

Ce rapport exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts et ne représente pas nécessairement les décisions ou la politique officiellement adoptées par l'Organisation mondiale de la Santé

Les virus humains dans l'eau, les eaux usées et le sol

Rapport d'un groupe scientifique
de l'OMS

Organisation mondiale de la Santé
Série de Rapports techniques
639



Organisation mondiale de la Santé, Genève 1979

ISBN 92 4 220639 3

© Organisation mondiale de la Santé, 1979

Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé bénéficient de la protection prévue par les dispositions du Protocole N° 2 de la Convention universelle pour la Protection du Droit d'Auteur. Pour toute reproduction ou traduction partielle ou intégrale, une autorisation doit être demandée au Bureau des Publications, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse. L'Organisation mondiale de la Santé sera toujours très heureuse de recevoir des demandes à cet effet.

Les appellations employées dans cette publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part du Secrétariat de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites.

La mention de firmes et de produits commerciaux n'implique pas que ces firmes et produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

IMPRIMÉ EN SUISSE

79/4491 — 2300 — Concorde

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
1. Introduction	5
2. Les virus humains dans l'eau polluée	6
2.1 Entérovirus	8
2.2 Virus de l'hépatite A	9
2.3 Virus de la gastro-entérite du type Norwalk	10
2.4 Réovirus et rotavirus	10
2.5 Adénovirus	10
2.6 Parvovirus	11
3. Dose infectante minimale de virus ingérés	11
4. Limites des investigations épidémiologiques	12
5. Sources d'infection	13
5.1 Eaux usées	13
5.2 Eau de boisson	15
5.3 Eau de mer	17
5.4 Eaux utilisées à des fins récréatives	19
5.5 Sols et cultures	20
5.6 Eaux souterraines	22
5.7 Aérosols	24
6. Surveillance des virus	26
6.1 Objectif	26
6.2 Méthodes	27
6.3 Les bactéries et les bactériophages, indicateurs de la présence de virus intestinaux	31
7. Elimination des virus par divers procédés de traitement	32
7.1 Eaux usées	32
7.2 Boues	33
7.3 Eau de boisson	34
8. Recyclage naturel et réutilisation intentionnelle de l'eau	37
8.1 Recyclage naturel et pollution	37
8.2 Réutilisation intentionnelle de l'eau	37
8.3 Limites admissibles de contamination virale	39
9. Conclusions	39
10. Recommandations	41
Références bibliographiques	43
Remerciements	47
Annexe 1. Méthodes de détection des virus dans l'eau et dans les boues	48

GRUPE SCIENTIFIQUE OMS SUR LES VIRUS HUMAINS DANS L'EAU,
LES EAUX USÉES ET LE SOL

Genève, 23-27 octobre 1978

*Membres**

- D^r G. A. Bagdasarjan, Chef du Laboratoire de Virologie sanitaire, Institut A.N. Sysin d'Hygiène générale et municipale, Moscou, URSS
- D^r G. Berg, Biological Methods Branch, Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, Etats-Unis d'Amérique
- D^r Hou Yunte, Collaborateur assistant, Institut de Virologie, Académie chinoise des sciences médicales, Beijing (Pékin), Chine
- D^r Kuo Ren, Collaborateur assistant, Institut de Biologie médicale, Académie chinoise des sciences médicales, Kuming Shi, Chine
- D^r E. Lund, Département de virologie et d'immunologie vétérinaires, Université royale d'art vétérinaire et d'agronomie de Copenhague, Danemark
- D^r J. L. Melnick, Department of Virology and Epidemiology, Baylor College of Medicine, Houston, TX, Etats-Unis d'Amérique (*Président*)
- D^r V. Chalapati Rao, Virologist, National Environmental Engineering Research Institute, Nagpur, Inde (*Vice-Président*)
- Professeur H. I. Shuval, Laboratoire d'hygiène du milieu, Ecole de Médecine Hadassah de l'Université hébraïque, Jérusalem, Israël
- D^r J. S. Slade, Virologist, Thames Water Authority, Londres, Angleterre (*Rapporteur*)
- D^r Sng Ewe Hui, Department of Pathology, Ministry of Health, Singapour

Secrétariat

- D^r P. Brès, Chef du service des Maladies à Virus, OMS, Genève, Suisse (*Secrétaire*)

* N'a pas pu participer à la réunion: le D^r S. G. Drozdov, Directeur de l'Institut de la Poliomyélite et des Encéphalites virales, Moscou, URSS.

LES VIRUS HUMAINS DANS L'EAU, LES EAUX USÉES ET LE SOL

RAPPORT D'UN GROUPE SCIENTIFIQUE DE L'OMS

Un groupe scientifique de l'OMS sur les virus humains dans l'eau, les eaux usées et le sol s'est réuni à Genève du 23 au 27 octobre 1978. Le Dr P. Brès a ouvert la réunion au nom du Directeur général. Le Dr J. L. Melnick, le Dr V. C. Rao, et le Dr J. S. Slade ont été élus, respectivement, Président, Vice-Président et Rapporteur.

