement des eaux urbaines

EH : Equivalent habitants

RT-PCR : RetroTranscription-Polymerase Chain Reaction

RT-qPCR : RetroTranscription-Polymerase Chain Reaction quantitative

UFP : unité de concentration en bactériophages (pfu : plaque forming units)

NF : norme française

## 1 CONTEXTE ET OBJECTIFS

Comme suite à l'avis ANSES du 27 mars 2020 sur les risques liés à l'épandage des boues durant l'épidémie de Covid 19, une instruction ministérielle a été adressée aux préfets le 2 avril 2020 par la DGALN et le DGAL prévoyant notamment l'interdiction d'épandage de boues non hygiénisées. Un arrêté du 20 avril 2020 est venu confirmer ces nouvelles exigences.

La pratique de déshydratation et d'hygiénisation des boues n'étant pas si fréquente notamment au sein des petites collectivités, certains exploitants de stations d'épuration se sont organisés pour transférer leurs boues vers d'autres stations d'épuration pratiquant l'hygiénisation ou ont fait appel à des unités de déshydratation mobiles avant compostage ou chaulage. Ces pratiques d'urgence sont onéreuses. Il est donc impérieux d'envisager des pratiques plus adaptées au contexte local. D'autant plus que l'Avis de l'Anses du 27 mars 2020 a été conduit en fonction de l'état des connaissances disponibles, qui restaient très limitées et en conséquence, c'est donc le principe de précaution qui s'est appliqué.

Sur la base de certaines recommandations de l'avis Anses du 27 mars 2020, une étude nationale a été construite avec les parties prenantes de cette filière afin de pouvoir estimer dans différentes configurations les taux d'abattement du SARS-CoV-2 de manière indirecte dans les stations de traitement des eaux usées ne pratiquant pas l'hygiénisation de leurs boues.

Ce rapport présente :

- 1) le cadre général de gouvernance de cette étude,
- 2) les deux approches complémentaires à l'hygiénisation :
  - A. Etude de la cinétique d'élimination des bactériophages dans les boues liquides de STEU en laboratoire pour définir des conditions de stockage pour obtenir 4 unités logarithmiques d'abattement.
  - B. Etude de l'abattement moyen en bactériophages au cours des processus de stockage des boues *in situ* qui ont été mises en œuvre tout en argumentant des choix techniques qui ont été décidés et appliqués,
- 3) les résultats, discutés, obtenus par ces 2 approches.

Ce rapport amène des éléments de précisions en réponse à la note d'appui scientifique de l'Anses du 19 juin 2020.

### 1.1 GOUVERNANCE

Pour coordonner cette étude, un COPIL a été instauré sous la coordination du MTES.

#### Membres du COPIL :

- Laure SOULIAC (MTES, DEB)
- Lucile MARSOLLIER (MTES, DEB)
- Emmanuel MORICE (MTES, DEB)
- Christophe VENTURINI (MTES, DEB)
- Denis SNIDARO (FP2E - SUEZ)
- Laurent BRUNET (FP2E - SUEZ)
- Régis TAISNE (FNCCR)
- Valery ESTIER (FNCCR)
- Laure SEMBLAT (FNCCR)
- Sophie RAPENNE (Grand Besançon)
- Christophe GANTZER (Université Lorraine/CNRS)
- Nathalie GUIGUES (LNE)
- Sophie LARDY-FONTAN (LNE)

**Rôles et responsabilités :****Tableau 1 : Gouvernance du projet**

PARTIES PRENANTES	RESPONSABILITES
<b>DEB</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Pilotage</li> <li>– Constitution du COPIL</li> </ul>
<b>LNE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Coordination technique de l'étude</li> <li>– Cadrage technique : établissement de recommandations pour l'ensemble des opérateurs de la chaîne de mesure, du prélèvement à l'analyse</li> <li>– Sélection du laboratoire analyse</li> <li>– Collecte, interprétation et restitution des données de l'étude</li> </ul>
<b>Université de Lorraine/CNRS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Expert portant appui au LNE</li> </ul>
<b>FNCCR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Sélection des stations</li> <li>– Coordination des campagnes d'échantillonnage</li> <li>– Collecte des informations sur les filières et stations sélectionnées</li> </ul>
<b>FP2E</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Sélection des stations</li> <li>– Coordination des campagnes d'échantillonnage</li> <li>– Collecte des informations sur les filières et stations sélectionnées</li> </ul>

**Calendrier :**

Le COPIL s'est réuni en plénière 7 fois entre le 15 avril 2020 et le 1<sup>er</sup> septembre 2020 (Tableau 2).

**Tableau 2 : Réunions du COPIL**

Date des réunions plénières	Objet de la réunion
<b>15 avril 2020</b>	Présentation de la problématique de l'épandage des boues
<b>21 avril 2020</b>	Présentation de la 1 <sup>ère</sup> version du protocole d'étude
<b>30 avril 2020</b>	Présentation de la 2 <sup>ème</sup> version du protocole de l'étude + restitution des réunions sur les capacités analytiques des laboratoires sollicités
<b>12 mai 2020</b>	Présentation de la 3 <sup>ème</sup> version du protocole de l'étude ⇒ <b>Protocole d'étude validé et lancement de l'étude</b>
<b>5 juin 2020</b>	Etat d'avancement de l'étude
<b>3 juillet 2020</b>	Présentation des résultats à date et discussion sur le retour SAISINE ANSES SA068
<b>1 septembre 2020</b>	Discussion et validation du rapport envoyé à l'Anses

En parallèle, des réunions en comité restreint ont été organisées entre les différents membres du COPIL.

**1.2 JUSTIFICATION DE L'UTILISATION DES BACTERIOPHAGES COMME INDICATEURS****1.2.1 Méthodes directes de recherche et de dénombrement du SARS-CoV-2 : principes, limites et capacité des laboratoires**

Il existe deux principes de mesures directes du SARS-CoV-2 : la RT-PCR (RetroTranscription-Polymerase Chain Reaction) et la culture cellulaire. Le Tableau 3 présente les principes, avantages et limites de ces techniques.

**Tableau 3 : Principes, avantages et limites des méthodes directes de recherche et de dénombrement du SARS-CoV-2**

	RT-PCR (temps réel)	Culture cellulaire
<b>Principe général</b>	<p>Après extraction et purification du génome viral contenu dans un échantillon, la technique de PCR permet d'amplifier une séquence d'ADN spécifique du SARS-CoV-2 en plusieurs millions d'exemplaires. Cette méthodologie consiste à polymériser de façon répétée à l'aide d'une enzyme thermostable, le brin complémentaire d'un fragment d'ADN. Avant l'étape de PCR, il est nécessaire de réaliser la transformation de l'ARN viral en ADNc (ADN complémentaire) à l'aide d'une enzyme de rétrotranscription et d'une amorce anti-sens.</p> <p>Le principe de la quantification repose sur une émission de fluorescence proportionnelle à la quantité de génome produite pendant la réaction qui permet de déduire la quantité initiale d'ADN présente dans l'échantillon.</p> <p>L'approche permet de mesurer un niveau de contamination du génome viral qu'il soit libre ou encapsidé</p>	<p>Elle est basée sur la multiplication virale sur des cellules sensibles. Un inoculum obtenu à partir d'un échantillon environnemental est mis en contact avec un tapis de cellules sensibles à l'infection et maintenues en culture dans un milieu nutritif approprié avant de subir une étape de dénombrement.</p>
<b>Avantages</b>	<p>Méthode sensible et spécifique Rapide (4h)</p>	<p>C'est la méthode de référence pour établir le caractère infectieux des virus et évaluer l'efficacité des traitements. Permet de statuer sur la présence de particules virales infectieuses</p>
<b>Limites</b>	<p>Phénomènes d'interférences induisant des effets d'inhibition. Pas de normes ou méthodes de référence disponibles. Faible volume analysé qui augmente la limite de détection et peut diminuer la représentativité de l'échantillon. Ne permet pas de statuer sur la présence de particules virales infectieuses et ne permet donc pas d'évaluer l'efficacité d'un traitement.</p>	<p>Complexe à mettre en œuvre. La plupart des protocoles d'extraction des virus de la matrice boue sont adaptés aux virus nus et non aux virus enveloppés.</p> <p>Pas de normes ou méthodes de référence disponibles</p>

En avril 2020, le Laboratoire d'Hydrologie de Nancy a adressé un questionnaire aux 143 laboratoires disposant d'un agrément du ministère de la santé et/ou du ministère de l'environnement afin d'établir un état des lieux des capacités analytiques des laboratoires (Mesures directes et indirectes) concernant le SARS-CoV-2 dans les matrices résiduelles. Cette enquête montre qu' «Aucun laboratoire ne déclare être en mesure de réaliser des analyses par culture cellulaire de SARS-CoV-2 à partir d'échantillons résiduelles. A noter que 3 laboratoires possèdent une accréditation dans le domaine du contrôle des matrices résiduelles, des fertilisants, support de culture ainsi qu'une accréditation en portée flexible pour la détection/quantification de génome viral par RT-PCR. L'un d'eux propose déjà des

**analyses qualitatives** de génome de SARS-CoV-2 dans les boues, les deux autres souhaitent développer ces prestations sur matrices résiduelles.»

Dans une publication scientifique de Kitajima et al. (2020), il est rappelé que de nombreux travaux scientifiques ont démontré que les méthodes classiques de concentration de virus dans les matrices de type boues sont inefficaces pour récupérer des virus enveloppés- tel que le SARS-CoV-2, à partir de ce type d'échantillons. En outre, les auteurs concluent : « S'il est difficile de déterminer les valeurs de réduction log<sub>10</sub> du SARS-CoV-2 lui-même en raison de la disponibilité du virus et / ou des restrictions de biosécurité, des modèles de virus enveloppés tels que les CoV humains, le MHV ou le phage Pseudomonas Φ6 peuvent être utilisés pour des expériences en laboratoire ou des études pilotes à grande échelle » et que « Actuellement, les tests RT-qPCR développés pour les tests cliniques sont utilisés pour la détection d'ARN du SARS-CoV-2 dans des échantillons environnementaux. Des études environnementales récentes ont indiqué que différents tests pouvaient produire des résultats contradictoires (Ahmed et al., 2020; Medema et al., 2020). De plus, les taux de faux négatifs (dus à des amorces / sondes mal conçues ou à une mutation virale dans la région du génome ciblée) de ces tests doivent être évalués par plusieurs laboratoires. Pour une application environnementale, la sensibilité de ces méthodes RT-qPCR doit être évaluée. La principale limitation de la qPCR est qu'elle ne fournit pas d'informations sur la viabilité. Un protocole normalisé pour récupérer et détecter le SARS-CoV-2 à partir d'échantillons de l'environnement, y compris la méthode de concentration, l'analyse PCR et les contrôles de processus, devrait être établi. »

**Il n'existe au moment de lancement de cette étude (ni à la date de rédaction de ce rapport) aucune méthode quantitative reconnue disponible pour l'analyse de SARS-CoV-2 dans les boues que ce soit par RT-PCR ou cultures cellulaires. En considérant le besoin de qualité des données et de nécessité de faire référence au caractère infectieux des virus pour répondre à la question de l'épandage de boues non hygiénisées, le COPIL a par conséquent décidé de suivre les recommandations de l'avis Anses du 27 mars 2020 en ciblant certains bactériophages fécaux plus résistants que les coronavirus et pour lesquels il existe des méthodes reconnues.**

### 1.2.2 Intérêt des bactériophages comme indicateurs

Les bactériophages (ou phages) sont des virus bactériens. Trois catégories de bactériophages fécaux ont été proposées en tant qu'indicateurs alternatifs de pollution fécale d'origine virale dans le milieu hydrique : il s'agit des coliphages somatiques, des bactériophages à ARN F-spécifiques et des phages de *Bacteroides fragilis*. Seuls les deux premiers ont été considérés pour cette étude.

**Les bactériophages ARN F-spécifiques** appartiennent à la famille des *Leviviridae* regroupant plusieurs génogroupes. Ils ne possèdent pas d'enveloppe et sont constitués uniquement d'une capsid de nature protéique à l'intérieur de laquelle se trouve un acide nucléique (ARN) qui est le support de l'information génétique. Ces virus de 20-30 nm de diamètre font partie des virus les plus petits connus à l'heure actuelle. Ils infectent certaines entérobactéries par l'intermédiaire de leurs pili sexuels (F pili). Ces bactériophages sont utilisés comme modèles car ils présentent des tailles proches de celles de virus nus tels que le poliovirus ou le virus de l'hépatite A.

**Les coliphages somatiques** appartiennent à quatre familles différentes : *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* et *Microviridae*. Ils sont définis par leur capacité à infecter les entérobactéries par l'intermédiaire d'un récepteur situé au niveau de leur paroi. Ce sont des virus nus. La plupart des coliphages somatiques possèdent un génome à ADN et possèdent souvent une structure tête-queue. Ils représentent donc un groupe très hétérogène de virus en termes de structure (Ackermann, 2009).

Sur la base des constats de la partie 1.2.1 et en cohérence avec les recommandations de la saisine ANSES (Saisine n° 2020-SA-0043) reprises ci-après « Le dénombrement des bactériophages permet une évaluation rapide (24 h) de l'effet hygiénisant des traitements ». Les deux types de bactériophages sont parfaitement complémentaires pour suivre l'efficacité d'un traitement puisque les coliphages somatiques sont par exemple plus résistants que les phages ARN F-spécifiques à l'impact de la chaleur et du pH alcalin alors que c'est l'inverse pour les traitements de désinfection par les UV ou les traitements physiques (filtration des eaux, adsorption). La revue de la littérature de Jofre *et al.* (2016) conclut à rechercher les deux types de phages pour évaluer un traitement.

Le suivi du niveau d'abattement des formes infectieuses (et pas seulement du génome) de ces indicateurs viraux d'efficacité de traitement, permet de supposer un abattement supérieur en SARS-CoV-2 (virus enveloppé). Au moins un des deux types de bactériophages est toujours au moins aussi résistant que les virus nus pathogènes. A leur tour, les virus nus sont plus résistants que les virus enveloppés. Ces données ont été synthétisées dans la saisine de l'ANSES (Saisine n° 2020-SA-0043) pour la chaleur et le pH qui sont les deux paramètres majeurs de l'inactivation virale dans les boues.

Ainsi, les bactériophages ARN F-spécifiques et les coliphages somatiques sont considérés comme des indicateurs pertinents pour évaluer l'efficacité des traitements appliqués à des eaux résiduaires ou à des boues vis-à-vis du SARS-CoV-2 », le COPIL a donc décidé de conduire l'étude sur ces deux types de bactériophages.

Le tableau ci-dessous reprend les caractéristiques d'intérêt qui ont été considérées pour choisir les deux familles de bactériophages de l'étude. Les bactériophages ARN F-spécifiques et coliphages somatiques présentent des profils de résistance au pH et thermiques différents. L'analyse de ces deux types de bactériophages permettra d'obtenir des résultats plus robustes.

**Tableau 4 : Caractéristiques d'intérêt qui ont été retenues pour choisir les deux familles de bactériophages : Coliphages Somatiques et Bactériophages ARN-F (d'après Lucena et al)**

	Coliphages Somatiques	Bactériophages ARN F
Abondance dans les boues	+++	++
Méthodes normalisées	+++	+++
Faisabilité de la détection	+++	++
Temps d'obtention des résultats	4h-6h	8h-12h
Résistance à la chaleur	+++	++
Résistance à des pH élevés	+++	++

Légende : ++ : moyenne ; +++ : bonne

**Ainsi c'est sur cette base que cette étude a été construite pour que les exploitants et collectivités puissent suivre le taux d'abattement SARS-CoV-2 de manière indirecte dans les STEU ne pratiquant pas l'hygiénisation. Cette étude permet d'amener des éléments tangibles et robustes à l'ANSES afin d'ouvrir la possibilité pour les collectivités d'épandre des boues sans hygiénisation préalable. Les choix qui ont été faits sont le reflet des connaissances disponibles lors du démarrage du projet (15 avril 2020) et de compromis technico-économiques.**



## 2 MATERIELS ET METHODES

Cette partie présente les aspects méthodologiques communs à l'ensemble des deux études de ce projet. Les points spécifiques à certains volets seront détaillés dans les paragraphes ad hoc.

L'ensemble des analyses a été confié à un laboratoire unique<sup>1</sup> afin de ne pas introduire d'effets laboratoires dans l'étude.

### 2.1 METHODES D'ANALYSE DES BACTERIOPHAGES

Les protocoles mis en œuvre dans cette étude sont issus du projet **HORIZONTAL - HYG<sup>2</sup>** qui avait pour objectif de développer une norme d'analyse de phages dans les boues (Lucena et al, 2007). La méthode développée a été soumise à une comparaison interlaboratoires au niveau européen. Cette CIL a permis de démontrer sa transférabilité et d'obtenir des données de fidélité qui ont conduit à sa reconnaissance.

#### 1-Homogénéisation

Les échantillons sont homogénéisés au blender pendant 30s avant prélèvement d'une prise d'essai de  $25 \pm 0,1$ g (poids humide) contrôlée gravimétriquement. Cette prise d'essai est ensuite transférée dans un contenant stérile hermétique d'un volume minimal de 500mL.

#### 2-Elution

Une solution tampon stérile est ajoutée jusqu'à atteindre un volume de 250mL. Un barreau aimanté stérile est ajouté et l'échantillon est agité pendant 15 à 20 minutes à température ambiante.

