

## ANALYSE DE THÈSE

### DEVENIR DES VIRUS ENTERIQUES DE L'HOMME DANS LES EAUX ET LES SOLS ; VERS UNE COMPARAISON DE SCENARIOS DE REJETS ET DE RECYCLAGES

Thèse de **Vincent TESSON**<sup>1</sup>

Analysée par **Jean Charles MUNCH**<sup>2</sup>

Directeur de thèse : Pierre RENAULT, Directeur de recherche INRA Avignon

Le travail de thèse de Vincent Tesson a pour objectif d'étudier le devenir environnemental de virus, particulièrement de virus entériques pathogènes pour l'Homme, dans les eaux usées pouvant être réutilisées comme des eaux d'irrigation pour les cultures agricoles. Les compartiments pris en compte sont : les entrées et sorties de stations d'épuration, les rivières recevant les eaux usées traitées, les diluant et les mélangeant à l'eau d'une autre rivière, le sol agricole et une plante comestible étudiée sur sol en serre (l'oignon). Les approches méthodologiques comprennent tant des expérimentations et des analyses chimiques et moléculaires que des modélisations mathématiques, ce qui démontre déjà la pluridisciplinarité de la thèse : virologie, épidémiologie, milieux aquatiques et terrestres, modélisation.

L'étude a porté essentiellement sur des sites à proximité de Clermont-Ferrand :

- Sur la rivière Artière (bassin versant de l'Allier), avec des quantifications de virus effectuées entre juin 2015 et août 2016 ;
- Sur des surfaces agricoles irriguées par des eaux usées (1500 ha, 51 fermes), avec le choix du site « Limagne Noire », irrigué depuis des années par des eaux usées traitées (plus un lagunage), pour réaliser les analyses du sol et les prélèvements de sol superficiel, destinée à l'expérimentation en colonnes de sol (rétention de virus et survie d'un norovirus de collection) et en pots (oignons) ;
- En amont, sur la station d'épuration des eaux usées « Les Trois Rivières », pour la collecte des eaux usées d'environ 238 000 habitants.

En effet, le monde fait face à des problèmes croissants de ressources en eaux douces, en quantité et en qualité. En même temps, l'accroissement démographique conduit à une surexploitation des ressources « eaux » et au rejet accru d'eaux usées, généralement non ou insuffisamment traitées. Dans cette optique, la réutilisation des eaux usées présente actuellement de nombreux atouts, tout en n'étant aucunement une pratique nouvelle. Elle est une option à prendre sérieusement en compte, également dans nos pays européens. De nombreux pays et de nombreuses régions (dont la France) réutilisent des eaux usées pour l'irrigation agricole, avec un effet fertilisant, vue la charge en éléments nutritifs. Ces eaux ne sont pas toujours bien accueillies, compte tenu des risques hygiéniques (organismes pathogènes, produits toxiques pharmaceutiques) et environnementaux (charges de métaux lourds, certes en décroissance vu les traitements additionnels en station d'épuration pour précipiter les phosphates et ainsi les éliminer dans les rejets dans les rivières). De nombreux travaux se sont intéressés à ces risques. Les risques par virus entériques pathogènes pour l'Homme ont été moins bien pris en compte. Vincent Tesson en explique les causes dans sa synthèse bibliographique, d'ailleurs très complète à la vue de la pluridisciplinarité de sa thèse : la détection et la quantification des virus

<sup>1</sup> Thèse de Doctorat en Biologie de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, présentée et soutenue le 14 mars 2018. Ecole Doctorale « AGROSCIENCES & SCIENCES »

<sup>2</sup> Membre titulaire de l'Académie d'agriculture de France, section V (Interactions-milieu-être vivants)  
Directeur émérite au Centre de Recherches Helmholtz de Munich (Institut d'Ecologie des Sols) et de la Chaire d'Ecologie des Sols à l'Université Technique de Munich/Allemagne.