1. INTRODUCTION

On se préoccupe sans cesse davantage de la contamination de l'eau et du sol par les virus. Cette contamination, qui favorise la propagation des maladies virales, est lourde de conséquences qui ne sont pas encore pleinement perçues par le corps médical et les agents de la santé publique.

Dans la plupart des cours d'eau utilisés comme sources d'eau potable, on trouve des quantités variables d'eaux usées à une concentration pouvant atteindre 50% et plus en période d'étiage. L'urbanisation extrêmement rapide des pays en développement est à l'origine de problèmes critiques d'approvisionnement en eau et d'élimination des déchets. Dans de nombreuses régions du monde, tant développées qu'en développement, l'utilisation croissante des ressources en eau disponibles, due à l'augmentation de la population mondiale et au développement parallèle des besoins industriels, rend inévitable le recyclage des eaux usées domestiques.

On possède des connaissances pratiques étendues en matière de surveillance et de traitement de la contamination bactérienne des eaux, mais on connaît mal la pollution virale. Les méthodes actuelles de traitement des eaux ne sont pas toujours suffisantes pour empêcher que des virus ne pénètrent dans les approvisionnements publics en eau. Il est d'importance majeure d'élaborer des méthodes permettant d'éliminer efficacement les virus pathogènes pour l'homme des eaux fortement polluées faisant l'objet d'un recyclage.

Bien que trente années se soient écoulées depuis qu'ont été effectuées les premières études sérieuses sur la présence dans l'eau de virus

intestinaux humains, l'importance de cette contamination pour la santé publique reste encore à déterminer (1, 2), en partie parce qu'il n'existe pas de méthodes permettant de déceler les virus intestinaux. Les études qui ont été effectuées ont montré que ces virus n'ont aucune peine à résister aux méthodes actuelles de traitement des eaux usées et que nombre d'entre eux peuvent survivre plusieurs mois dans les eaux naturelles. Peu de rapports ont été publiés sur la contamination virale de l'eau dans les régions en développement, mais il y a tout lieu de penser que celle-ci est fréquente dans les zones où les conditions d'hygiène laissent particulièrement à désirer, et que les virus doivent y être présents en très grand nombre.

L'OMS, par son Programme de salubrité de l'environnement, s'est déjà occupée de la lutte contre la pollution de l'eau dans les pays en développement (3), de la réutilisation des effluents (4) et de l'évacuation des eaux usées communautaires (5). De plus, l'Organisation se préoccupe des effets sur la santé publique de la pollution virale d'aliments tels que les fruits de mer (6, 6a). Les comptes rendus de la Conférence internationale sur les virus présents dans l'eau, qui s'est tenue à Mexico en 1974 sous les auspices de l'American Public Health Association et de l'Organisation panaméricaine de la Santé, offrent une très utile étude globale de la situation (7). En 1975, le Bureau régional de l'OMS pour l'Europe a réuni un groupe de travail sur l'examen bactériologique et virologique de l'eau qui a permis d'établir un manuel de procédures — à paraître prochainement (8) — à l'intention des virologistes et des personnels des laboratoires de santé publique qui ont à s'occuper de ce problème.

Le présent rapport présente une évaluation de l'importance de la présence de virus dans l'eau, les eaux usées et le sol pour la santé publique, et de la nature des risques que courent les personnes exposées; il traite des différentes méthodes qui permettent de déceler la présence de virus dans diverses situations et recense les domaines de recherche prioritaires. L'importance croissante que vont prendre ces problèmes au cours des dix ou vingt prochaines années devrait retenir l'attention de tous les responsables de la santé publique et de la planification économique, tant dans les pays développés que dans les pays en développement.

2. LES VIRUS HUMAINS DANS L'EAU POLLUÉE

On connaît plus de 100 types différents de virus excrétés dans les selles de l'homme (tableau 1). Les selles d'une personne infectée,

Tableau 1. Virus intestinaux humains se rencontrant dans l'eau

Groupes de virus	Nombre de types	Maladies provoquées
Entérovirus:		
Poliovirus	3	Paralysie, méningite, fièvre
Echovirus	34	Méningite, infections respiratoires, éruptions cutanées, diarrhée, fièvre
Virus Coxsackie A	24	Pharyngite vésiculeuse, infections respiratoires, méningite, fièvre
Virus Coxsackie B	6	Myocardite, anomalies cardiaques congénitales, éruptions cutanées, fièvre, méningite, infections respiratoires, myalgie
Nouveaux entérovirus	4	Méningite, encéphalite, infections respiratoires, conjonctivite hémorragique aiguë, fièvre
Hépatite A (probablement un entérovirus)	1	Hépatite infectieuse
Virus de la gastro-entérite (agents du type Norwalk)	2	Diarrhées et vomissements épidémiques, fièvre
Rotavirus (famille des Réoviridae)	?	Diarrhées et vomissements épidémiques, principalement chez les enfants
Réovirus	3	Pathologie incertaine
Adénovirus	>30	Infections respiratoires, infections oculaires
Parvovirus (virus adéno-satellites)	3	Associé aux maladies respiratoires de l'enfance, mais étiologie incertaine

Note: Les autres virus, qui du fait de leur stabilité, peuvent contaminer l'eau sont les suivants:

1) les papovavirus du type SV40, qui se rencontrent dans l'urine. Le sous-type JC est associé à la leuco-encéphalite multifocale progressive.