NOTE Pour les boues chaulées, ajuster le pH de l'échantillon ( $7,2 \pm 0,5$ ) avec une solution d'acide chlorhydrique à 1 M. Si le pH descend en-dessous de 4,5, un nouvel échantillon doit être préparé.

#### 3- Clarification

L'échantillon est transféré dans un tube stérile et centrifugé à 4000g à une température de  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 30 min, le surnageant est récupéré.

#### 4-Décontamination

Le surnageant est récupéré à l'aide d'une seringue stérile et filtré à l'aide d'un filtre seringue avec une membrane polyethersulphone de taille de pores  $0,2 \mu\text{m}$ .

Le volume total à décontaminer dépend de la densité de bactériophages et donc du type de boues.

Le filtrat est récupéré dans un flacon stérile hermétique et transféré immédiatement à  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  jusqu'à l'énumération qui doit être réalisée dans les 12 h.

#### 5- Enumération et dénombrement des bactériophages

L'énumération et le dénombrement des bactériophages sont réalisés selon les normes françaises (NF) en vigueur. Les bactériophages ARN F-spécifiques et les coliphages somatiques sont analysés en suivant respectivement les principes de la norme NF EN ISO 10 705-1 et de la norme NF EN ISO 10705-2.

<sup>1</sup> Le processus de sélection du laboratoire a fait l'objet d'un travail spécifique. Un cahier des charges techniques a été préparé et envoyé à deux laboratoires connus par le COPIL pour leur expérience dans l'analyse des bactériophages. Des entretiens individuels ont été réalisés et ont permis d'évaluer la qualité technique des réponses proposées par ces laboratoires. Ce travail a été présenté au COPIL qui a choisi le laboratoire. Ce laboratoire est Eurofins Expertise Microbiologique France qui est reconnu comme compétent pour réaliser des études large échelle (coordination et gestion de flux d'échantillons importants dans des conditions spécifiées exigeantes en termes de délai et de contrôle de température des enceintes frigorifiques) et également l'analyse de phages dans les eaux usées.

<sup>2</sup> **HORIZONTAL STANDARDS ON HYGIENIC PARAMETERS FOR IMPLEMENTATION OF EU DIRECTIVES ON SLUDGE, SOIL AND TREATED BIO-WASTE SSPI-CT-2004- 513660**

### 6- Détermination du taux de matière sèche

Une analyse du taux de matière sèche est réalisée sur chaque échantillon selon les principes de la norme NF EN 12880. Ce taux de matière sèche est nécessaire pour calculer les concentrations en bactériophages en UFP / g de matière sèche.

### 7 Expression des résultats

Les résultats sont exprimés par le laboratoire en UFP/g de matière brute (UFP : Unités Formant Plages).

Dans le cadre des interprétations de résultats réalisées dans ce rapport, les données sont corrigées des valeurs de matière sèche et transformées pour être exprimées sous forme de logarithme (Log 10) afin de permettre une comparaison des données.

## **2.2 ASSURANCE QUALITE / CONTROLE QUALITE**

Afin de fiabiliser les données de l'étude, des contrôles qualité ont été associés à chaque série d'analyses selon les recommandations des normes en vigueur. Les principes de la NF EN ISO 10705-3 Qualité de l'eau - Détection et dénombrement des bactériophages - Partie 3 : validation des méthodes de concentration des bactériophages dans l'eau ont été appliqués.

Pour les bactériophages ARN-F-spécifiques :

- témoin négatif : krypton sel.
- témoin positif : une suspension de phage MS2 (dilution adaptée pour obtenir entre 30 et 300 phages par boîte) avec et sans RNase.

Pour les bactériophages somatiques :

- témoin négatif : tryptone sel.
- témoin positif : une suspension de phage Bactériophage  $\Phi$ X174 (ATCC 13706-B1) (dilution adaptée).

L'ensemble des résultats de ces contrôles qualité ont été restitués (non présentés) et ont permis de qualifier les résultats des mesures sur les échantillons de l'étude en vue de leur exploitation.

## **2.3 PERFORMANCES DE LA METHODE**

Les principes de la NF EN ISO 10705-3 Qualité de l'eau - Détection et dénombrement des bactériophages - Partie 3 : validation des méthodes de concentration des bactériophages dans l'eau ont été appliqués.

Une synthèse des performances obtenues sont résumées ci-après.

### **Limite de détection / limite de quantification :**

Les limites de quantification et de détection sont les mêmes pour les bactériophages ARN-F-spécifiques et bactériophages somatiques et sont présentées ci-dessous (exprimées en g de matière brute MB).

	Coliphages somatiques	Bactériophages ARN F
<b>Limite de quantification</b>	40 UFP/g MB	40 UFP/g MB
<b>Limite de détection</b>	10 UFP/g MB	10 UFP/g MB

**Rendements :**

Les rendements par type de matrice et par type de phages sont présentés ci-dessous.

Matrice	Coliphages somatiques	Bactériophages ARN F
<b>Boues liquides</b>	56%	85%
<b>Boues déshydratées</b>	48%	73%
<b>Boues chaulées</b>	46%	86%

**Incertitudes de mesures :**

Les incertitudes relatives élargies (k=2) par type de matrice et par type de phage sont présentées ci-dessous.

Matrice	Coliphages somatiques	Bactériophages ARN F
<b>Boues liquides</b>	18%	22%
<b>Boues déshydratées</b>	22%	24%
<b>Boues chaulées</b>	17%	23%

Il est à noter que les matrices ayant servi à la validation de la méthode d'analyse des bactériophages, incluant l'étape d'extraction dans les échantillons de boues sont caractérisées par des taux de matières sèches suivants :

Matrice	Taux de matière sèche
<b>Boues liquides</b>	0,4 – 2 %
<b>Boues déshydratées</b>	77 – 92 %
<b>Boues chaulées</b>	28 – 38 %

Les performances de la méthode mise en œuvre sont satisfaisantes et compatibles avec les objectifs de cette étude. Il est à noter que ces dernières ont été déterminées sur des matrices représentatives des types d'échantillons faisant l'objet de cette étude. Enfin, les résultats des contrôles qualité (contrôles positifs et blancs ; données non présentées) soutiennent l'exploitabilité des données acquises sur les 3 mois de l'étude.

### 3 ETUDE CINETIQUE

L'objectif est d'étudier la cinétique d'abattement des bactériophages somatiques et des bactériophages ARN F-spécifiques dans le temps en fonction de conditions thermiques, dans des conditions contrôlées. Elle permettra également de consolider le deuxième volet du travail sur l'étude de filières de stockage des boues.

La réduction des agents pathogènes pendant le traitement secondaire peut être due à l'élimination physique ou à l'inactivation. Il a été universellement démontré que des températures plus élevées sont associées à une inactivation rapide des virus entériques, et la température est reconnue comme le facteur le plus influent pour la survie virale dans l'eau en raison de la dénaturation accrue des protéines et de l'activité des enzymes extracellulaires (Pinon et Vialette, 2018 d'après revue La Rosa et al., 2020). La bibliographie met en avant un spectre très hétérogène de conditions d'étude d'abattement que ce soit en température (de 5°C à plus de 70°C), milieu d'essai (de simples liquides stériles à des surfaces solides) (d'après Avis Anses 27 mars 2020). Il n'existe que de très rares références sur des matrices complexes comparables à celles mises en œuvre au sein du présent travail et leurs résultats ne sont donc pas directement utilisables pour répondre aux questions de cette étude.

#### 3.1 CHOIX DE LA MATRICE D'ESSAI

Il est reconnu que la préparation de matériau par le dopage de suspension virale est extrêmement complexe à mettre en œuvre, peu reproductible et n'aboutit pas un échantillon représentatif des échantillons naturels. En effet, dans les boues, les virus sont présents soient sous forme libre ou adsorbés aux particules (Funderburg et al., 1985; Ketranakul et al., 1991; Armon and Kott, 1996; Araujo et al., 1997 cités par Lucela et al. 2007). Pour cette raison, le recours à une boue naturellement contaminée en phages a été privilégié. Le choix s'est porté sur des boues activées en aération prolongée qui est un procédé très largement mis en œuvre dans les STEU en France.

La STEU de Reims a été sélectionnée pour fournir les matériaux d'essai aux motifs de :

- Sa taille (470 000 EH) et le type de traitement de la filière eau (Boues activées faible charge) permettant de sécuriser une teneur importante en bactériophages du matériau d'essai soumis à l'étude de cinétique, avec un taux de matière sèche compris entre 0,5 % et 2 %, typique des boues liquides avant traitement et stockage,
- Sa proximité par rapport au site du laboratoire permettant ainsi un temps minimal de transport,
- L'accord de l'exploitant de s'impliquer dans ce travail.

#### 3.2 CHOIX DE LA DUREE ET DES CONDITIONS THERMIQUES DE STOCKAGE

##### Conditions thermiques

Idéalement la température doit être testée dans des gammes de températures observées lors du traitement des boues au cours d'une année sur les STEU de plus de 2 000 EH tout en gardant une certaine représentativité. C'est-à-dire que les conditions appliquées ne soient pas spécifiques d'une filière de traitement/stockage des boues (ex boues mésophiles, plancher chauffant). A la suite d'échanges au sein du COPIL, il est apparu qu'il y avait une

faible connaissance des températures réellement rencontrées dans les différentes filières boues car ce paramètre ne fait a priori pas l'objet de suivi en continu. Initialement, trois conditions de températures avaient été envisagées : 5°C (conditions extrêmes minimales, conditions hivernales), 20°C (conditions médianes) et 35°C (conditions extrêmes chaudes, conditions estivales et DROM). Pour des contraintes techniques : difficultés de stocker pendant 3 mois des échantillons dans une enceinte contrôlée à 35°C, cette condition n'a finalement pas été retenue.

Deux conditions thermiques ont ainsi été définies :  $5^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et  $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### Conditions temporelles

A la suite d'échanges au sein du COPIL, il a été décidé de réaliser l'étude sur une période maximale de 3 mois. Cette période est représentative des périodes de stockage des boues avant épandage. Afin de pouvoir construire une courbe cinétique pour connaître l'abattement dans le temps, des pas de temps intermédiaires ont été définis : J0, J7, J14, J21, J28, J42, J56, J96 (Jfinal égal à 3 mois).

### 3.3 PROTOCOLE GENERAL D'ETUDE DE LA CINETIQUE D'ABATTEMENT

Pour répondre aux contraintes de cette étude, une approche chronologique, illustrée dans la figure ci-dessous, est mise en œuvre pour évaluer la cinétique de l'abattement des bactériophages, et disposer des résultats au fur et à mesure.

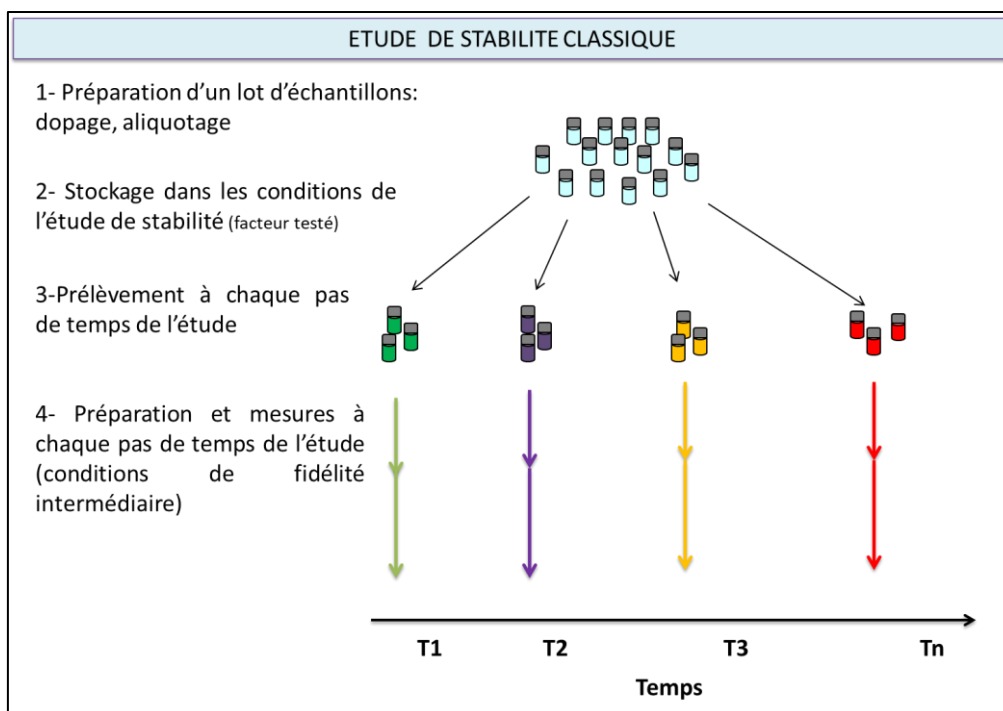


Figure 1 : Illustration schématique des principes d'une étude de stabilité chronologique

Ce travail est basé sur des travaux réalisés par AQUAREF (Lardy-Fontan et al. 2016) et repris dans le projet de norme ISO/TD 5667:25.

De manière générale, il est recommandé de séparer l'échantillon de boue brute en lots selon le nombre de conditions testées et le nombre de pas de temps de l'étude. Il est généralement préférable de ne pas prélever plusieurs fois dans le temps dans le même

flacon pour ne pas engendrer de biais (liées par exemple à des multiples ouvertures/fermetures du flaconnage, multiples étapes d'homogénéisation). Ces recommandations ont été mises en œuvre dans cette étude. De même, afin de recueillir des données plus robustes, à chaque pas de temps et pour chaque condition, des analyses de triplicats sont réalisées. Afin de rationaliser le nombre de flacons à préparer, les analyses de réplicats seront réalisées au sein d'un même flacon et non entre différents flacons, l'homogénéité intra et interflacons ayant été vérifiée à J0.

L'ensemble de l'étude a été réalisé en appliquant un principe de randomisation.

### **A J0 :**

Objectifs :

- Caractérisation de la teneur en bactériophages ARN F-spécifiques et en coliphages somatiques.
- Caractérisation de l'homogénéité (intra et inter flacons) de l'échantillon indispensable pour pouvoir interpréter les résultats des études cinétiques
  - ⇒ 3 flacons sélectionnés aléatoirement avec 3 prises d'essai par flacons. Soit un nombre total de 9 mesures pour chaque type de bactériophages.
- Caractérisation de la boue brute en matière sèche.
  - ⇒ 1 détermination par flacon soit 3 analyses

Placer les différents flacons de boue dans les différentes conditions de températures (2).

### **A chaque pas de temps :**

Sélectionner de manière aléatoire un flacon dans chaque condition de l'étude (température) et réaliser une analyse en triplicats pour chaque type de bactériophages et une analyse des matières sèches.

- ⇒ Pour un pas de temps soit un nombre total de 6 mesures pour chaque type de bactériophages et 2 mesures de matières sèches.

Que ce soit à J0 et pour tous les pas de temps de l'étude, le flacon est homogénéisé avant de procéder à toute prise d'essai.

Le tableau ci-dessous présente une synthèse du plan d'essais de l'étude cinétique.