restaient très complexes jusqu'au développement des méthodes moléculaires. La détection par sérologie (réaction antigène viral / anticorps), première technique développée durant la première moitié du XXe siècle, reste d'actualité (détection du VIH, des virus des hépatites ou du virus de l'herpès), ainsi que les tests ELISA et d'immunofluorescence. La culture cellulaire (depuis 1948) permet l'isolement de virus (réplication de particules virales dans des cellules hôtes, primaires ou tumorales). La méthode PCR de biologie moléculaire (au cours des années 1990) permet enfin la détection directe du génome ADN du virus et par qPCR la quantification des virus identifiés.

C'est la méthode moléculaire avec détection de génomes spécifiques qui permettra à Vincent Tesson de quantifier les virus pathogènes choisis, c'est-à-dire norovirus (Génogroupes I et II), rotavirus, entérovirus, adénovirus et virus hépatite A. L'analyse de l'indicateur classique pour contaminations entériques, *Escherichia coli*, fut entreprise par un laboratoire départemental. Les apports de virus par les eaux communales dans les stations d'épuration furent également estimés correctement par le biais des analyses épidémiologiques de la région (p.ex. coopération avec la Sécurité Sociale et des médecins).

Le virus de l'hépatite A ne fut jamais détecté. L'évolution des autres virus dans la station d'épuration et la rivière est surtout dépendante des conditions physico-chimiques, comme température, pH, etc. Dans le sol, le virus modèle était progressivement éliminé ou immobilisé. Une isotherme de Freundlich permet l'estimation de l'immobilisation. Le  $Mg^{2+}$  favorise l'immobilisation du virus par son adsorption sur des colloïdes dispersés. L'expérience modèle en serre pour estimation de la contamination de l'oignon vert *via* les racines a surtout montré la dépendance du mode d'irrigation (aérienne, *versus* de surface, *versus* en sol).

L'ensemble de la thèse représente un document de 124 pages, plus cinq annexes comptant approximativement le même nombre de pages.

Le corps principal de la thèse comporte trois chapitres.

Le chapitre I présente une importante « Synthèse bibliographique ».

Les chapitres II et III suivants sont rédigés en anglais. Ils sont constitués de manuscrits objets de la présente analyse et soumis à deux revues. Après révision ils ont par la suite été publiés comme suit :

1. Tesson V., Belliot G., Estienney M., Wurtzer S., Renault P. 2019. Vomiting symptom of acute gastroenteritis estimated from epidemiological data can help predict river contamination by human pathogenic enteric viruses. *Environment International* 123, February 2019, 114-123. (<https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.058>), et,
2. Tesson V., de Rougemont A., Capowicz L., Renault P. 2018. Modelling the removal and reversible immobilization of murine noroviruses in a Phaeozem under various contamination and rinsing conditions. *European Journal of Soil Science* 69(6), 1068-1077. (<https://doi.org/10.1111/ejss.12719>)“.

La communauté scientifique a donc confirmé la qualité de l'approche et des résultats. Ces deux articles sont précédés d'une introduction rédigée en français.

Le chapitre IV forme la « Discussion générale et conclusions ». Les annexes comportent un manuscrit à soumettre, tout en étant un rapport de projet, deux « Supporting information » et une synthèse bibliographique pour le CNRS, ainsi que le résumé vulgarisé de la thèse pour l'INRA. Vincent Tesson est premier auteur de tous les manuscrits, qui comptent plusieurs auteurs.

La très bonne qualité scientifique de ce travail, ciblé sur un problème agronomique potentiel pour l'avenir, sinon concernant le présent, et qui a été très bien traité en vraie pluridisciplinarité, est à souligner également dans ce rapport.

Le jury souligne cette maîtrise de la réelle pluridisciplinarité de Vincent Tesson perceptible dans toutes les facettes de son travail. Le jury atteste également la maturité scientifique de Vincent Tesson pour la soutenance orale.