2) le virus de la maladie de Creutzfeld-Jakob (C-J). Comme le virus de la tremblante du mouton, le virus de la maladie de C-J résiste à la chaleur et au formol. Il provoque une encéphalopathie spongieuse, caractérisée par des formes sévères progressives de démence et d'ataxie.

qu'elle présente ou non des signes cliniques, peuvent contenir plus de 1 000 000 de particules infectieuses par gramme. Des concentrations de virus infectieux pouvant atteindre 100 000 particules par litre ont été découvertes dans des eaux usées non traitées. Ces virus peuvent survivre plusieurs mois dans les eaux usées, l'eau du robinet, le sol et les fruits de mer. De plus, ils sont capables de résister aux méthodes classiques de traitement des eaux et d'épuration des eaux usées, y compris la chloration, et peuvent se rencontrer loin de la source de contamination.

2.1 Entérovirus

Les poliovirus, les virus Coxsackie A et B, et les echovirus sont des espèces différentes du genre *Entérovirus* (famille des Picornaviridae). L'expression «virus intestinaux» — employée en épidémiologie — désigne tous les virus disséminés par la voie fécale. Ces virus se multiplient principalement dans l'appareil digestif et sont évacués en quantité importante dans les selles pendant un laps de temps variable, la période moyenne d'excrétion pouvant atteindre 50 jours. Les entérovirus les mieux étudiés sont les poliovirus, les moins étudiés étant les nombreux sérotypes du virus Coxsackie A qui sont en général isolés chez les souriceaux à la mamelle. De nombreuses études ont révélé la présence d'entérovirus dans les eaux d'égout, dans les effluents de stations d'épuration et dans des cours d'eau pollués. Bien que jusqu'à présent on n'ait pu démontrer avec certitude le rôle des fruits de mer dans la transmission des entérovirus, on sait que les palourdes et les huîtres cultivées dans l'eau polluée acquièrent et hébergent des virus intestinaux tels que celui de l'hépatite A. Ces virus peuvent persister dans les fruits de mer crus ou insuffisamment cuits.

Les poliovirus peuvent être à l'origine de troubles graves du système nerveux. En fait, des troubles cliniques ne se manifestent qu'entre 1 cas sur 100 et un peu plus de 1 cas sur 1000, ce qui dépend principalement de la virulence du virus et de l'âge de l'hôte. A l'heure actuelle, dans les pays où l'on fait un grand usage de vaccins renfermant des poliovirus vivants, les poliovirus évacués proviennent en général de ces vaccins et ne sont que faiblement pathogènes, bien qu'une réversion de la neurovirulence puisse se produire au cours du passage chez l'homme. Les autres entérovirus peuvent également causer des maladies du système nerveux, généralement passagères (méningite aseptique), mais parfois cliniquement similaires à la poliomyélite paralytique. Certains entérovirus, tels que le type 71, sont à l'origine d'importantes épidémies de maladies du système nerveux central, caractérisées par une encéphalite et ou une paralysie, dont l'issue est souvent mortelle. Les virus Coxsackie du groupe B peuvent également provoquer des maladies bien déterminées, entre autres la myalgie épidémique (maladie de Bornholm), la péricardite (principalement chez les personnes âgées), une myocardite grave et souvent fatale chez les nourrissons et des malformations congénitales (principalement cardiaques) chez les nourrissons nés de mères infectées au cours de la grossesse. De plus, des études sur des familles incitent à

penser que certaines infections dues à des entérovirus peuvent être à l'origine d'affections respiratoires bénignes. En résumé, les entérovirus peuvent provoquer des maladies graves, mais heureusement, dans la plupart des cas, chez une très faible proportion des sujets infectés seulement.

Cette faible fréquence des affections graves explique sans doute la rareté des rapports sur la propagation hydrique des entérovirus. Il existe un principe très important, parfaitement illustré par les poliovirus, à savoir que la gravité de l'issue de l'infection chez un hôte non immunisé est directement fonction de l'âge de l'hôte. Dans les pays en développement, où les poliovirus sont très répandus, l'infection touche en règle générale des hôtes très jeunes, chez lesquels le risque de maladies graves est le plus faible. Ainsi, la plupart des enfants plus âgés et des adultes sont immunisés. Dans ces régions, il arrive certainement que des entérovirus soient propagés par l'eau, ce qui peut jouer un rôle important dans le processus d'immunisation naturelle. L'amélioration des conditions d'hygiène dans certaines de ces régions se traduit par une progression de la poliomyélite paralytique, probablement parce que l'infection se produit à un âge avancé alors que la propagation des virus n'est pas totalement arrêtée. Une tendance analogue devrait se manifester (et se manifeste peut-être déjà) pour ce qui concerne les maladies provoquées par les autres entérovirus. Cependant les populations les plus vulnérables à ces maladies sont celles des pays développés. Les données sur la prévalence de l'immunité à l'égard des entérovirus autres que ceux de la poliomyélite sont fragmentaires, mais plusieurs études incitent à penser que les populations urbaines sont fréquemment exposées à ces agents.