**Tableau 5 : Synthèse du protocole de l'étude cinétique**

	25/05/20	Prélèvement de 20 L de boues liquides – STEU de Reims (470 000 EH)	
<b>J0</b>	26/05/20	Réception des 20L de boues liquides Homogénéisation et répartition des boues liquides dans 20 flacons 3 flacons, 3 prises d'échantillon par flacon pour analyses	
		<b>Condition de température : 5°C</b>	<b>Condition de température : 20°C</b>
<b>J7</b>	02/06/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses
<b>J14</b>	09/06/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses
<b>J21</b>	16/06/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses
<b>J28</b>	23/06/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses
<b>J42</b>	07/07/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses
<b>J56</b>	21/07/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses
<b>J96</b>	31/08/20	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses	1 flacon, 3 prises d'échantillon pour analyses

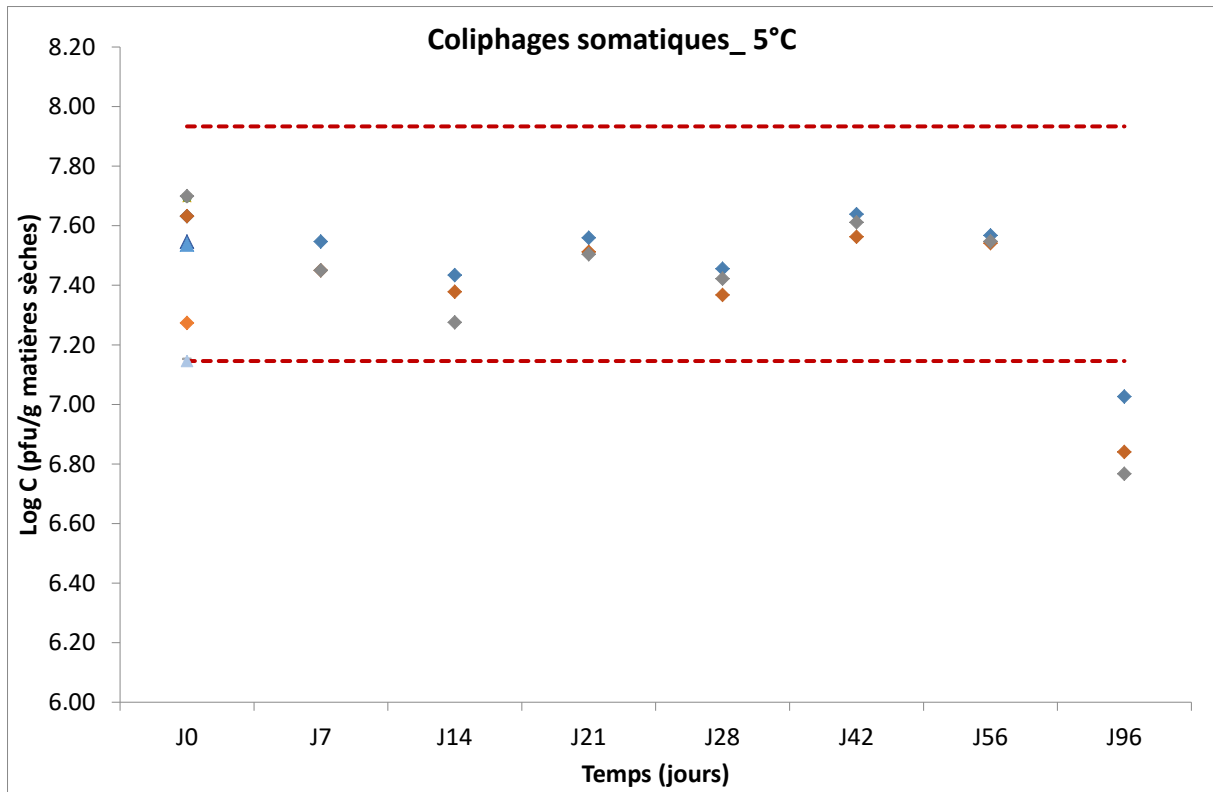
### 3.4 RESULTATS

#### 3.4.1 Etude de stabilité

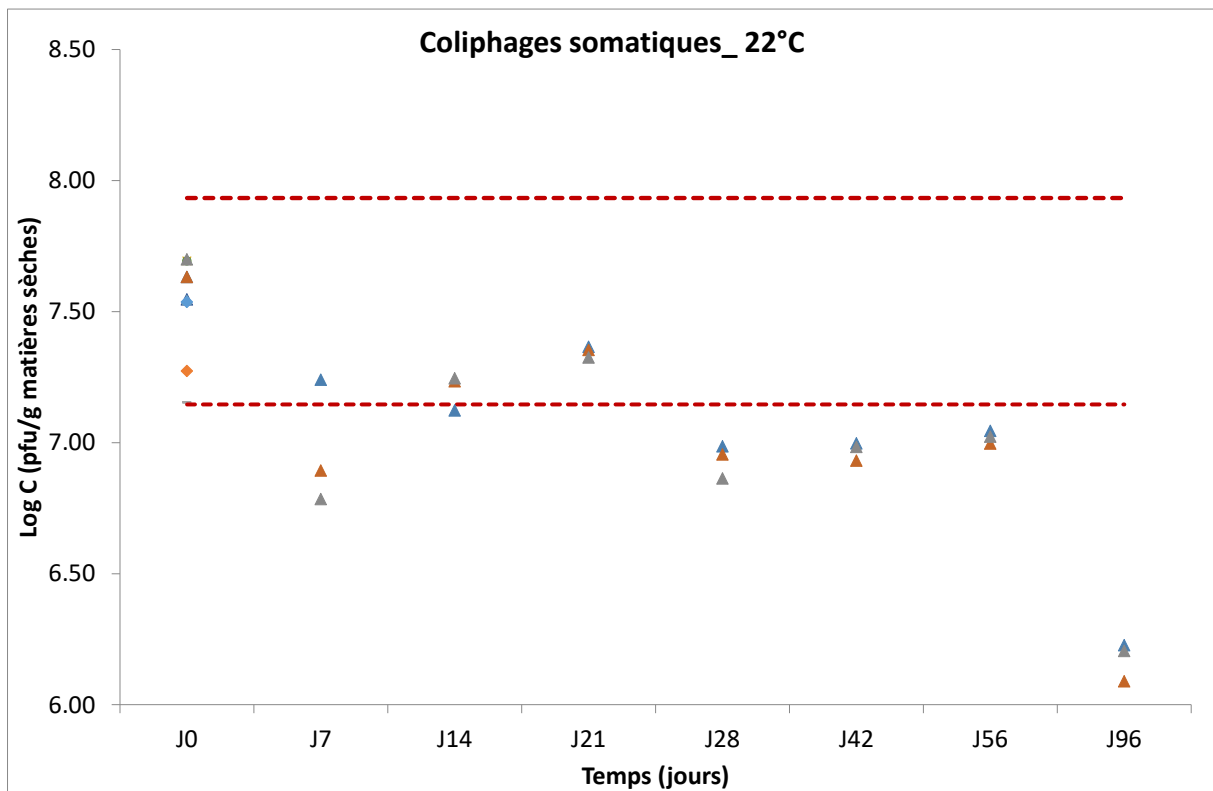
Les résultats obtenus lors de l'étude cinétique sont présentés dans la Figure 2 pour les coliphages somatiques (à 5°C et 22°C) et dans la Figure 3 pour les ARN F-spécifiques. Les pointillés rouges représentent l'écart minimal par rapport à la valeur assignée du paramètre dans l'échantillon à J0, pouvant être attribué à de l'instabilité, de manière univoque. Cet écart prend en compte l'inhomogénéité du matériau d'essai et la variabilité intrinsèque de l'ensemble des résultats de mesure dans le temps. C'est sur la base de cette limite que se fait la première évaluation de la stabilité : une tendance significative est observée quand plusieurs points successifs se situent en dehors de la zone définie par les pointillés rouges.

Sur la base des illustrations présentées en Figure 2 et Figure 3, les éléments notables suivants peuvent être mis en avant :

- Les niveaux initiaux (J0) de concentrations en coliphages somatiques et en bactériophages ARN F-spécifiques et le taux de matière sèche mesurés dans la boue sélectionnée sont du même ordre de grandeur que ceux déterminés dans les boues liquides des stations d'épuration retenues dans l'étude de filières. Cette grande cohérence des résultats observés permet de conclure d'une part en la robustesse des méthodologies sélectionnées et mises en œuvre en laboratoire et d'autre part en la représentativité du matériau d'essai sélectionné.
- Tout au long de l'étude cinétique, le taux de matière sèche (<1% matières sèches) du matériau d'essai est resté stable (données présentées) quelle que soit la température de stockage (5°C, 22°C).
- 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.
- Ces données sont cohérentes avec les hypothèses initiales de ce travail avec une stabilité des coliphages somatiques supérieure à celle des bactériophages ARN F-spécifiques vis-à-vis de la chaleur.



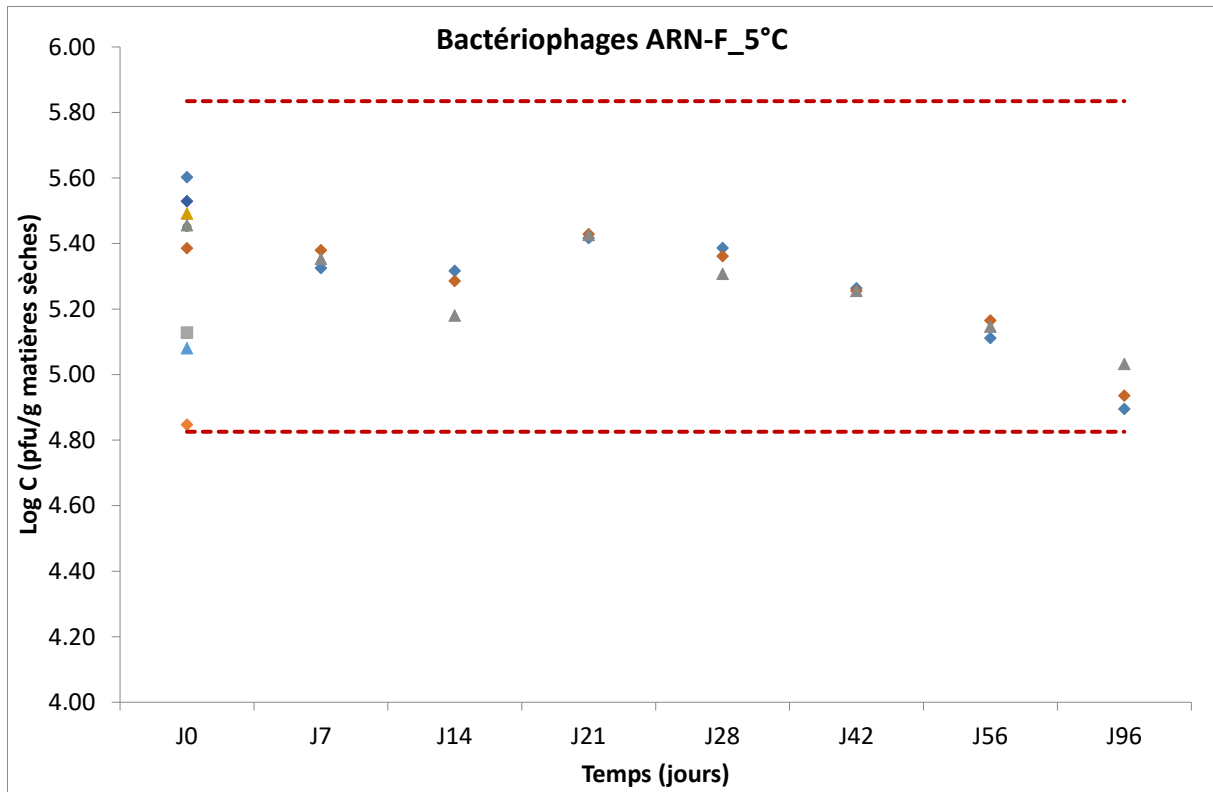
a)



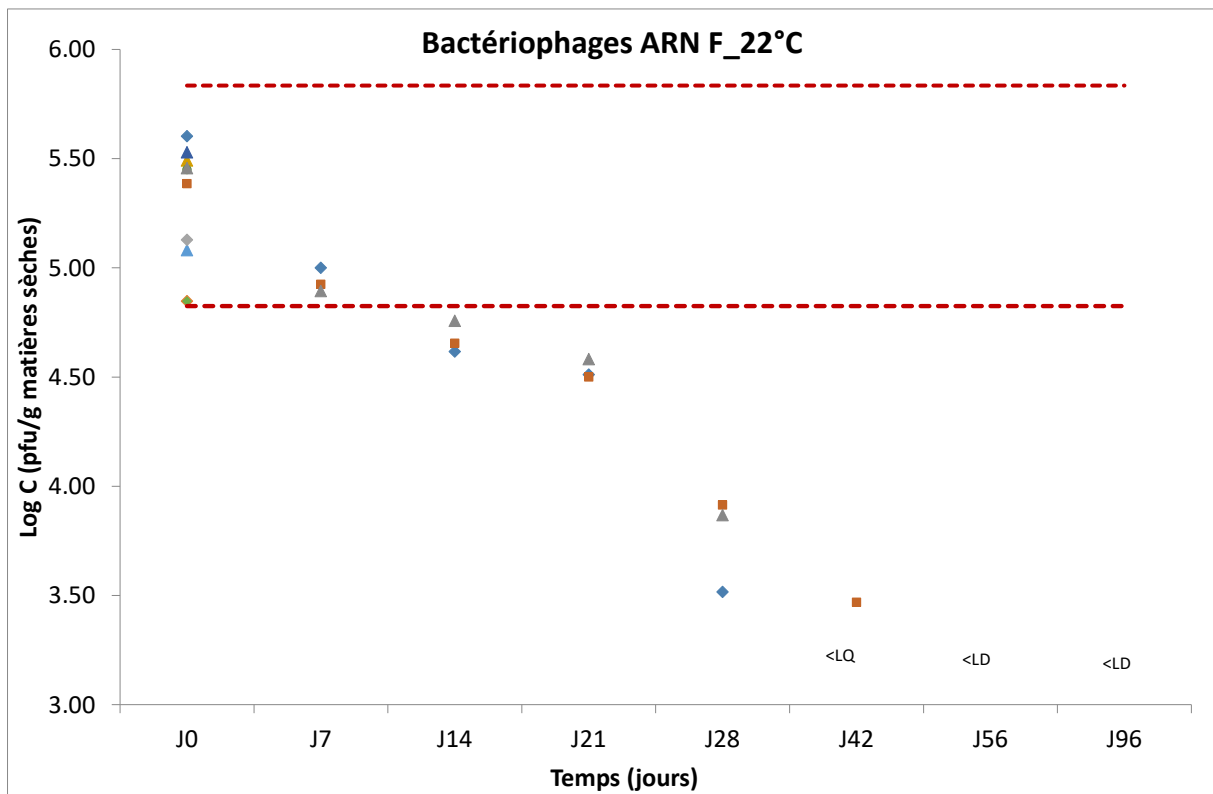
b)

**Figure 2 : Evolution des concentrations (log (pfu/g matières sèches)) en coliphages somatiques au cours du temps dans des conditions de stockage spécifiées a) à 5°C et b) 22°C**





a)

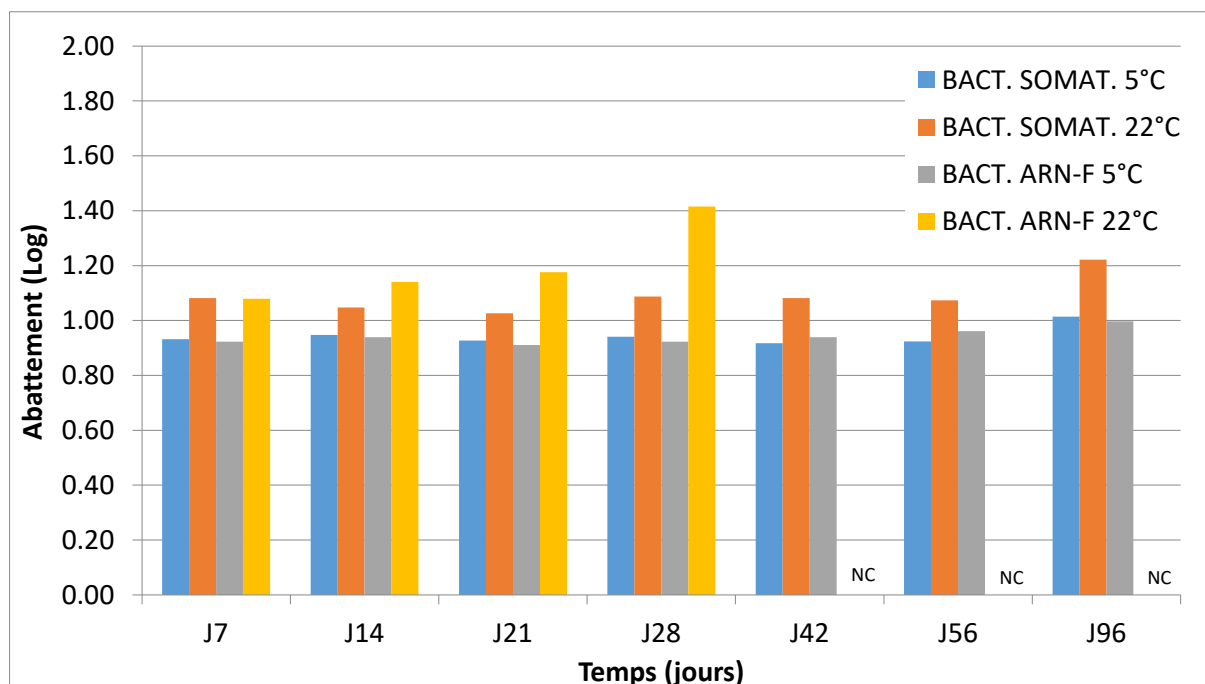


b)

Figure 3 : Evolution des concentrations (log (pfu/g matières sèches)) en bactériophages ARN F-spécifiques au cours du temps dans des conditions de stockage spécifiées a) à 5°C et b) 22°C

### 3.4.1 Evaluation de l'abattement

Sur la base des données cinétiques présentées en paragraphe 3.4.1, les taux d'abattement ont été estimés à chaque pas de temps de l'étude (Figure 4). Les taux d'abattement sont faibles et voisins de 1 Log, y compris après 3 mois de stockage. Les tendances qui semblent émerger à J96 mériteraient d'être confirmées par une étude cinétique plus longue. Ces données sont cohérentes avec le taux de matière sèche stable observée au cours de l'étude.



**Figure 4 : Estimation de l'abattement en coliphages somatiques et ARN F-spécifiques au cours du temps dans des conditions de températures contrastées (5°C, 22°C)**

NC : abattement non calculé car les données mesurées sont < au seuil de détermination de la méthode

Pour conclure l'ensemble des résultats observés au travers de cette étude permet d'amener des éléments expérimentaux objectifs étayant les hypothèses initiales de l'étude des filières et utiles pour leur interprétation.

## **4 ETUDE DE L'ABATTEMENT DES BACTERIOPHAGES DANS LES BOUES DE STATIONS DE TRAITEMENT DES EAUX USEES**

Une étude en conditions réelles a été réalisée pour évaluer le taux d'abattement des bactériophages ARN F-spécifiques et des coliphages somatiques sur les boues brutes avant et après stockage sur une sélection de station de traitement des eaux usées (STEU) utilisant des procédés de traitements des boues différents.

### **4.1 SELECTION DES STATIONS DE TRAITEMENT DES EAUX USEES**

La sélection des stations participantes doit être la plus représentative possible des différentes situations et contextes de stockage des boues liquides existants sur le territoire national.

Les critères considérés pour sélectionner les STEU sont :

- Taille de la station en équivalent-habitant EH (très petites, petites, moyennes et grandes stations)
- Répartition géographique sur le territoire métropolitain
- Type de traitement des boues.

La sélection des stations a été réalisée conjointement par la FP2E et la FNCCR qui ont sollicité les exploitants de stations pour participer à cette étude sur la base du volontariat. 42 STEU ont participé à cette étude (Tableau 6).

**Tableau 6 : Liste des STEU ayant participé à l'étude (nom, département, taille en EH, type de traitement de boues – voir § 4.3 pour la description des traitements et stockages de boues**

Nom de la STEU	Département	Taille (EH)	Procédé de traitement
Laon	02	40 000	Boues chaulées après déshydratation par filtre-presse
Les Martres de Veyre	63	32 600	Boues chaulées filtre-presse
Pons	17	9 800	Boues chaulées filtre-presse
Saint-Dizier	52	50 000	Boues chaulées filtre-presse
Schwindratzheim	67	12 000	Boues chaulées filtre-presse
Dreux	28	86 667	Boues chaulées post-chaulage
Fécamp	76	40 000	Boues chaulées post-chaulage
Isles sur Suipe	51	12 000	Boues chaulées post-chaulage
Sin le Noble	59	23 000	Boues chaulées post-chaulage
Audeux	25	500	Boues liquides avec stockage non aéré
Cintré	35	1 500	Boues liquides avec stockage non aéré
Crèche	71	19 000	Boues liquides avec stockage non aéré
CT Evron / Ste Gemmes le Robert	53	800	Boues liquides avec stockage non aéré
Mamirolle	25	3 000	Boues liquides avec stockage non aéré
Saint Anne sur Brivet	44	36 250	Boues liquides avec stockage non aéré
Saint Genis de Saintonge	17	1 300	Boues liquides avec stockage non aéré
Savigny	69	2 200	Boues liquides avec stockage non aéré
Val Saint Germain	91	3 000	Boues liquides avec stockage non aéré
Valmont	76	4 000	Boues liquides avec stockage non aéré
St-Lisier	09	41 000	Centrifugation et stockage en benne
Cholet	49	116 000	Digestion anaérobie mésophile
Les Mureaux	78	120 500	Digestion anaérobie mésophile
Port-Douvot	25	188 000	Digestion anaérobie mésophile
Chevanceaux	17	1 100	Filtre planté de roseaux (rhizocompostage)
Devecey-Bonnay	25	4 667	Filtre planté de roseaux (rhizocompostage)
Le Verdon	33	5 000	Filtre planté de roseaux (rhizocompostage)
Marchaux	25	2 500	Filtre planté de roseaux (rhizocompostage)
Romillé	35	2 500	Filtre planté de roseaux (rhizocompostage)
Torcé Viviers en Charnie	53	700	Filtre planté de roseaux (rhizocompostage)
Espondeilhan	34	1 800	Filtre planté de roseaux (rhizofiltration)
Francheleins Champ les Vignes	01	1 000	Filtre planté de roseaux (rhizofiltration)
Houdancourt	60	600	Filtre planté de roseaux (rhizofiltration)
Lude-Mailly	51	2 500	Lit de séchage
Trépail	51	800	Lit de séchage
Verzy	51	1 500	Lit de séchage
Chartres	28	160 000	Serre solaire avec plancher chauffant
Evron - Cepur	53	16 500	Serre avec plancher chauffant
Laillé	35	5 500	Serre avec plancher chauffant
Aups	83	5 500	Serre solaire
Brenouille /Pont Sainte Maxence	60	40 000	Serre solaire
Gemozac	17	2 200	Serre solaire
Névez	29	5 000	Serre solaire

La répartition des STEU en fonction de leur taille (nombre d'équivalent-habitant) est présentée dans la Figure 5. La moitié des STEU présentent une taille de moins de 5 000 EH.

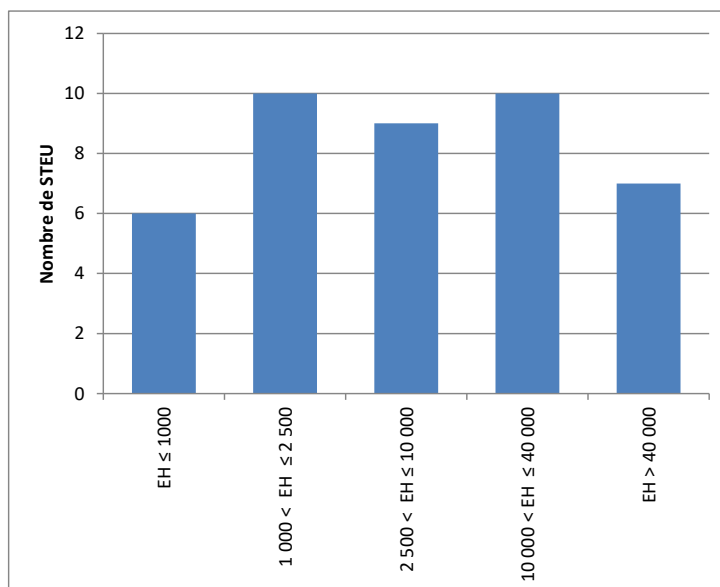


Figure 5 : Répartition des STEU en fonction de leur taille, exprimée en équivalent-habitant (EH)

La répartition géographique des STEU a été réalisée est illustrée en Figure 6. L'ensemble des 12 régions de la métropole est représenté, assurant ainsi une couverture nationale pour l'étude.

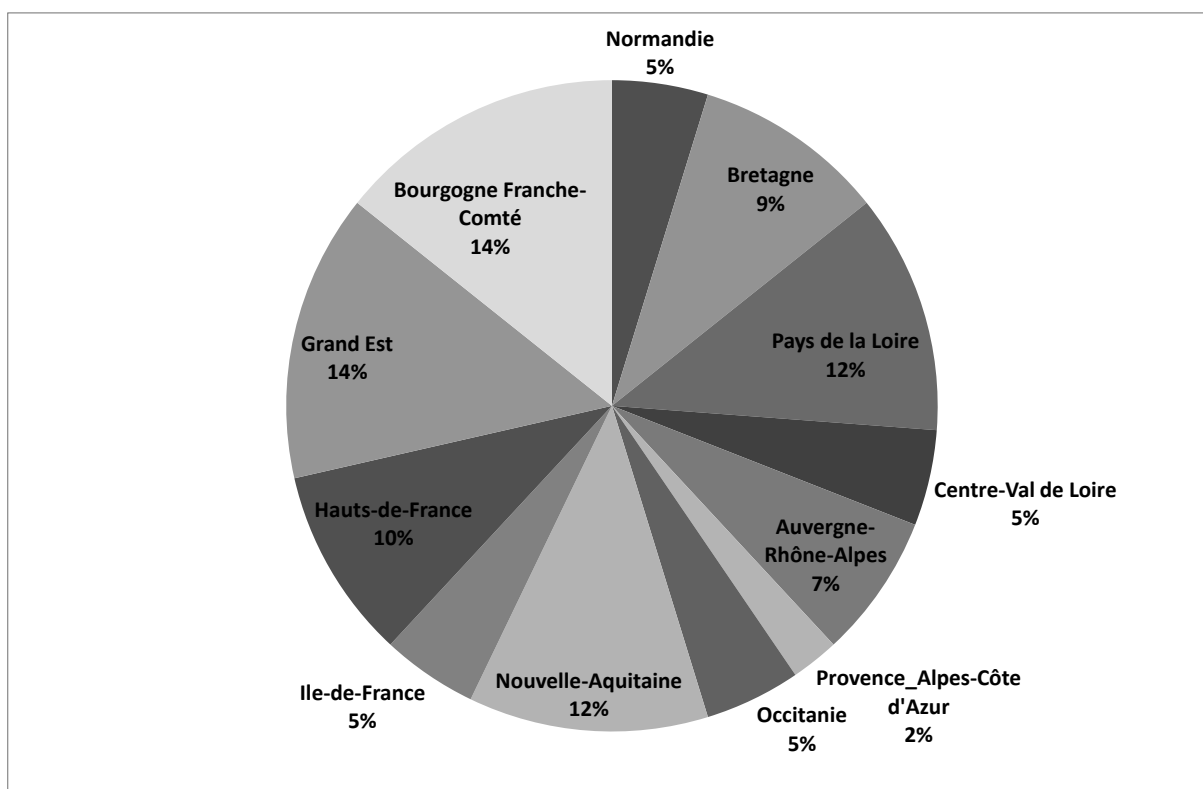


Figure 6 : Répartition des STEU en fonction de leur localisation géographique (Régions).

Afin d'avoir une bonne représentativité des types de traitement mis en œuvre pour les boues issues des STEU, une variété de types et conditions de traitement a été considérée. Ainsi ont été sélectionnés dix types de stockage différents, comme le stockage non aéré de boues

liquides, le chaulage des boues, les filtres plantés de roseaux, les serres, les lits de séchage et la digestion anaérobie mésophile.

La répartition des STEU en fonction des typologies de traitement se trouve dans le Tableau

7. Les quatre types de traitement les plus représentés sont :

- 1) le stockage de boues liquides en conditions non aérées (en silo)
- 2) les boues chaulées (filtre presse et post chaulage)
- 3) les filtres plantés de roseaux (rhizocompostage et rhizofiltration)
- 4) le séchage en serre (solaire ou avec plancher chauffant) avec entre 7 et 10 STEU pour chacun de ces types de stockage.

Seulement 3 STEU mettent en œuvre la digestion anaérobie mésophile et le lit de séchage, ce qui pourrait limiter l'interprétation sur ces deux filières.

Type de traitement et de stockage	Nombre de STEU
<b>Stockage non aéré de boues liquides</b>	10
<b>Centrifugation et stockage en benne</b>	1
<b>Boues chaulées</b>	
- Filtre presse	5
- Post chaulage	4
<b>Lit de séchage</b>	3
<b>Filtre planté de roseaux (FPR)</b>	
- Rhizofiltration	3
- Rhizocompostage	6
<b>Serre solaire</b>	4
<b>Serre avec plancher chauffant</b>	3
<b>Digestion anaérobie mésophile</b>	3

Tableau 7 : Répartition des STEU en fonction du type de stockage (voir § 4.3 pour la description des traitements et stockages de boues)

## 4.2 PRELEVEMENTS ET ANALYSES DE BOUES BRUTES ET STOCKEES

### Prélèvements

Les prélèvements des boues brutes et des boues après traitement et stockage ont été réalisés par les exploitants des stations, conformément aux prescriptions de l'arrêté du 8 janvier 1998. Dans le cas des boues chaulées, des prélèvements de boues stockées à 2-3 semaines et à 3 mois ont été réalisés afin d'intégrer la diversité et l'âge des lots de boues stockées. Les boues des 42 STEU ont été prélevées entre le 25 mai 2020 et le 16 juillet 2020.

Prélèvement des boues liquides : les boues sont homogénéisées avant prélèvement entre trente minutes et deux heures. Les échantillons représentatifs des boues soumis à l'analyse sont constitués de quatre séries de 5 prélèvements élémentaires de deux litres.

Prélèvement des boues solides (échantillonnage sur un lot) : les échantillons représentatifs des boues soumis à l'analyse sont constitués de 25 prélèvements élémentaires uniformément répartis en différents points et différentes profondeurs du lot de boues destinées à être épandues. Les prélèvements sont effectués à l'aide d'une sonde en dehors de la croûte de surface et des zones où une accumulation d'eau s'est produite. Les prélèvements élémentaires sont mélangés dans un récipient ou sur une bâche et donnent, après réduction, un échantillon d'un kilogramme environ envoyé au laboratoire.

### Analyses

Les analyses de bactériophages ARN F-spécifiques, coliphages somatiques et de matière sèche ont été réalisées par le laboratoire Eurofins Expertise Microbiologie France (voir §2

pour les protocoles mis en œuvre ainsi que les performances des méthodes d'extraction et analyse des bactériophages dans les boues).

Le laboratoire s'est chargé d'envoyer des flacons stérilisés et de gérer le transport en conditions réfrigérées ( $5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) des échantillons prélevés. Un contrôle des échantillons à réception lors de l'enregistrement a été réalisé, en considérant les éléments suivants : intégrité des échantillons reçus, conformité de l'identification et nombre de flacons / sachets par rapport à la commande, délai entre l'échantillonnage et la réception, température de l'enceinte frigorifique. Par ailleurs, le délai entre l'échantillonnage et la mise en analyse par le laboratoire doit respecter un délai maximum de 72h.

### 4.3 TYPES ET CONDITIONS DE STOCKAGE DE BOUES

Pour chaque STEU participante, les conditions de stockage ainsi que l'historique du stockage ont été transmis.

#### 4.3.1 Boues chaulées

**Principe de la centrifugation et du post chaulage** (Sources : Fiche Technique 4 – Seine et Marne ; Fiche Technique 5- Seine et Marne ; Conseil Général de la Dordogne, 2011)

La séparation est effectuée dans un rotor cylindro-conique horizontal contenant une vis convoyeuse qui tourne dans le même sens que le rotor mais à une vitesse légèrement supérieure. La différence de vitesse est appelée vitesse relative. La boue à traiter, additionnée de polymères, est introduite dans la machine. Sous l'action de la force centrifuge, les solides se déposent en couche sur les parois (bol). La vitesse relative de la vis convoyeuse fait progresser le produit décanté ou sédiment vers la sortie de la machine, alors que le liquide extrait des boues se collecte au centre de la machine pour être évacué (centrat).

Le chaulage est basé sur le malaxage de la boue avec de la chaux vive (chaux issue directement de la calcination du calcaire), stockée dans un silo dont la capacité est généralement supérieure à  $20 \text{ m}^3$ . Il se produit une réaction chimique exothermique (dégageant de la chaleur) permettant l'obtention d'un produit hygiénisé ( $\text{pH} > 12$ ) et solide (siccité supérieure à 30 %).

#### Station de Dreux (28, 86 667 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	25/05/20 11h15	27/05/20 9h46	28/05/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines	25/05/20 11h20	27/05/20 9h46	28/05/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois	25/05/20 11h25	27/05/20 9h46	28/05/20

Le traitement de la station de Dreux suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore par injection de  $\text{FeCl}_3$  ; 2) épaissement par flottation ; 3) Centrifugation et 4) post-chaulage.

Le taux de chaulage est de 24 % (chaux vive  $\text{CaO/MS}$ ).

**Station de Fécamp (76, 40 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	08/06/20 11h30	9/06/20 9h26	10/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines	08/06/20 11h30	9/06/20 9h26	10/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois	08/06/20 11h30	9/06/20 9h26	10/06/20

Le traitement de la station de Fécamp suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée (BRM) ; 2) épaissement gravitaire ; 3) centrifugation et 4) post-chaulage. Le taux de chaulage est de 30 % (chaux vive CaO/MS).

**Station d'Isle sur Suippe (51, 12 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues liquides	17/06/20 9h30	18/06/20 8h30	19/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – lot récent	17/06/20 12h	18/06/20 8h30	19/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – lot ancien	17/06/20 11h30	18/06/20 8h30	19/06/20

Le traitement de la station d'Isles sur Suippe suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore par injection de FeCl<sub>3</sub> ; 2) épaissement par ajout de polymères sur une grille d'égouttage ; 3) coagulation par ajout de chlorure ferrique et floculation par ajout de lait de chaux 4) déshydratation sur filtre presse. Les boues sont stockées par lot en fonction de leur période de production. Le lot le plus ancien qui a été prélevé correspond aux boues produites entre le 18 mars et le 23 avril. Le lot le plus récent correspond à celles produites entre le 28 mai et le 16 juin. Les lots sont caractérisés par environ 5 000 à 10 000 m<sup>3</sup> de boues produites.

**Station de Sin le Noble (59, 23 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	15/06/20 10h30	16/06/20 9h47	17/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines (27-28 mai)	15/06/20 10h30	16/06/20 9h47	17/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois (9 mars)	15/06/20 10h30	16/06/20 9h47	17/06/20

Le traitement de la station de Sin le Noble suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore par injection de FeCl<sub>3</sub> ; 2) Centrifugation et 3) post-chaulage. Le taux de traitement en chaux vive est de 13%.

**Principe du filtre presse** (source Fiche Technique 4 – Seine et Marne)

Après un traitement préalable des boues (concentration sur table d'égouttage) avec ajout de différents réactifs (polymère, chlorure ferrique et lait de chaux), les boues sont pressées



entre des plateaux dotés de toiles filtrantes, à une pression voisine de 15 bars. Ces filtres peuvent être équipés de plateaux à membranes permettant d'augmenter le niveau de pressurisation avec deux objectifs principaux : réduction du temps de pressage et augmentation de la siccité du gâteau de 5 points. Le système fonctionne en discontinu et nécessite une présence humaine importante, tout particulièrement pour la phase de débâtissage. La boue produite présente une bonne qualité : produit solide et stabilisé, riche en chaux. La siccité moyenne attendue est supérieure à 30 %.

#### Station de Laon (02, 40 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	09/06/20 12h	10/06/20 10h	11/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines	09/06/20 12h	10/06/20 10h	11/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois	09/06/20 12h	10/06/20 10h	11/06/20

Le traitement de la station de Laon suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore par injection de FeCl<sub>3</sub> ; 2) épaissement par flottation ; 3) Filtre-presse avec conditionnement minéral.