2.2 Virus de l'hépatite A

L'agent de l'hépatite virale A a été identifié récemment et sera sans doute bientôt classé dans le genre *Enterovirus*. Il est excrété dans les selles pendant une période assez longue, et l'étude approfondie d'un grand nombre d'épidémies a permis de conclure qu'il est souvent propagé par l'eau. De plus, l'importante épidémie qui s'est produite en 1955-1956 à Dehli, Inde, à la suite de la pollution massive des réseaux d'approvisionnement en eau par des eaux d'égouts a mis fortuitement en évidence une caractéristique importante de l'agent responsable, à savoir sa capacité à résister aux concentrations de chlore résiduel, très fortement accrues pour faire face à l'épidémie, qui étaient apparemment suffisantes pour tuer la plupart des autres

pathogènes intestinaux vraisemblablement présents dans l'eau. De nombreuses autres épidémies d'hépatite virale A dues à la propagation du virus par l'eau ont été signalées (9).

2.3 Virus de la gastro-entérite du type Norwalk

Ces virus ont été récemment identifiés, et comme ils présentent une forte ressemblance avec les entérovirus ils seront peut-être bientôt classés comme tels. Le groupe paraît comporter au moins deux sérotypes différents. Il a été démontré que ces virus étaient à l'origine d'épidémies, mais on ne dispose pas encore de méthodes de laboratoire permettant de les isoler.

2.4 Réovirus et rotavirus

Les réovirus se rencontrent souvent dans les eaux de surface polluées. Ils sont très infectieux, mais on ne sait pas grand chose sur leur pouvoir pathogène. Il a été établi que les rotavirus — groupe récemment découvert des Reoviridae — sont les principaux agents pathogènes des diarrhées infantiles non bactériennes dans le monde. Le virus a été isolé chez 40% environ des nourrissons atteints de diarrhée, et chez 80 à 90% des nourrissons et des jeunes enfants hospitalisés pour diarrhées lors du pic hivernal d'épidémies dans les régions tempérées. Les individus infectés peuvent excréter des quantités très importantes de virus (10^9 particules par gramme de selles). On ne dispose cependant pas encore de méthodes d'essai biologique pour détecter la présence de rotavirus humains dans l'eau.

2.5 Adénovirus

Fréquemment considérés comme des virus des voies respiratoires, les adénovirus infectent presque toujours le tube digestif et sont évacués en grande quantité dans les selles. Si les symptômes provoqués par les infections circonscrites au tube digestif sont bénins, voire inexistantes, la présence concomitante de l'infection dans d'autres localisations — voies respiratoires et tissus conjonctifs — se traduit fréquemment par des affections patentes. L'excrétion d'adénovirus dans les selles est très répandue chez les jeunes enfants.

Bien que les recherches de virus dans les eaux polluées par les rejets d'égouts fassent ordinairement appel à des méthodes destinées à détecter les entérovirus, elles ont parfois permis de découvrir égale-

ment des adénovirus. Toutefois, les seuls cas bien documentés de propagation hydrique des adénovirus sont les épidémies de fièvre pharyngo-conjonctivale associées à la fréquentation des piscines.

2.6 Parvovirus

Les premiers parvovirus d'origine humaine qui ont été découverts sont les virus adéno-satellites, et les renseignements dont on dispose paraissent indiquer qu'il s'agit d'agents très stables. Des virus adéno-satellites ont été isolés dans les selles en même temps que des adénovirus et sont donc presque certainement présents dans les eaux contaminées. On ne dispose toutefois pas de données sur la fréquence des excréctions. Les études séro-épidémiologiques montrent que les anticorps des virus adéno-satellites, en particulier les types 2 et 3, se rencontrent très souvent chez les jeunes enfants et que l'infection peut être associée aux maladies respiratoires de l'enfance. Il n'existe pas à l'heure actuelle d'évaluation satisfaisante de l'importance des adéno-satellites pour la santé humaine.

3. DOSE INFECTANTE MINIMALE DE VIRUS INGÉRÉS

Il importe, pour évaluer les risques que crée la présence de virus dans l'eau et le sol, de déterminer la dose infectante minimale pour l'homme quand ces virus sont ingérés. Il est clair que, chez un hôte humain particulier, l'infection ne dépend pas seulement de la concentration du virus, mais également de plusieurs autres facteurs, parmi lesquels le type de virus, le mode de pénétration et la sensibilité de l'hôte.