Le taux de traitement de chaux éteinte est de 37% et celui de chlorure ferrique de 13%.

#### Station Les Martres de Veyre (63, 32 600 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	15/06/20 9h30	16/06/20 9h51	17/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines	15/06/20 9h45	16/06/20 9h51	17/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois	15/06/20 10h	16/06/20 9h51	17/06/20

Le traitement de la station de Martres de Veyre suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) épaissement gravitaire ; 3) Filtre-presse avec conditionnement minéral.

Le taux de traitement de chaux éteinte est de 45% et celui de chlorure ferrique de 25% (en solution commerciale à 200 g/L).

#### Station de Pons (17, 9 800 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues liquides	03/06/20 10h	04/06/20 14h44	08/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 12 jours (lot 2)	03/06/20 10h15	04/06/20 14h44	08/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 35 jours (lot 1)	03/06/20 10h30	04/06/20 14h44	08/06/20

Le début du stockage pour le lot 1 a démarré le 20 mars 2020, des apports par batch ont eu lieu jusqu'au 13 mai et l'âge moyen des boues est de 35 jours.

Le début du stockage pour le lot 2 a démarré le 19 mai 2020. L'âge moyen des boues est de 12 jours.

**Station de Saint Dizier (52, 50 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues flottées	25/05/20 13h45	27/05/20 13h	28/05/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines	25/05/20 14h	27/05/20 13h	28/05/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois	25/05/20 14h	27/05/20 13h	28/05/20

Le traitement de la station de Saint Dizier suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) épaissement par flottation ; 3) Filtre-presse avec conditionnement minéral.

**Station de Schwindrathheim (67, 12 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	03/06/20	04/06/20 10h05	04/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Zone de stockage – 3 semaines	03/06/20	04/06/20 10h05	04/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Zone de stockage – 3 mois	03/06/20	04/06/20 10h05	04/06/20

Le traitement de la station de Schwindrathheim suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore avec injection  $\text{FeCl}_3$  ; 2) épaissement dynamique ; 3) Filtre-presse avec conditionnement minéral.

Le taux de traitement à la chaux est de 30% et celui de chlorure ferrique de 18%.

Une homogénéisation avant déshydratation est effectuée. Les boues sont stockées sous aire à boues couverte.

La quantité de boues brutes est de 286 T et la siccité est de 31%.

**4.3.2 Stockage non aéré de boues liquides**

**Principe** (source : fiche technique 3 - Seine et Marne)

Les filières « boues liquides » reposent sur une pré-concentration des boues avant leur transfert dans une unité de stockage. Il existe trois manières de concentrer les boues :

- Concentration directe dans l'ouvrage de stockage par le biais d'un drain, d'une jauge mobile ou d'une pompe immergée, solution non recommandée puisqu'elle manque d'efficacité et génère des problèmes sur la filière de traitement des eaux (retour de surnageants de mauvaise qualité).
- Concentration par le biais d'un épaisseur, petit silo en béton de quelques dizaines de  $\text{m}^3$ , le temps de séjour des boues dans l'ouvrage ne dépassant pas 48 heures.
- Concentration à l'aide d'une table ou d'une grille d'égouttage, matériel placé sur le silo ou dans un local qui est constitué d'une toile ou d'une grille sur laquelle les boues, associées à un produit permettant la séparation de l'eau (le floculant), vont s'épaissir. La toile est lavée périodiquement pour éviter son colmatage, le nettoyage étant automatique.

Le stockage peut se présenter sous différentes formes :

- Silo de stockage en béton équipé obligatoirement d'un ou plusieurs agitateurs, la couverture de l'ouvrage étant conseillée (pas de dilution avec les eaux de pluie).
- Lagune de stockage rendue étanche par une géomembrane.
- Citerne souple, l'agitation étant assurée par une motopompe qui assure une circulation des boues.

Au regard des retours d'expériences, les deux dernières solutions ne sont pas conseillées.

#### Station d'Audeux (25, 500 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération	8/06/20 9h30	9/06/20 9h36	10/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo brassé et non aéré	8/06/20 9h00	9/06/20 9h36	10/06/20

Le silo, qui dispose d'un système d'homogénéisation, est alimenté en boues brutes par batch de 5 m<sup>3</sup> par semaine. Le début du stockage a commencé fin octobre 2019 (dernier épandage réalisé le 28/10/2010).

#### Station de Cintré (35, 1 500 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	bassin biologique	17/06/20	18/06/20 14h18	19/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo	03/06/20	04/06/20 10h	05/06/20

L'âge des boues du bassin biologique est de 30 jours (siccité de 20g/L).

Le stockage dans le silo, qui dispose d'un système d'homogénéisation, a repris en janvier 2020.

Le silo est alimenté en continu au rythme de 4 m<sup>3</sup>/j jusqu'à atteindre environ 380 à 400 m<sup>3</sup>. Une fois le seuil atteint, il est procédé à une exportation vers le procédé de traitement OVH à hauteur de 9,15 m<sup>3</sup>/j (moyenne constatée sur la dernière phase d'extraction) tout en continuant l'alimentation journalière à 4 m<sup>3</sup>/j, jusqu'à atteindre environ 130 m<sup>3</sup>.

#### Station de Crêche (71, 19 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	02/06/20 11h	03/06/20 9h04	03/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo	02/06/20 11h	03/06/20 9h04	03/06/20

Le traitement de la station Crêche suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore par injection du phosphore ; 2) épaissement dynamique 3) stockage en silo boues liquides

Le début du stockage a démarré le 6 avril 2020. Le silo est alimenté en boues par batch, avec un cumul de boues stockées au 2 juin de 505 m<sup>3</sup>.

**Station de Sainte Gemmes le Robert (53, 800 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Recirculation	10/06/20	11/06/20 9h	12/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo	10/06/20	11/06/20 9h	12/06/20

Le silo, d'un volume de 115 m<sup>3</sup> et non équipé d'un système d'homogénéisation, est alimenté avec apport de boues en continu. La dernière vidange a eu lieu le 20/03/20.

**Station de Mamirole (25, 3 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération	15/06/20 10h	16/06/20 9h43	17/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo brassé et non aéré	15/06/20 10h	16/06/20 9h43	17/06/20

Le silo, qui dispose d'un système d'homogénéisation, est alimenté en boues brutes par batch de 20 m<sup>3</sup> par batch. Entre le 19 mars et le 20 juin, 240 m<sup>3</sup> de boues ont été stockées.

**Station de Saint Anne sur Brivet (44, 36 350 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	24/06/20 11h	25/06/20 10h12	26/06/20
<b>Boues stockées</b>	Boues stockées 13 semaines	24/06/20 11h	25/06/20 10h12	26/06/20

Le silo est alimenté en boues en continu. Le début du stockage a démarré au printemps 2019.

**Station de Saint Genis de Saintonge (17, 1 300 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues liquides avant stockage	9/06/20 10h	10/06/20 10h12	11/06/20
<b>Boues stockées</b>	Boues après stockage de 3 mois	9/06/20 10h	10/06/20 10h12	11/06/20

Le silo, d'un volume de 300 m<sup>3</sup> et équipé d'un système d'homogénéisation, est alimenté par des boues en continu. Le début du stockage a commencé le 15 mars 2020.

**Station de Savigny (69, 2 200 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	04/06/20	06/06/20 9h17	06/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo	04/06/20	06/06/20 9h17	06/06/20

Le traitement de la station de Savigny suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) épaissement dynamique ; 3) stockage en Silo des boues liquides  
Le silo de 250 m<sup>3</sup>, est équipé d'un système d'homogénéisation et est alimenté en continu par des boues liquides. Le stockage a démarré en octobre 2019, et le 25 mai 2020 il contenait le 150 m<sup>3</sup>.

#### Station de Val Saint Germain (91, 3 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	10/06/20	11/06/20 9h40	12/06/20
<b>Boues stockées</b>	Stockage après 36 semaines	10/06/20	11/06/20 9h40	12/06/20

Le traitement de la station de Val Saint Germain suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) épaissement dynamique ; 3) stockage en silo des boues liquides  
Le silo est équipé d'un système d'homogénéisation. Le stockage a démarré début octobre 2019.

#### Station de Valmont (76, 4 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Recirculation	02/06/20	04/06/20 9h26	04/06/20
<b>Boues stockées</b>	Silo	02/06/20	04/06/20 9h26	04/06/20

Le silo, d'une capacité de 1750 m<sup>3</sup>, est équipé d'un système d'homogénéisation, et est alimenté par batch à partir d'extractions d'environ 10 m<sup>3</sup> / semaine. Le dernier épandage de boues liquides a eu lieu en août 2019.

Le taux de matière sèche dans l'échantillon de boues brutes était particulièrement faible (0,08 %).

### 4.3.3 Digestion anaérobie mésophile

**Principe** (Source : cahier FNDAE n°22 bis)

La fermentation mésophile, au voisinage de 35°C, est celle généralement mise en œuvre. Appliquée à la boue épaissie, la digestion anaérobie mésophile poursuit trois principaux objectifs :

- réduire la masse de boue, et stabiliser la boue, sous réserve de respecter un temps de séjour suffisant dans le réacteur.
- hygiéniser partiellement la boue, en plaçant les espèces pathogènes dans un environnement peu propice à leur survie.
- produire du biogaz.

La boue épaissie est admise dans une chambre de mélange où elle est réchauffée par de la boue digérée, elle-même chauffée grâce à un échangeur. L'ensemble est ensuite envoyé dans le digesteur qui est agité par un dispositif mécanique ou par injection de gaz.

A l'issue de sa digestion, la boue est généralement évacuée vers un stockage qui garantit l'alimentation régulière de l'atelier de déshydratation.

**Station de Cholet (49, 116 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bâche de mélange / en amont du digesteur	08/07/20 8h30	09/07/20 10h08	10/07/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Sortie centrifugeuse	17/06/20	18/06/20 11h11	23/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	boues stockées – 3 semaines	17/06/20 8h30	18/06/20 11h11	19/06/20

Le traitement de la station de Cholet suit les étapes suivantes : 1) décantation primaire ; 2) boues activées aération prolongée ; 3) digestion anaérobie ; 4) centrifugation.

Le temps de séjour des boues dans le digesteur est de 34,3 j. Le volume de digestion est de 6000 m<sup>3</sup> et la concentration de boues digérées est de 32,4 g/L.

Un apport journalier de boues de 176 m<sup>3</sup> permet d'alimenter le digesteur.

**Station Les Mureaux (78, 120 500 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	boues mixtes fraîches en amont de la digestion	16/06/20 9h	17/06/20 9h25	18/06/20
<b>Boues stockées durée 1</b>	Boues chaulées - Zone de stockage – 3 semaines	16/06/20 8h45	17/06/20 9h25	18/06/20
<b>Boues stockées durée 2</b>	Boues chaulées - Zone de stockage – 3 mois	16/06/20 8h	17/06/20 9h25	18/06/20

Le traitement de la station des Mureaux suit les étapes suivantes : 1) décantation primaire ; 2) Boues activées aération prolongée ; 3) Digestion anaérobie ; 4) Filtre-pressé

	Stockage = digesteur	Stockage = Plateforme
<b>Concentration boue alim</b>	Alimentation digestion à 52g/L en moyenne sur la période (estimé 45g/L le jour du prélèvement)	<b>40% siccité en moyenne</b>
<b>Conditions de stockage</b>	avec homogénéisation : brassage mécanique Couvert fermé	<b>Pas d'homogénéisation ni couverture</b>
<b>Historique du stockage</b>	Apport de boues continu : environ 130 m <sup>3</sup> /j	Apport de boues par batch 23T / 3 j en moyenne

**Station de Port-Douvot (25, 188 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues mixtes	25/05/20 8h30	26/05/20 9h50	27/05/20
<b>Boues stockées</b>	Boues sortie centrifugeuse déshydratation	07/07/20 8h	09/07/20 10h39	09/07/20
<b>Boues stockées</b>	Hangar 4 mois	07/07/20 8h15	09/07/20 10h39	09/07/20

La durée de la digestion est de 30 jours. Les boues sont ensuite centrifugées et stockées dans une zone couverte qui est alimentée en boues en continu avec un débit de 193 m<sup>3</sup>/jour. Les boues ne sont pas chaulées après la digestion, contrairement aux deux autres stations.

#### 4.3.4 Filtre planté de roseaux

**Rhizofiltration** (Source : Conseil Général de la Dordogne, 2011)

Les lits sont composés d'un massif filtrant à fond étanche constitué de différentes couches de matériaux (galets, graves, gravillons et couche d'amendement organique) qui font office de filtre et de support pour les roseaux et sont alimentées par les eaux usées. Des drains sont disposés dans la première couche de matériaux (galets) pour récupérer les filtrats mais aussi pour servir de système d'aération du massif et permettre l'activité biologique. Le nombre de lits dépend de la capacité de l'unité et de la technique de réalisation (enterré ou hors sol). Néanmoins, pour une bonne gestion de la filière (curage des boues), il faut au minimum 6 lits, mais l'exploitation est plus facile et moins coûteuse avec 8 voire 10 lits. La hauteur utile des bassins permet l'accumulation d'environ 1,50 m de boues.

Les boues traitées sont transformées en un « terreau » bien minéralisé où les risques sanitaires sont minimisés. La siccité est de 13% en moyenne

##### Station d'Espondeilhan (34, 1 800 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	boues au droit de l'alimentation du lit de rhizofiltration	09/06/20	10/06/20 9h30	11/06/20
<b>Boues stockées</b>	boues après stockage – échantillon moyen	09/06/20	10/06/20 9h30	11/06/20

Le début du stockage a démarré en septembre 2011. Le rhizofiltre est alimenté en continu par des eaux usées. Le débit moyen journalier est de 170 m<sup>3</sup>/j et le flux de matières en suspension de 42 kg/j.

##### Station de Francheleins Champ les Vignes (01, 1 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	boues au droit de l'alimentation du lit de rhizofiltration	02/06/20 9h	04/06/20 8h52	04/06/20
<b>Boues stockées</b>	boues après stockage – échantillon moyen	02/06/20 9h	04/06/20 8h52	04/06/20

La station est composée de 2 étages de filtres plantés de roseaux, avec 3 lits par étage. Une permutation hebdomadaire est mise en œuvre pour l'alimentation des lits : chaque lit est alimenté une semaine sur trois.

Le début du stockage a démarré en octobre 2009.

**Station d'Houdancourt (60, 600 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Eaux usées alimentant les lits de rhizofiltration	09/06/20 10h30	10/06/20 9h39	10/06/20
<b>Boues stockées</b>	stockage après 1 semaine	09/06/20 10h45	10/06/20 9h39	10/06/20

La date de début de stockage n'est pas connue car la station a été reprise en exploitation il y a 1,7 an.

Le rhizofiltre est alimenté par batch journalier (en moyenne 68 m<sup>3</sup> / j avec taux de MES 314 mg/L en 2019).

**Rhizocompostage** (Source : Etude diagnostique du système d'assainissement de Chalamont – Verdi)

L'objectif du traitement des boues sur macrophytes est, d'une part, la déshydratation par élimination de l'eau, et d'autre part, la stabilisation et le compostage des boues. L'apport de matières carbonées par les feuilles et tiges des roseaux en décomposition assure un compostage naturel et lent des boues avec une minéralisation progressive.

**Station de Chevanceaux (17, 1 100 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues liquides	02/06/20 10h	04/06/20 14h44	08/06/20
<b>Boues stockées</b>	Stockage de 4 ans	02/06/20 15h15	04/06/20 14h44	08/06/20

Le dernier curage du lit N°1 a été réalisé en août 2016. Les lits de macrophytes sont alimentés par un apport hebdomadaire par batch de 7 m<sup>3</sup> (21kg/MS/j).

**Station de Devecey-Bonnay (25, 4 667 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	bassin d'aération	16/06/20 11h	17/06/20 9h17	18/06/20
<b>Boues stockées</b>	Filtre planté de roseaux	16/06/20 10h30	17/06/20 9h17	18/06/20

Le rhizocompostage est alimenté en boues liquides par batch de 39 à 150 m<sup>3</sup>, depuis le 17 janvier 2020. Le dernier batch a été apporté le 12 juin 2020.

**Station Le Verdon (33, 5 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	27/05/20 10h45	28/05/20 9h19	29/05/20
<b>Boues stockées</b>	rhizocompostage après stockage (lit n°2)	27/05/20 11h20	28/05/20 9h19	29/05/20

Le traitement de la station du Verdon suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) rhizocompostage.

L'extraction à partir des boues recirculées se fait pendant 30 minutes par jour avec un débit de pompe de 20 m<sup>3</sup>/h pour 2 lits, soit 5 m<sup>3</sup> par lit par jour.



Le début du stockage du lit n°2 a démarré en septembre 2018.

#### Station de Marchaux (25, 2 500 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération	16/06/20 9h30	17/06/20 9h17	18/06/20
<b>Boues stockées</b>	Filtre planté de roseaux	16/06/20 9h30	17/06/20 9h17	18/06/20

Le rhizocompostage est alimenté en boues liquides par batch de 100 à 400 m<sup>3</sup>, depuis le 28 janvier 2020. Le dernier batch a été apporté le 12 juin 2020.

#### Station de Romillé (35, 2 500 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin biologique	17/06/20	18/06/20 14h18	19/06/20
<b>Boues stockées</b>	Boues stockées	03/06/20	04/06/20 10h10	05/06/20

Les lits plantés de roseaux sont alimentés en continu avec un débit de 15 m<sup>3</sup>/j à 6 g/l (l'âge de boues dans le bassin biologique est de 51 jours).

#### Station de Torcé Viviers en Charnie (53, 700 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération	10/06/20	11/06/20 9h	12/06/20
<b>Boues stockées</b>	Stockage casier 1	10/06/20	11/06/20 9h	12/06/20

Les 4 casiers de 50 m<sup>2</sup> sont alimentés en alternance plusieurs fois par jour. Le dernier curage du casier 1 a été réalisé en avril 2018.

#### 4.3.5 Lit de séchage

**Principe** (Source Fiche technique 2 – Seine et Marne)

Les lits de séchage sont des ouvrages constitués de bacs en béton dont le plancher est rendu étanche par une bâche ou un radier béton. Dans la partie inférieure, le massif filtrant, non colmatant, est composé de couches superposées de galets, graviers et sable grossier. Les boues issues du système épuratoire sont directement extraites du clarificateur et transférées après floculation sur le lit. Ensuite, les boues égouttées sèchent en fonction des conditions climatiques, la durée moyenne de séchage étant estimée à 3 semaines. Les boues sont ensuite ratissées manuellement, reprises et stockées dans un endroit approprié (bennes étanches, aire de stockage couverte). La boue présente un aspect très hétérogène de type pâteux (hiver) à solide (été). La siccité moyenne attendue est supérieure à 30 %.

**Station de Lude Mailly (51, 2 500 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boucle de recirculation	06/07/20	07/07/20 10h24	08/07/20
<b>Boues stockées</b>	lit de séchage 1	23/06/20 10h20	25/06/20 9h20	25/06/20
<b>Boues stockées</b>	lit de séchage 2	23/06/20 10h30	25/06/20 9h20	25/06/20

La date de production des boues est le 5 mai 2020.

**Station de Trépail (51, 800 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boucle de recirculation	06/07/20	07/07/20 10h24	08/07/20
<b>Boues stockées</b>	lit de séchage 1	23/06/20	25/06/20 9h20	25/06/20
<b>Boues stockées</b>	lit de séchage 2	23/06/20	25/06/20 9h20	25/06/20

La date de production des boues est le 22 juin 2020.

**Station de Vezy (51, 1 500 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boucle de recirculation	06/07/20	07/07/20 10h24	08/07/20
<b>Boues stockées</b>	lit de séchage 1	23/06/20 9h50	25/06/20 9h20	25/06/20
<b>Boues stockées</b>	lit de séchage 2	23/06/20 10h	25/06/20 9h20	25/06/20

La date de production des boues est le 5 mai 2020.

**4.3.6 Serre**

Les systèmes existants sont basés sur le principe de l'effet de serre.

**Solaire (Source Fiche Technique 5- Seine et Marne)**

Le procédé utilise l'énergie solaire captée au niveau de serres pour évaporer l'eau des boues placées en couche mince sur un radier béton et retournées de manière régulière par un scarificateur. La serre est équipée de ventilateurs/extracteurs permettant un renouvellement de l'air et l'évacuation de l'humidité. La siccité des boues dépasse les 70 %.

**Station d'Aups (83, 5 500 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	27/05/20 9h45	29/05/20 8h51	29/05/20
<b>Boues stockées</b>	Serre solaire – 36 semaines	27/05/20 9h45	29/05/20 8h51	29/05/20

Le traitement de la station d'Aups suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) épaissement gravitaire ; 3) centrifugation ; 4) serre solaire.

La serre est équipée d'un système d'homogénéisation et est alimentée en continu permettant la déshydratation de 40 m<sup>3</sup> de boues par semaine de boues à 12 g/l de matière sèche en moyenne.

Le début du stockage a démarré en août 2019.

#### Station de Brenouille / Pont Saint Maxence (60, 40 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues épaissies - Bassin d'aération ou de la recirculation	10/06/20 11h	11/06/20 9h49	12/06/20
<b>Boues stockées</b>	Serre solaire -2 semaines	10/06/20 11h	11/06/20 9h49	12/06/20

Le traitement de la station de Brenouille / Saint Maxence suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée avec traitement du phosphore par injection du phosphore 2) épaissement dynamique ; 3) Filtre-pressé avec conditionnement polymère ; 4) serre solaire

La serre est alimentée en continu à raison de 9,8 t de matière sèche par semaine.

#### Station de Gemozac (17, 2 200 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues liquides	08/06/20 15h	10/06/20 10h12	11/06/20
<b>Boues stockées</b>	Serre solaire – 3 mois	08/06/20 15h	10/06/20 10h12	11/06/20

Les boues sont centrifugées puis stockées en serre. Le casier P3 est alimenté en continu depuis le 24/02/2020. Les boues stockées sont homogénéisées.

#### Station de Névez (29, 5 000 EH)

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	03/06/20	04/06/20 10h12	4/06/20
<b>Boues stockées</b>	Serre solaire – 12 mois	03/06/20	04/06/20 10h12	4/06/20

Le traitement de la station de Névez suit les étapes suivantes : 1) boues activées aération prolongée ; 2) lagune de finition ; 3) centrifugation ; 4) serre solaire

La serre dispose d'un système d'homogénéisation et est alimentée en boues par batch, avec un apport mensuel de 8 m<sup>3</sup> (soit 1,55 t de matière sèche par mois).

#### Avec plancher chauffant (Source Fiche Technique 5- Seine et Marne)

Il est possible de réduire la superficie de la serre solaire en intégrant un plancher chauffant alimenté par une pompe à chaleur, celle-ci puisant les calories dans l'eau rejetée (température relativement constante). La siccité des boues dépasse les 70 %.

**Station de Chartres (28, 160 000 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Boues liquides avant déshydratation	22/06/20 10h	23/06/20 14h	24/06/20
<b>Boues stockées</b>	Boues sortie sècheurs – 18 jours	22/06/20 11h	23/06/20 14h	24/06/20
<b>Boues stockées</b>	Boues séchées et stockées pendant 5 semaines	22/06/20 11h	23/06/20 14h	24/06/20

Les boues en sortie des sècheurs ont été produites 18 jours avant le prélèvement.

**Station Evron – Cépur (53, 16 500 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Recirculation	10/06/20	11/06/20 9h	12/06/20
<b>Boues stockées</b>	Serre	10/06/20	11/06/20 9h	12/06/20

Le prélèvement a été réalisé dans la serre à la fin du plancher chauffant. A partir du 2 avril les boues sont produites depuis coronavirus.

**Station de Laillé (35, 5 500 EH)**

Type d'échantillon	Lieu d'échantillonnage	Date de prélèvement	Date de réception au laboratoire	Date de début d'analyse
<b>Boues brutes</b>	Bassin d'aération ou de la recirculation	17/06/20	18/06/20 14h18	19/06/20
<b>Boues stockées</b>	Serre	03/06/20	04/06/20 10h10	05/06/20

L'âge des boues dans le bassin biologique est de 40 jours (siccité de 14%). La serre est alimentée par 2 à 3 apports par semaine par batch de 2 à 3 m<sup>3</sup>.

**4.4 RESULTATS****4.4.1 Traitement des données**

Afin de pouvoir calculer les abattements en bactériophages, les concentrations inférieures à la limite de détection ont été remplacées par la moitié de cette limite. Pour la majorité des échantillons de boues stockées analysées, la limite de détection était de 10 pfu/g de matière brute.

Les concentrations en bactériophages mesurées par le laboratoire en pfu / g de matière brute ont été converties en pfu / g de matière sèche.

Le calcul de l'abattement en bactériophages a été réalisé comme suit :

$$\text{Abattement} = \log (C/C_0)$$

Avec :

C : concentration en bactériophages dans les boues stockées, exprimée en pfu / g de matière sèche.

C<sub>0</sub> : concentration en bactériophages dans les boues liquides avant stockage, exprimée en pfu / g de matière sèche.

#### 4.4.2 Taux de matière sèche

Les taux de matière sèche dans les boues liquides avant stockage sont globalement inférieurs à 8% (Figure 7). Seules 3 STEU présentent des taux de matière sèche entre 17 % et 32 % : Aups (17%), Espondeilhan (21%) et Francheleins (32%). Pour les deux dernières stations, il a probablement été difficile d'échantillonner au regard de l'apport en eaux usées des rhizofiltres, ce qui peut expliquer les taux de matière sèche élevés. Par contre pour la station d'Aups, le prélèvement des boues liquides a certainement été effectué après une étape d'épaississement. Cette station, atypique par rapport aux autres stations de la filière des serres solaire, n'a pas été retenue pour les calculs d'abattement en charge virale.

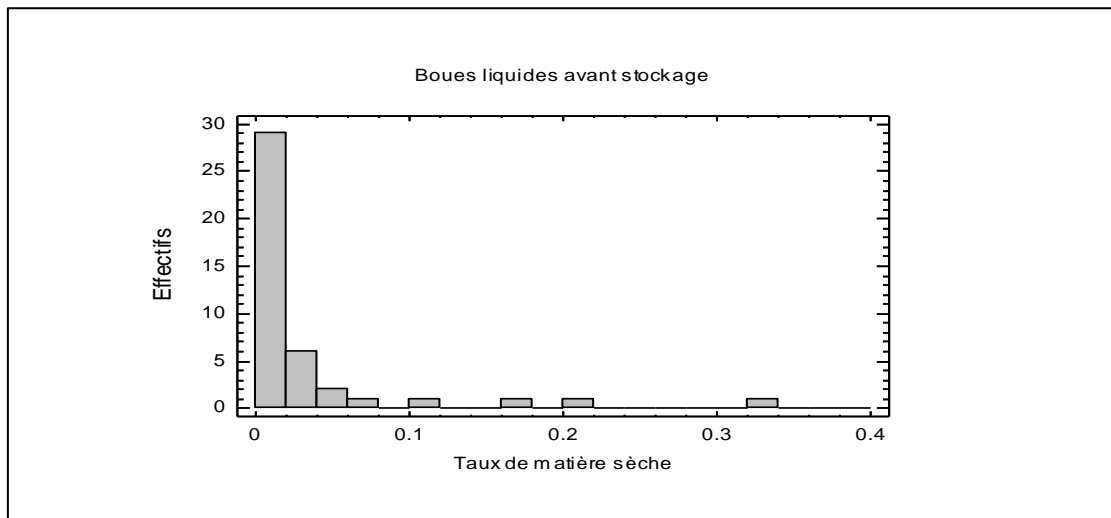


Figure 7 : Histogramme de distribution du taux de matière sèche dans les boues liquides avant stockage

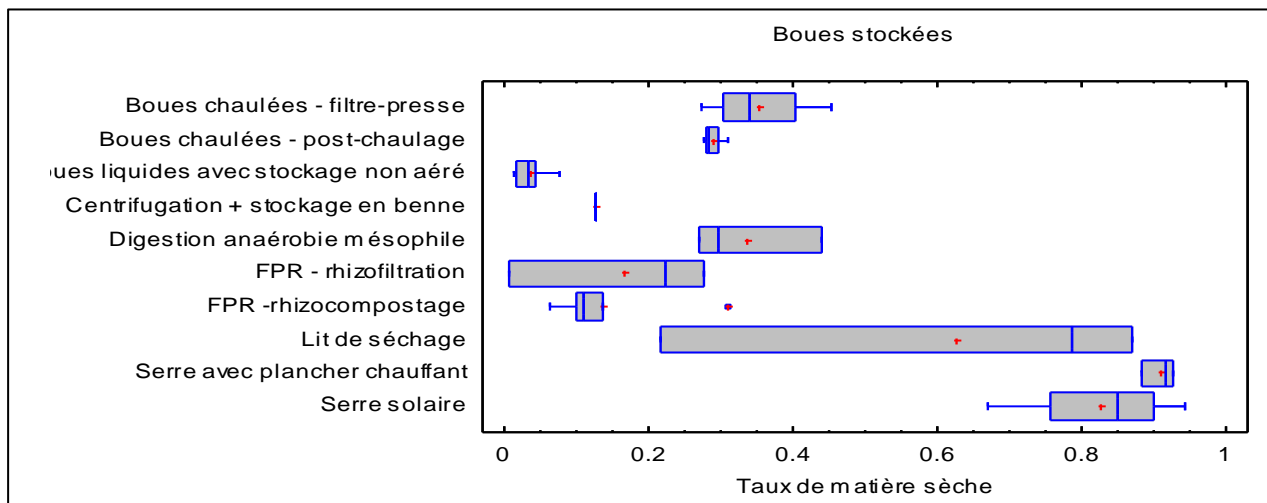


Figure 8 : Taux de matière sèche dans les boues stockées.

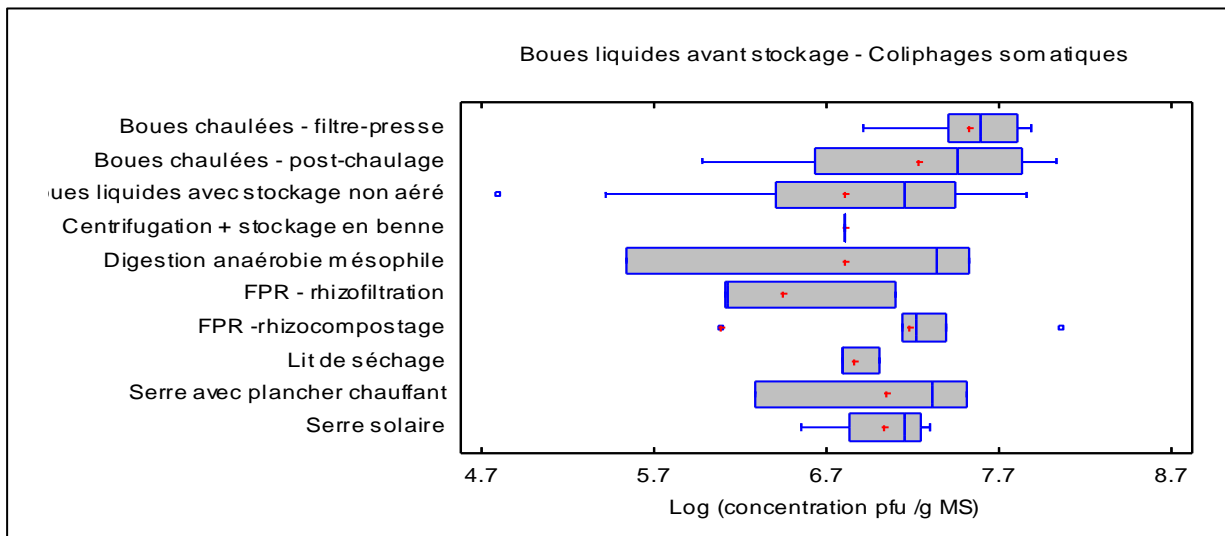
Le graphique est élaboré comme suit : la boîte est construite à partir du centile 25 et du centile 75, avec la médiane représentée par la barre dans cette boîte. La moyenne est aussi représentée par une croix rouge. Les moustaches correspondent aux valeurs minimum et maximum, hors points extrêmes. Il existe deux types de points extrêmes : les points éloignés (carré bleu, > 1.5 fois la largeur de la boîte) et très éloignés (carré rouge, > 3 fois la largeur de la boîte).

En ce qui concerne les taux de matière sèche dans les boues stockées, une différenciation selon le procédé de traitement des boues est mise en évidence (Figure 8). Ainsi, les boues

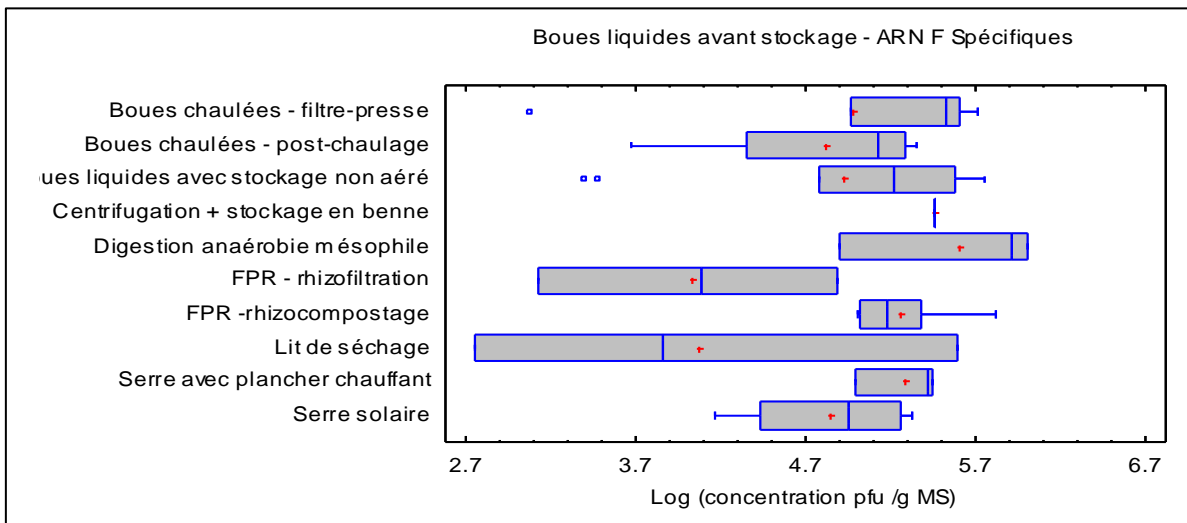
stockées dans des serres (solaire ou avec plancher chauffant) sont caractérisées par des taux de matière sèche élevés (entre 70 et 95%). A l'opposé, les boues liquides stockées en silo ont des taux de matière sèche faibles (inférieurs à 8%). Les boues chaulées (filtre presse et post chaulage), ainsi que les boues digérées ont des taux de matière sèche compris entre 30 % et 45 %.