Les données que l'on possède montrent que, pour toute une gamme de virus d'origine humaine, y compris les entérovirus, l'infection peut être provoquée chez l'homme par une seule unité infectante (10-16). Le nombre des cas où l'origine commune d'une épidémie n'est pas décelée est plus fréquent qu'on ne le pense généralement, comme le montre l'exemple hypothétique suivant, qui analyse les conséquences que peut avoir la présence d'un petit nombre de virus dans une source d'eau potable. Dans une ville de 1 000 000 d'habitants consommant de l'eau traitée par des procédés classiques mais insuffisants pour éliminer tous les virus, on peut s'attendre que la concentration de virus soit d'une unité infectante par 20 l d'eau

potable. On pourrait alors se trouver dans la situation suivante: en supposant que chaque habitant consomme à peu près 1 litre d'eau par jour, 50 000 individus en moyenne ingéreront quotidiennement au moins une particule infectante. Une estimation prudente, afin de tenir compte de l'immunité acquise de l'hôte et d'autres facteurs de résistance, montre que seulement 1% des individus exposés seront infectés, c'est-à-dire 500 individus par jour ou 182 500 (500×365) par an. En supposant qu'un individu infecté seulement sur 50 tombe malade, on obtient un chiffre annuel de 3650 personnes présentant des affections patentes caractérisées par une vaste gamme de symptômes dus aux virus intestinaux (voir tableau 1). Outre la charge que constitueraient ces malades, les 182 500 individus infectés pourraient jouer le rôle de porteurs et infecter à leur tour leurs contacts.

Compte tenu des considérations qui précèdent, le groupe scientifique est parvenu à la conclusion qu'il faut prévenir la présence de ne serait-ce que quelques virus intestinaux dans un grand volume d'eau potable, puisqu'il existe des méthodes de traitement permettant d'y parvenir et que l'on commence à disposer de techniques de détection qui devraient permettre d'assurer la surveillance nécessaire.

4. LIMITES DES INVESTIGATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les techniques épidémiologiques actuelles ne sont pas assez sensibles pour permettre de détecter une faible transmission des maladies virales par l'eau, et ce pour deux raisons principales:

1) La plupart des virus intestinaux provoquent un nombre tellement important de syndromes que des cas dispersés de maladies aiguës présenteraient vraisemblablement une symptomatologie trop variée pour qu'on les attribue à un agent étiologique unique.

2) Un grand nombre de virus causent des infections silencieuses dont l'origine hydrique est difficile à déceler. Un individu peut contracter une infection virale en entrant en contact avec de l'eau polluée, et le virus peut proliférer dans ses intestins ou ses voies respiratoires sans qu'il présente de symptômes patents de la maladie. Il souffrira peut-être seulement de légers troubles gastro-intestinaux ou respiratoires pendant quelques jours, ou bien ne présentera aucun symptôme, mais sera néanmoins porteur du virus et le transmettra par gouttelettes ou par contacts manuels à d'autres individus, chez lesquels pourront alors apparaître des symptômes aigus de la maladie.

Ces dernières années, 60% environ de tous les cas confirmés de maladies imputables à la consommation d'eau potable aux Etats-Unis ont été causés par des agents inconnus ou non identifiés. De plus, il n'existe pas à l'heure actuelle de méthodes éprouvées sur le terrain qui permettent de déceler dans l'eau les agents de l'hépatite virale A et de la gastro-entérite virale. Néanmoins, les nombreuses informations épidémiologiques dont on dispose aujourd'hui montrent que l'hépatite virale A est fréquemment propagée par l'eau et qu'elle a été à l'origine de nombreuses épidémies, parfois massives, dans diverses régions du monde telles que la Chine, les Etats-Unis et l'Inde. Un grand nombre de ces épidémies étaient certes associées à de petites sources d'alimentation en eau non traitée, mais des approvisionnements municipaux en eau traitée ont plusieurs fois été mis en cause (9, 17). Ces difficultés ont conduit à privilégier la recherche des entérovirus faciles à mettre en évidence dans l'eau en tant qu'indicateurs de la présence d'autres virus pathogènes.

5. SOURCES D'INFECTION

Il existe trois principales voies de transmission de virus intestinaux d'une personne à une autre: le contact direct, l'eau polluée par des matières fécales et les aliments contaminés. Ces trois voies de transmission sont jugées importantes, mais le groupe scientifique s'est principalement préoccupé de la seconde, et aussi de la troisième dans la mesure où des cultures peuvent être contaminées par de l'eau polluée. La figure 1 montre les voies potentielles de dissémination des virus transmis par l'eau.