#### 4.4.3 Concentration et abattement en bactériophages

Le logarithme des concentrations en bactériophages dans les boues liquides avant stockage est en moyenne de 7, avec une majorité de boues caractérisées par des valeurs comprise entre 6.5 et 7.5 pour les coliphages somatiques (Figure 9) et est en moyenne de 5 pour les ARN F-spécifiques, avec une majorité de boues caractérisées par des valeurs entre 4 et 6 (Figure 10).



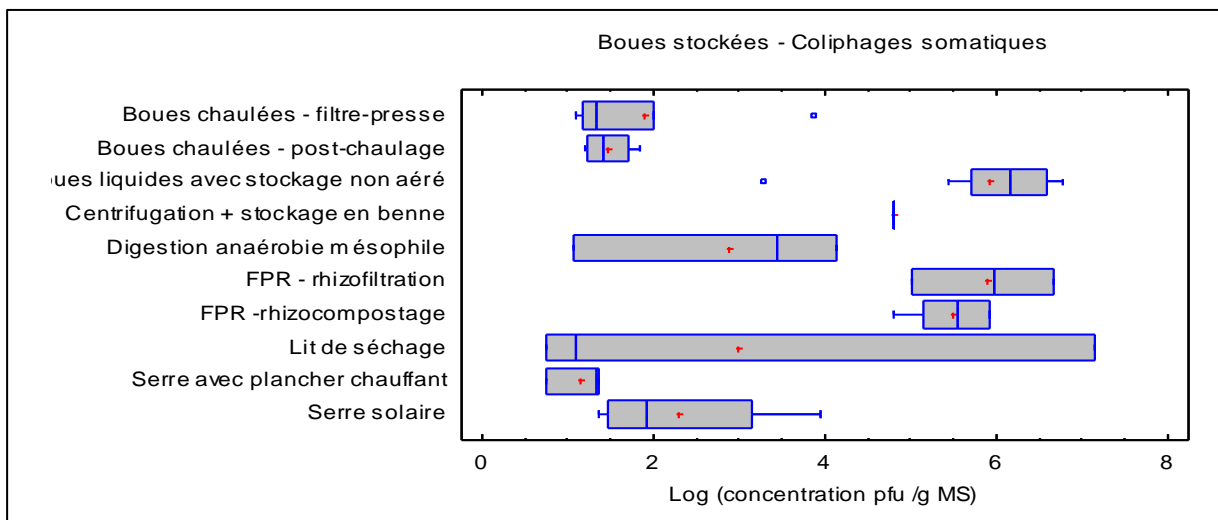
**Figure 9 : Concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides avant stockage en pfu / g de matière sèche (échelle logarithmique). Voir la légende de la Figure 8 pour la construction des boîtes à moustaches.**



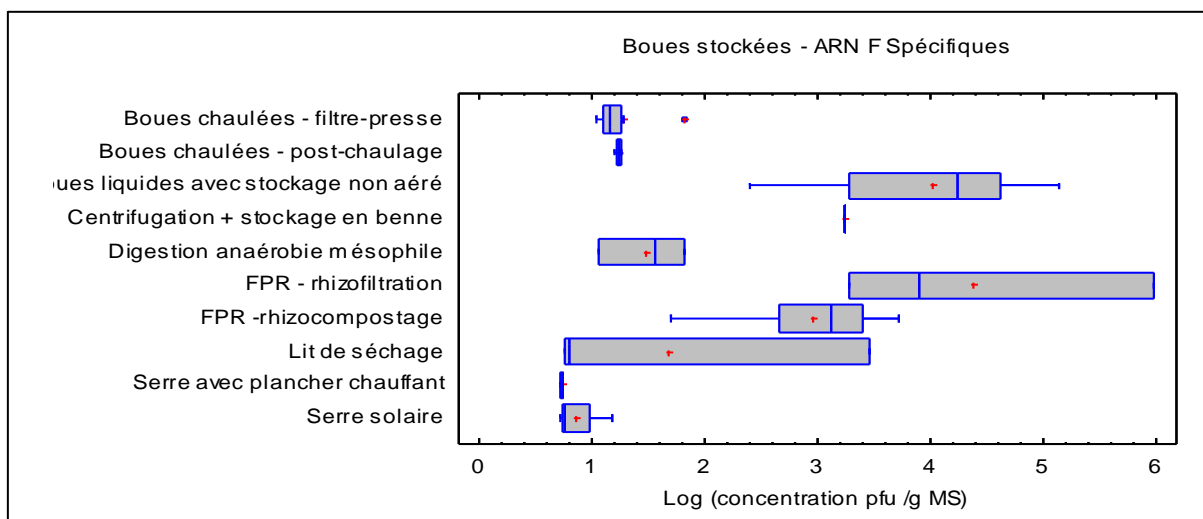
**Figure 10 : Concentration en ARN F spécifiques dans les boues liquides avant stockage en pfu / g de matière sèche (échelle logarithmique). Voir la légende de la Figure 8 pour la construction des boîtes à moustaches.**

Cependant, une forte dispersion des concentrations en bactériophages dans les boues liquides avant stockage pour la digestion anaérobie mésophile peut être observée. Ceci est dû à la station de Cholet qui présente une concentration en bactériophages dans les boues avant digesteurs anormalement basse (en coliphages somatiques log 5,5 contre log 7,3 pour les deux autres stations).

Le logarithme des concentrations en bactériophages dans les boues stockées est dépendant du procédé de traitement et stockage des boues mis en œuvre, que ce soit pour les coliphages somatiques (Figure 11) ou pour les ARN F spécifiques (Figure 12). Ainsi, les boues issues du chaulage (filtre presse et post chaulage) et des serres avec plancher chauffant, sont caractérisées par des concentrations (en échelle logarithmique) proche de 1. A l'opposé, les boues stockées en conditions non aéré ou dans des filtres plantés de roseaux (FPR) ont des concentrations logarithmiques entre 5 et 6,5 pour les coliphages somatiques et entre 2 et 6 pour les phages ARN F-spécifiques.



**Figure 11 : Concentration en coliphages somatiques dans les boues stockées en pfu / g de matière sèche (échelle logarithmique). Voir la légende de la Figure 5 pour la construction des boîtes à moustaches.**



**Figure 12 : Concentration en ARN spécifiques dans les boues stockées en pfu / g de matière sèche (échelle logarithmique). Voir la légende de la Figure 5 pour la construction des boîtes à moustaches.**

Enfin, les concentrations logarithmiques en coliphages somatiques dans les autres boues sont très dispersées, entre 1 à 7 et entre 1 et 4 pour les lits de séchages et la digestion anaérobie mésophile respectivement, illustrant une disparité importante entre les STEU d'une même filière de traitement et stockage. Ainsi la station du Trépail, dont le prélèvement des boues stockées a été réalisé le lendemain du démarrage du lit de séchage, montre une concentration en bactériophages très forte (log 7) alors que les deux autres stations, échantillonnées environ 1,5 mois après le démarrage du lit de séchage présentent des concentrations dans les boues stockées de l'ordre de log 1. La station du Trépail n'a pas été incluse pour le calcul de l'abattement du titre viral.

L'estimation de la perte du titre viral (ou abattement) au cours du stockage a été calculée comme le logarithme du rapport des concentrations (en pfu / g de matière sèche) dans les boues brutes et dans les boues après stockage. Pour les filières ayant plusieurs durées de stockage, la plus longue a été considérée pour réaliser la Figure 13 et la Figure 14.

Le taux d'abattement semble fortement dépendant du type de traitement et du temps de stockage mis en œuvre (Figure 13 et Figure 14). 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 (voir § 3.4.4).

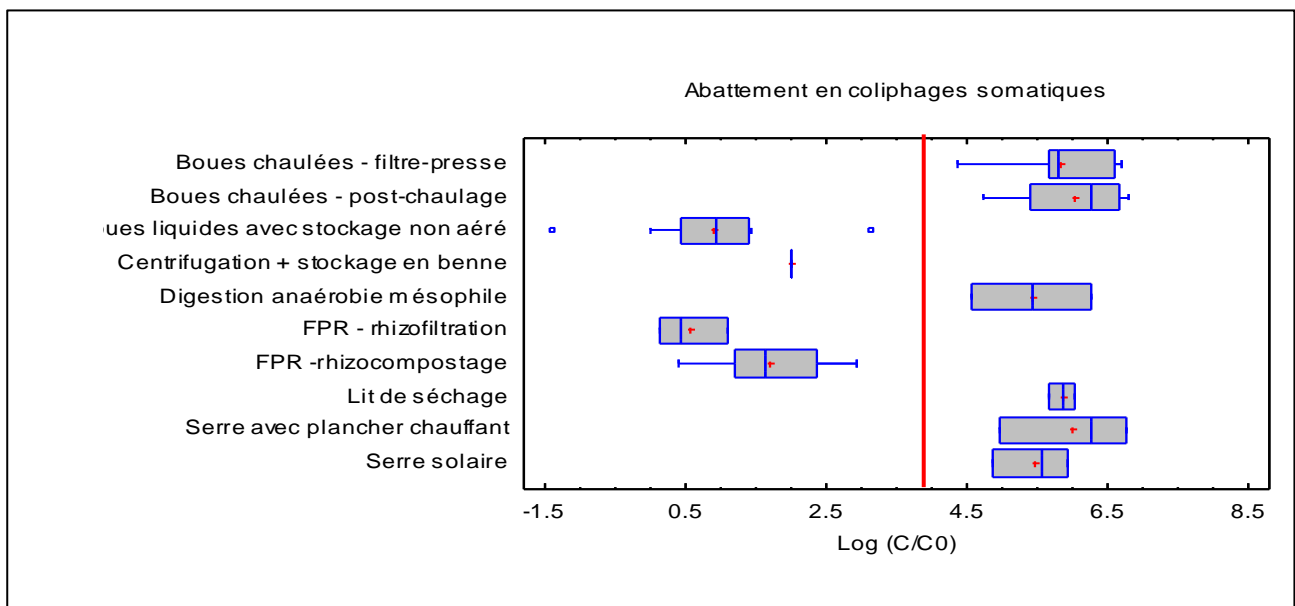


Figure 13 : Abattement en coliphages somatiques (échelle logarithmique). La barre en rouge correspond à un abattement de 4 log. Voir la légende la Figure 5 pour la construction des boîtes à moustaches.



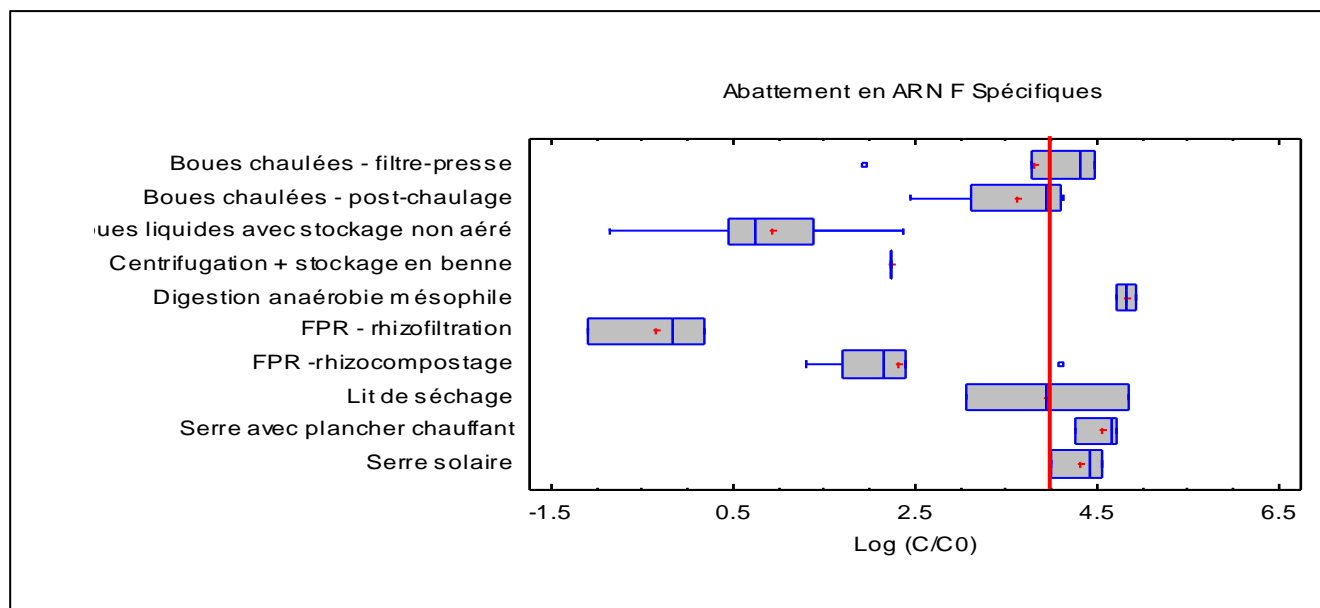


Figure 14 : Abattement en ARN F spécifiques (échelle logarithmique). La barre en rouge correspond à un abattement de 4 log. Voir la légende la Figure 5 pour la construction des boîtes à moustaches.

#### 4.4.4 Analyse détaillée par filière de traitement des boues

##### Boues chaulées - filtre presse

5 STEU de 10 000 à 50 000 EH sont concernées

Le taux de matière sèche des boues liquides est en moyenne de 1,1 % et celui des boues stockées à 3 semaines et 3 mois est en moyenne de 34%.

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est en moyenne de 7,5.

Un abattement important en coliphages somatiques (> 5 log) et en ARN F-spécifiques (> 3,8 log), est observé dès 3 semaines de stockage, à l'exception de Saint Dizier qui est caractérisée par un abattement moindre en coliphages somatiques (3,7). En ce qui concerne la STEU de Pons l'abattement en ARN F-spécifiques est plus faible (2 log) en raison de la concentration initiale dans les boues brutes faibles (3 log).

Enfin, après trois mois de stockage, les concentrations mesurées en coliphages somatiques et ARN F-spécifiques, exprimées en g de matière brutes, sont inférieures à la limite de détection (soit 1,1 à 1,3 en logarithme de la concentration en bactériophages, exprimée par g de matière sèche).

##### Boues centrifugée et post chaulées

4 STEU de 12 000 à 87 000 EH sont concernées.

Le taux de matière sèche des boues liquides est en moyenne de 1,2 % et celui des boues stockées à 3 semaines et 3 mois est en moyenne de 30%.

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est en moyenne de 7,2.

Un abattement important en coliphages somatiques (> 4,8 log) et en ARN F-spécifiques (> 3.8 log sauf pour une station caractérisée par un abattement de 2.5 log et une concentration initiale de 3 log), est observé dès 3 semaines de stockage.

Enfin, après trois mois de stockage, les concentrations mesurées en coliphages somatiques et en ARN F-spécifiques, exprimées en g de matière brutes, sont inférieures à la limite de détection (soit 1,1 à 1,3 en logarithme de la concentration en bactériophages, exprimée par g de matière sèche).

### **Boues liquides, stockage non aéré**

10 STEU sont concernées, dont 8 de taille inférieures à 4 000 EH et 2 plus grandes (19 000 et 36 000 EH).

Le taux de matière sèche des boues liquides est en moyenne de 1,3 %, avec une valeur très basse pour la station de Valmont (0,08%) et une plus élevée pour la station de Val Saint Germain (5,9 %). Le taux de matière sèche dans les boues stockées est en moyenne de 3,2 %.

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est en moyenne de 6,9. Les stations de Valmont et Savigny ont des concentrations plus faibles (4,8 – 5 en échelle logarithme).

Les abattements en coliphages somatiques et en ARN F-spécifiques observés sont assez faibles, en moyenne de 0,9 log, sauf pour la STEU de Saint Anne sur Brivet caractérisée des abattements de l'ordre de 3 log. Ceci peut s'expliquer par la très longue durée de stockage (> 1 an) par rapport aux autres STEU. Ces résultats sont en cohérence avec ceux obtenus sur l'étude cinétique de stockage de boues liquides.

### **Digestion anaérobie mésophile**

3 STEU de 116 000 à 188 000 EH sont concernées.

Le taux de matière sèche des boues liquides est compris entre 3 % et 6 %. Le taux de matière sèche dans les boues stockées est compris entre 30 et 40 %.

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est compris entre 5,5 et 7,5.

L'abattement en coliphages somatiques observé est important pour la station des Mureaux (> 6 log) dont les boues sont chaulées avant stockage, et pour la station de Port-Douvot (>4 log) mais plus faible pour la station de Cholet (2 log). Pour cette dernière, le niveau de concentration en coliphages somatiques dans les boues brutes est plus faible (5.5 log) que pour les autres stations, ce qui peut expliquer le plus faible abattement observé.

L'abattement en ARN F-spécifiques est supérieur à 3.8 pour les 3 STEU concernées.

### **Rhizocompostage**

6 STEU de 700 à 5 000 EH sont concernées.

Le taux de matière sèche des boues liquides est en moyenne de à 0,6 % et celui des boues stockées est en moyenne de 14 % (compris entre 6% et 31 %).

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est en moyenne de 7,2.

L'abattement en coliphages somatiques observé est assez faible, en moyenne de 1,7 log. L'abattement en coliphages somatiques de la station de Torcé Viviers en Charnie est cependant proche de 3 log.

### **Rhizofiltration**

3 STEU de 600 à 1 800 EH sont concernées.

Le taux de matière sèche des boues liquides est compris entre 11 % et 32 %. Les boues stockées de la station d'Houdancourt sont caractérisées par un taux de matière sèche de 0,6% et celles des deux autres stations par un taux compris entre 22 et 28 %.

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est compris entre 6 et 7.

Les abattements en coliphages somatiques et en ARN F-spécifiques observés sont assez faibles (inférieurs à 1 log).

### **Lit de séchage**

3 STEU de 800 à 2500 EH sont concernées.

Les taux de matières sèches des boues liquides est en moyenne de 1%. Le taux de matières sèches dans les lits de séchage est de 21 % pour la STEU de Trépail et entre 80 et 90 % pour les STEU de Lude-Mailly et Verzy.

Des abattements importants en coliphages somatiques (> 5,5 log) et en ARN F-spécifiques (> 3 log) sont observés pour 2 STEU (Lude-Mailly et Verzy).

Aucun abattement en bactériophage n'a été observé pour la STEU de Trépail. A noter que le début de stockage sur cette STEU a démarré 1 jour avant la réalisation des prélèvements, alors que pour les deux autres STEU il a démarré 1,5 mois avant.

Enfin, pour les STEU de Lude-Mailly et Verzy les concentrations en bactériophages mesurées dans les boues stockées, exprimées en g de matière brutes, sont inférieures à la limite de détection (soit 1,1 à 1,3 en logarithme de la concentration en bactériophages, exprimée par g de matière sèche).

### **Serre Solaire**

4 STEU de 2 200 à 40 000 EH sont concernées.

Le taux de matière sèche des boues liquides est en moyenne de 1,7 %, excepté pour la station d'Aups pour laquelle il est de 17 %. Le taux de matière sèche des boues stockées est très élevé et compris entre 85 % et 95 %, excepté pour la station d'Aups (67 %).

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est en moyenne de 7,0.

Un abattement important en coliphages somatiques (> 4,9 log) et en ARN F-spécifiques (> 4 log), est observé, excepté pour la station d'Aups où cet abattement n'est que de 2,6 log pour les coliphages somatiques et de 3 pour les ARN F-spécifiques.

Enfin, les concentrations mesurées en ARN F-spécifiques, exprimées en g de matière brutes, dans les boues stockées sont en général inférieures à la limite de détection (soit 1,1 à 1,3 en logarithme de la concentration en coliphages somatiques, exprimée par g de matière sèche).

### **Serre avec plancher chauffant**

3 STEU de 5 500 à 160 000 EH sont concernées.

Le taux de matière sèche des boues liquides est en moyenne de 0,5 %, et celui des boues stockées est très élevé et en moyenne de 92 %.

Le logarithme de la concentration en coliphages somatiques dans les boues liquides, exprimées en g de matière sèche, est en moyenne de 6,3.

Un abattement important en coliphages somatiques (> 5 log) et en ARN F-spécifiques (> 4 log), est observé pour l'ensemble des STEU.

Enfin, les concentrations mesurées en bactériophages, exprimées en g de matière brutes, dans les boues stockées sont en général inférieures à la limite de détection (soit 1,1 à 1,3 en logarithme de la concentration en coliphages somatiques, exprimée par g de matière sèche).

Une synthèse basée sur deux critères est présentée dans le Tableau 8. Les coliphages somatiques ont été retenus pour réaliser cette synthèse car ils sont plus résistants et donc sont plus protecteurs. Les critères utilisés sont :

- Taux d'abattement ( $\log C/C_0$ ) en coliphages somatiques supérieur à 4 log ;
- Concentration en coliphages somatiques proches de la limite de détection (ce qui correspond en échelle logarithmique à 0,7 – 1,35 selon le taux de matière sèche).

**Tableau 8 : Synthèse des résultats obtenus pour chacune des 42 STEU en considérant un abattement en coliphages somatiques supérieur à 4 log et une concentration dans les boues stockées proches des limites de détection (log C < 1.35) comme critère. Dans le cas où 2 durées ou conditions de stockage ont été mis en œuvre les réponses sont doublées. Les STEU atypiques par rapport à leur filière sont identifiées avec \***

Nom de la STEU	Département	Equivalent Habitant	Procédé de traitement	Abattement Log C/C0 > 4	Concentration dans les boues stockées Log C < 1.35
Laon	02	40 000	Boues chaulées	oui / oui	oui / oui
Les Martres de Veyre	63	32 600	filtre-presse	oui / oui	oui / oui
Pons	17	9 800		oui / oui	oui / oui
Saint-Dizier	52	50 000		non / oui	non / oui
Schwindratzheim	67	12 000		oui / oui	non / oui
Dreux	28	86 667	Boues chaulées	oui / oui	oui / oui
Fécamp	76	40 000	post-chaulage	oui / oui	non / oui
Isles sur Suipe	51	12 000		oui / oui	oui / oui
Sin le Noble	59	23 000		oui / oui	non / oui
Audeux	25	500	Boues liquides	non	non
Cintré	35	1 500	avec stockage non	non	non
Crêche	71	19 000	aéré	non	non
Ste Gemmes le Robert	53	800		non	non
Mamirolle	25	3 000		non	non
Saint Anne sur Brivet	44	36 250		non	non
Saint Genis de Saintonge	17	1 300		non	non
Savigny	69	2 200		non	non
Val Saint Germain	91	3 000		non	non
Valmont	76	4 000		non	non
St-Lizier	09	41 000	Centrifugation	non	non
Cholet*	49	116 000	Digestion	non	non
Les Mureaux	78	120 500	anaérobie	oui / oui	oui / oui
Port-Douvot	25	188 000	mésophile	oui	non
Chevanceaux	17	1 100	Filtre planté de	non	non
Devecey-Bonnay	25	4 667	roseaux	non	non
Le Verdon	33	5 000	(rhizocompostage)	non	non
Marchaux	25	2 500		non	non
Romillé	35	2 500		non	non
Torcé Viviers en Charnie	53	700		non	non
Espondeilhan	34	1 800	Filtre planté de	non	non
Francheleins Champ les Vignes	01	1 000	roseaux	non	non
Houdancourt	60	600	(rhizofiltration)	non	non
Lude-Mailly	51	2 500	Lit de séchage	oui	oui
Trépail*	51	800		non	non
Verzy	51	1 500		oui	oui
Chartres	28	160 000	Serre avec	oui	oui
Evron – Cepur	53	16 500	plancher	oui	oui
Lailé	35	5 500	chauffant	oui	oui
Aups*	83	5 500	Serre solaire	non	non
Brenouille/Pont Sainte Maxence	60	40 000		oui	non
Gemozac	17	2 200		oui	non
Névez	29	5 000		oui	non

## 5 CONCLUSIONS-PERSPECTIVES

L'étude cinétique de l'abattement des coliphages somatiques et bactériophages ARN F-spécifiques dans des boues liquides stockées dans des conditions maîtrisées a permis de confirmer les hypothèses suivantes :

- Un abattement des coliphages somatiques moins importants que celui observé pour les bactériophages ARN-spécifiques,
- Un abattement plus important à 22°C comparé à celui observé à 5°C,
- Dans des conditions de stockage à 22°C : un abattement maximal de 1,2 log pour les coliphages somatiques à J96 et 1,4 log pour les bactériophages ARN F-spécifiques après J28.

Les résultats sur l'étude de l'abattement en bactériophages dans les boues issues de stations d'épuration ont montré que les boues liquides, avant traitement ou stockage présentaient un taux de matière sèche qui variait entre 0,5% et 8%. Le taux de matières sèches dans les boues stockées ayant fait l'objet d'un traitement est directement lié aux procédés de traitement et aux conditions de stockage, avec des taux compris entre 0,5% et 95%.

Le logarithme de base 10 (log) des concentrations en bactériophages dans les boues extraites de la « filière eau », avant tout traitement ou stockage est en moyenne de 7, avec une majorité de boues caractérisées par des valeurs comprises entre 6,5 et 7,5 pour les coliphages somatique et est en moyenne de 5 pour les phages ARN F-spécifiques, avec une majorité de boues caractérisées par des valeurs entre 4 et 6.

Par ailleurs, au regard de l'objectif fixé initialement d'un abattement de 4 log pour les bactériophages, il apparaît, au travers de cette étude, que cet objectif est atteint pour les coliphages somatiques en raison de la concentration importante présente dans les boues liquides avant stockage. Par contre pour les phages ARN F-spécifiques, cet objectif d'un abattement de 4 log doit être considéré au regard de la concentration initiale déterminée dans les boues liquides qui est plus faible que pour les coliphages somatiques (environ 5 log en moyenne). Ainsi, l'objectif sur le taux d'abattement en ARN F-spécifiques doit d'une certaine manière tenir compte de cette concentration initiale dans les boues liquides car il peut être inférieur à 4 log selon les règles de calcul défini dans l'étude (concentration équivalente à la moitié du seuil de détection si l'échantillon est négatif ou non quantifiable) si la concentration en phages ARN F-spécifiques mesurée dans les boues stockées est inférieure à la limite de quantification. Dans ce cas, l'abattement en phages ARN F-spécifiques peut-être largement sous-estimé, par conséquent, les conclusions se focalisent essentiellement sur les coliphages somatiques.

Les résultats obtenus dans cette étude démontrent, d'une part, qu'il y a une bonne homogénéité des concentrations de coliphages somatiques mesurées dans les boues liquides avant stockage, et ce quelle que soit la taille de la STEU et, d'autre part, que les taux d'abattement en bactériophages estimés sont très largement dépendant de la filière de production et traitement boues et de leurs conditions de stockage. Ce constat permet par conséquent d'émettre des propositions par filières.

Les résultats des deux protocoles de cette étude soutiennent les choix stratégiques et techniques mis en œuvre : **Les bactériophages sont des indicateurs fiables de l'évaluation de l'efficacité d'abattement au cours du stockage de la charge virale des boues produites par les différentes filières présentes sur le territoire métropolitain.**

Enfin, le recours à des protocoles analytiques éprouvés ayant notamment été validés et ayant démontré leur transférabilité apparaît comme un élément satisfaisant à l'exploitabilité

des données acquises, de même que la mise en œuvre d'un panel d'outils de contrôle qualité.

Considérant que le taux d'abattement en coliphages somatiques est largement plus robuste et plus précis que celui en phages ARN F-spécifiques, il a été retenu pour émettre des propositions de possibilité d'épandage par filière de traitement et conditions de stockage des boues.

Le taux d'abattement en coliphages somatiques est supérieur à 4 log pour l'ensemble des filières de traitement des boues suivantes :

- Boues chaulées (filtre presse et post chaulage) après 3 mois de stockage (n=9)
- Serre solaire et avec plancher chauffant, avec un taux de matière sèche supérieur à 80 % (n=6)

Par ailleurs pour ces filières, la concentration en coliphages somatiques dans les boues stockées est généralement inférieure à la limite de quantification de la méthode d'analyse.

**Ainsi, il est proposé que pour ces filières « boues chaulées » et « serre » les boues stockées dans les conditions précisées ci-dessus soient épandues sans analyses complémentaires à celles requises habituellement (arrêté du 8 janvier 1998).**

En raison du plus faible nombre de stations étudiées, il est plus difficile de conclure pour les filières suivantes.

- Lit de séchage après 1,5 mois de stockage (n=2)
- Digestion anaérobie mésophile après 4 mois de stockage (n=1),

En effet, pour ces filières le nombre d'échantillon disponible exploitable reste trop faible. Pour les lits de séchage, une des trois stations étudiées a été échantillonnée à une date trop proche de la mise en service du lit de séchage (l'échantillon était représentatif de boues quasiment « fraîches »).

En ce qui concerne la digestion anaérobie mésophile, une des trois stations a présenté des données sur les boues en entrée de filière avant stockage très différentes (taux de matière sèche élevé et concentration initiale beaucoup plus faible) et n'a donc pas été retenue pour l'exploitation finale. Par ailleurs, pour une autre de ces trois stations, les boues sont chaulées au moyen d'un filtre presse. Cette station est donc à rapprocher de la filière filtre presse.

Cependant, ces filières présentent un potentiel d'abattement des coliphages somatiques important, comme cela a pu être observé pour les lits de séchage après 1,5 mois de stockage (taux d'abattement supérieur à 5 log) ou pour la digestion anaérobie mésophile (taux d'abattement de 4,5 log).

**En attente de données supplémentaires permettant de définir des conditions de stockage précise pour les filières « lit de séchage » et « digestion anaérobie mésophile », il est proposé pour ces deux filières que le maître d'ouvrage réalise une estimation du taux d'abattement en coliphages somatiques de chaque lot de boues stockées en suivant le protocole mis en place dans cette étude. Dans le cas où l'abattement serait supérieur à 4 log, il est proposé que le lot de boues soit épandu sans analyses complémentaires à celles requises habituellement (arrêté du 8 janvier 1998). Il est ainsi conseillé de suivre les recommandations suivantes pour le stockage :**

- **Lit de séchage : stockage de 1,5 mois minimum**
- **Digestion anaérobie mésophile : 4 mois de stockage minimum**

Enfin, les taux d'abattement en coliphages somatiques sont très majoritairement inférieurs à 4 log, pour les filières suivantes :

- Boues liquides en stockage non aéré (n=10)
- Filtres planté de roseaux (rhizocompostage et rhizofiltration) (n= 9)

**Pour ces filières « boues liquides » et « filtres plantés de roseaux », au vu des résultats obtenus, il n'est pas proposé de faire évoluer les dispositions de l'arrêté du 30 avril 2020.**

Enfin, des données complémentaires incluant d'autres stations permettraient de statuer sur les filières comme les lits de séchage ou la digestion anaérobie mésophile. Par ailleurs, des études sur le chaulage des silos de stockage des boues liquides ont été engagées récemment afin de trouver une solution pour l'épandage de ces boues liquides. Une détermination du taux d'abattement en coliphages somatiques permettrait de valider ou non cette option.

**Synthèse des propositions par filière :**

Filières	Conditions de stockage minimum requis	Conditions d'épandage particulières
<b>Boues chaulées</b>	3 mois	aucune
<b>Serre solaire ou avec plancher chauffant</b>	taux de matière sèche > 80%	aucune
<b>Lit de séchage</b>	1.5 mois	Confirmation d'un taux d'abattement en coliphages somatiques de 4 log pour chaque lot
<b>Digestion anaérobie mésophile</b>	4 mois	Confirmation d'un taux d'abattement en coliphages somatiques de 4 log pour chaque lot
<b>Boues liquides en stockage non aéré</b>	Aucune	Hygiénisation requise (arrêtés 1998 et 2020)
<b>Filtres planté de roseaux</b>	Aucune	Hygiénisation requise (arrêtés 1998 et 2020)



## 6 REFERENCES

Avis Anses Saisine n° 2020-SA-0043 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, 27 mars 2020

Sophie Lardy-Fontan et Béatrice Lalere – Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau – Rapport AQUAREF 2006 –45 p.

NF EN ISO 10705-1 Qualité de l'eau Détection et dénombrement des bactériophages Partie Dénombrement des bactériophages ARN F spécifiques.

NF EN ISO 10705-2 Qualité de l'eau - Détection et dénombrement des bactériophages - Partie 2 : dénombrement des coliphages somatiques.

NF EN ISO 10705-3 Qualité de l'eau - Détection et dénombrement des bactériophages - Partie 3 : validation des méthodes de concentration des bactériophages dans l'eau

NF EN 12880 Caractérisation des boues - Détermination de la teneur en matière sèche et de la teneur en eau.

Pr ISO TS 5667:25 Water quality - Sampling - Part 25: Guideline on the validation of the preservation time of water samples

Lucena F., Blanch A.R. and Jofre J. (2007) Suitability Study Report Development of a standardised protocol for analyses somatic coliphages in sludge, soil and treated biowastes. (DL 2/4.2).

Giuseppina La Rosa, Lucia Bonadonna, Luca Lucentini, Sebastien Kenmoe, Elisabetta Suffredini, Coronavirus in water environments: Occurrence, persistence and concentration methods - A scoping review, Water Research, 179, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115899>.

Masaaki Kitajima, Warish Ahmed, Kyle Bibby, Annalaura Carducci, Charles P. Gerba, Kerry A. Hamilton, Eiji Haramoto, Joan B. Rose, SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs, Science of The Total Environment, 739, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>.


Gwenaëlle PIERRE-COLLET (2010) Rétention de virus en ultrafiltration : protocole de caractérisation. Doctorat de l'Université de Toulouse. <http://www.theses.fr/2010TOU30085>

HORIZONTAL STANDARDS ON HYGIENIC PARAMETERS FOR IMPLEMENTATION OF EU DIRECTIVES ON SLUDGE, SOIL AND TREATED BIO-WASTE SSPI-CT-2004- 513660

Juan Jofre, Francisco Lucena, Anicet R. Blanch and Maite Muniesa, Coliphages as Model Organisms in the Characterization and Management of Water Resources, Water 2016, 8, 199; doi:10.3390/w8050199.

Paris, le 23 septembre 2020

La Responsable du Département  
Biomédical et Chimie Organique



**Béatrice LALERE**

Les Responsables techniques



**Sophie LARDY-FONTAN**



**Nathalie GUIGUES**