5.1 Eaux usées

On trouve normalement un grand nombre de virus d'origine humaine tant dans les égouts que dans les eaux usées. Le nombre et le type des virus présents dépendent de la quantité et de la nature des virus excrétés par la population, du degré de dilution résultant d'apports d'eaux non contaminées par des virus et de l'aptitude des virus à survivre dans les conditions ambiantes. Ces facteurs peuvent varier beaucoup selon l'époque de l'année et l'état de santé de la collectivité. Les concentrations de virus dans les eaux usées dépendent aussi de l'efficacité du traitement. La plupart des procédés classiques

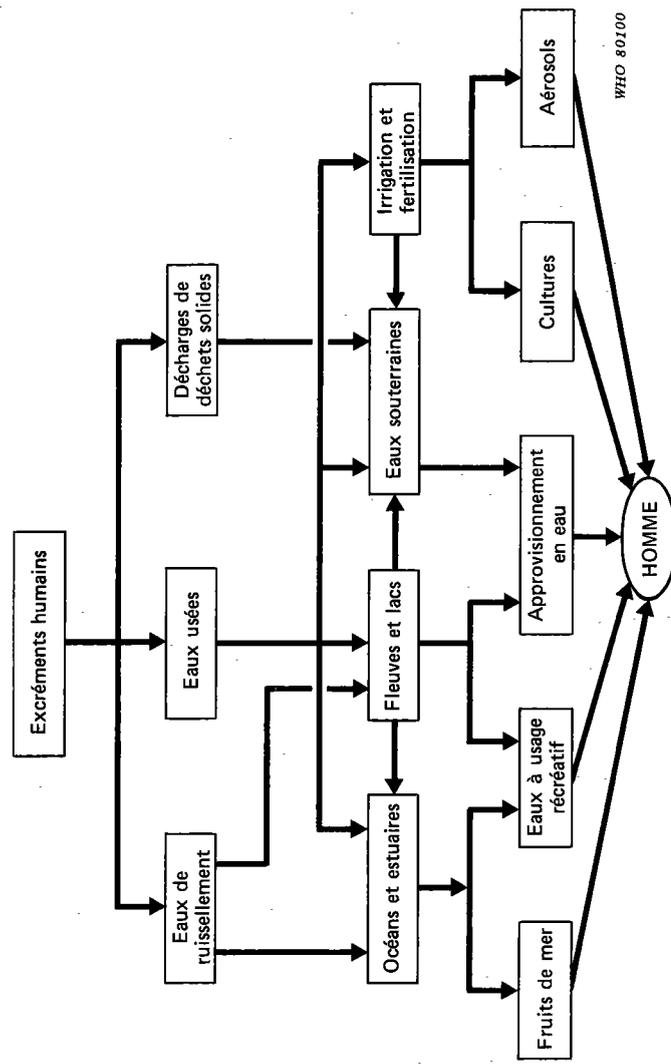


Fig. 1. Voies de transmission des virus intestinaux humains

Source: Référence 2, page 502.

de traitement réduisent ces concentrations, mais d'ordinaire un nombre important de virus survivent.

La variabilité du nombre des virus est illustrée par des données recueillies en Inde (18), où des virus ont été isolés dans 100% des échantillons d'eau d'égout non traitée et d'effluents prélevés tout au long de l'année dans diverses stations d'épuration. La surveillance exercée pendant 6 ans à Nagpur sur les eaux-vannes d'une collectivité groupant des familles à revenus moyens a mis en évidence des concentrations de virus allant de 200 à 11 000 unités formatrices de plages (UFP) par litre. L'observation des variations saisonnières a fait apparaître une augmentation très marquée pendant la saison des pluies, qui coïncide en général avec la période où l'on enregistre le plus grand nombre de cas de poliomyélite paralytique. Les poliovirus prédominaient dans les eaux d'égout de Nagpur (80% des isolats); 60% à 80% de ces poliovirus semblaient être des souches sauvages caractérisées par les résultats des épreuves de capacité de réplication à une température donnée (19). Dans les pays à climat tempéré, les concentrations maximales de virus dans les eaux d'égouts sont décelées pendant les mois chauds de l'été, et les concentrations minimales au plus fort de l'hiver, bien que des adénovirus et des échovirus se rencontrent aussi dans ces eaux au début de l'hiver.

5.2 Eau de boisson

Les sources d'eau de boisson peuvent être fortement contaminées. Par exemple, en Europe, des entérovirus à des concentrations atteignant 300 UFP/l ont été isolés dans les eaux du Rhin, de la Seine, de la Marne et de la Moselle (20). Au Ghana (21), il a été signalé que non seulement les cours d'eau et les étangs mais aussi l'eau des puits contenaient des entérovirus. Des poussées d'hépatite virale A se sont produites dans certaines zones rurales de Chine à la fin des années 50 et au début des années 60. Pour des raisons épidémiologiques, on a estimé que ces poussées étaient imputables à la contamination de cours d'eau et de puits profonds qui constituaient la source d'approvisionnement en eau de boisson (Hou Yunte, communication personnelle). En 1976, une poussée d'hépatite virale A transmise par l'eau a été observée pendant la saison des pluies dans une zone rurale à Liaoning Sheng, dans le nord de la Chine, où, à la suite de fortes pluies, les fosses de curage avaient débordé, ce qui avait provoqué une contamination des puits profonds par les eaux d'égout. Pendant cette épidémie plus de 1000 personnes ont été contaminées.

Bien que les méthodes utilisées pour concentrer et déceler de petits nombres de virus dans de grands volumes d'eau n'aient pas été normalisées et que l'efficacité des méthodes actuellement employées soit très variable, il importe de noter que, dans divers pays, des virologistes ont pu démontrer la présence de virus intestinaux dans des échantillons d'eau de boisson prélevés dans des réseaux d'approvisionnement public en eau, notamment dans des réseaux où l'eau est traitée par des méthodes classiques de filtration et de désinfection.

En Inde, on a entrepris récemment des recherches pour déceler la présence éventuelle de virus dans de l'eau traitée par des méthodes classiques et aussi pour évaluer la qualité virologique de l'eau fournie au consommateur (18). L'isolement subséquent d'entérovirus humains dans certains échantillons prélevés dans le réseau de distribution suggère que des eaux souterraines contaminées ont pu pénétrer dans les conduites par des fissures, en des points peu éloignés de ceux où les échantillons ont été prélevés. En dépit de la présence de 0,2-0,8 mg/l de chlore résiduel total, la découverte de virus dans certains échantillons indique que la durée du contact avec le chlore a été insuffisante. Des études effectuées au cours de poussées d'hépatite virale A à Yeotmal et à Kamptee (petites villes proches de Nagpur), ainsi qu'à Bombay, ont abouti à l'isolement d'autres virus à des concentrations de 1-7 UFP dans des échantillons de 12 à 40 l d'eau de boisson prélevés dans le réseau de distribution. La surveillance systématique de l'eau du robinet pendant les périodes interépidémiques à Nagpur a révélé la présence de 1-7 UFP pour 30-60 l d'eau (des virus ayant été découverts dans 7 des 50 échantillons examinés).

Au cours d'une étude faite pendant les années 60 à Paris, des virus intestinaux ont été découverts dans 18% de 200 échantillons, et la concentration moyenne de virus a été estimée à 1 unité infectieuse par 250 l. Un rapport reçu d'Afrique du Sud (22) a signalé que des échantillons d'eau de boisson traitée (qui ne contenaient pas de coliformes fécaux) renfermaient des virus. Selon une étude faite en Roumanie (23), des virus Coxsackie ont été découverts dans 2 échantillons d'eau de boisson, sur 65 échantillons examinés. Dans ce cas, le traitement avait consisté en une floculation faite avec du sulfate d'alumine et de la chaux, suivie par une filtration sur sable. Plus récemment, aux États-Unis d'Amérique, des poliovirus ont été découverts en plusieurs occasions dans de l'eau de boisson traitée contenant 1,3-1,7 mg/l de chlore total (24). En Israël, des entérovirus ont été trouvés dans 5 puits sur un total de 21 puits ordinaires qui four-

nissaient de l'eau de boisson non traitée dans laquelle les coliformes étaient parfois très peu nombreux ou absents (H.I. Shuval, communication personnelle).

En URSS, des chercheurs ont signalé que des virus intestinaux avaient été isolés dans des échantillons d'eau de boisson, répondant aux normes bactériologiques nationales, prélevés dans les réseaux de distribution de Moscou et de Kujbišev après application d'une méthode de traitement classique dans des installations fonctionnant bien (25, 26). Depuis l'introduction en 1975 d'une nouvelle norme selon laquelle l'eau doit être désinfectée de façon telle qu'il subsiste un résidu de chlore libre ($\text{HOCl} + \text{OCl}^-$) de 0,3 mg/l après 30 minutes de contact, aucun virus n'a été découvert dans les réseaux de distribution d'eau des collectivités ayant adopté cette méthode (G. A. Bagdasarjan, communication personnelle). Apparemment, la chloration par la méthode pratiquée antérieurement en vue d'obtenir un résidu de chlore combiné ne suffisait pas à inactiver les virus qui n'avaient pas été éliminés par filtration au cours du traitement.

A Londres, les concentrations de virus intestinaux découvertes dans la Tamise aux points de puisage des eaux destinées à l'approvisionnement de la ville variaient de 100 UFP/l pendant les mois d'hiver à moins de 1 UFP/10 l en été, des résultats négatifs n'ayant été obtenus qu'en de rares occasions (J. S. Slade, communication personnelle). Aucun virus n'a toutefois été découvert après un traitement consistant en un stockage de 2 à 6 semaines et en une filtration sur sable rapide puis lente suivie d'une chloration finale visant à obtenir au moins 0,5 mg/l de chlore résiduel libre après 1 heure de contact.

5.3 Eau de mer

Beaucoup de collectivités déversent leurs déchets dans des estuaires, des baies, des ports et d'autres eaux côtières. Les océans reçoivent ainsi des effluents d'égouts et des boues. Lorsque l'océan est utilisé de la sorte, il existe un danger constant de pollution des zones de culture de fruits de mer et donc une menace potentielle pour la santé publique.

De nombreuses poussées d'hépatite virale A associées à la consommation de fruits de mer crus élevés dans des eaux de mer contaminées par des égouts ont été signalées (6, 6a). De tels cas ont confirmé que le virus peut survivre suffisamment longtemps dans des eaux d'égout et par la suite dans la mer et dans les aliments qui en

proviennent pour permettre la transmission effective de la maladie par l'entremise du milieu marin.

Il a fallu mettre au point des méthodes spéciales pour détecter la présence de virus dans l'eau de mer et les sédiments, pour mesurer leur inactivation et pour évaluer la validité des indicateurs bactériens de pollution virale. De récents progrès dans les méthodes de concentration de virus provenant d'eaux et de sédiments marins ont rendu possible des études sur le terrain. Des entérovirus peuvent être maintenant concentrés à partir de volumes de 400 l d'eau de mer turbide avec une efficacité moyenne de 50%, et ils peuvent aussi être récupérés dans des sédiments marins. La présence de virus intestinaux dans les estuaires et dans l'eau de mer est signalée dans de nombreux documents. Par exemple, l'examen de 48 échantillons d'eau de mer prélevés à des distances variables d'un émissaire d'égouts aboutissant au large de Tel Aviv montre que 14 d'entre eux contenaient des entérovirus (H. I. Shuval, communication personnelle). Aux Etats-Unis d'Amérique, des entérovirus ont été découverts dans des eaux peu profondes et moyennement polluées le long des côtes aussi bien qu'aux abords d'émissaires sous-marins profonds déversant des eaux usées chlorées ayant passé par la phase secondaire du traitement.

La présence d'un nombre minime de coliformes dans les échantillons d'eau est sans rapport avec le degré de contamination virale. La découverte de virus intestinaux dans l'eau de mer en l'absence de coliformes fécaux ($< 1/100$ ml) a été signalée dans plusieurs études. Cela implique qu'un indicateur bactérien, comme la présence de coliformes fécaux, peut être parfois inadéquat en tant que moyen de détecter la présence de virus dans des eaux contaminées. Les techniques de surveillance de la qualité de l'eau devraient comprendre des indicateurs distincts pour les bactéries et pour les virus.

La persistance des entérovirus dans le milieu marin a été démontrée. Dans la mer, l'inactivation virale est un processus relativement lent, une journée ou à peu près étant nécessaire pour réduire la concentration de 90%, alors que les bactéries coliformes disparaissent rapidement, le même taux de réduction étant généralement atteint en quelques heures au plus. Il a été signalé que des virus intestinaux avaient survécu plus de 130 jours dans de l'eau de mer conservée en laboratoire. Le facteur primordial en ce qui concerne la survie des virus semble être la température, le temps de survie étant considérablement plus long à basse température. D'autres facteurs qui semblent jouer un rôle dans l'inactivation virale sont l'antagonisme bactérien, la présence de matières solides en suspension, la salinité, la

pollution, l'irradiation solaire et le type de virus en cause. L'inactivation dans l'eau de mer paraît être, dans une large mesure, imprévisible: par exemple, le processus d'inactivation s'est présenté de façon fort différente dans des eaux de même salinité prélevées au même endroit en des jours différents. Ces variations incitent à penser que l'élimination naturelle s'effectue au hasard des circonstances, suivant le type de virus, les différences physiochimiques existant dans des populations de virus du même type et la composition physique, biologique et chimique de l'eau.

De fortes concentrations de virus dans des sédiments d'eau de mer polluée par des eaux d'égouts ont également été signalées dans de récentes études de terrain. Les virus adsorbés par de tels solides restent infectieux tant pour les cultures tissulaires que pour l'organisme humain, et survivent plus longtemps que les virus libres. Les virus présents dans les sédiments peuvent continuer à poser un problème de santé publique car l'interface eau/boue n'est pas un système statique. Les sédiments peuvent facilement être remis en suspension par les courants, les tempêtes, les mouvements de bateaux ou de nageurs, les dragages ou des changements de la qualité de l'eau. Dès lors, l'examen d'échantillons d'eau recueillis en surface seulement risque de ne pas donner une idée exacte du danger de propagation de maladies virales.

5.4 Eaux utilisées à des fins récréatives

Lorsqu'elles sont utilisées à des fins récréatives, les eaux polluées peuvent constituer une menace pour la santé, notamment pour celle des nageurs (surtout si ceux-ci ont parfois la tête immergée), mais le seul fait de patauger ou de pratiquer la navigation de plaisance dans de telles eaux expose aussi à l'infection. On considère généralement que ce risque est moindre que celui que l'on court en buvant de l'eau polluée. Toutefois, tant les nageurs que les non nageurs peuvent avaler de 10 à 50 ml d'eau chaque fois qu'ils se baignent et risquent ainsi d'ingérer des virus. Indépendamment de l'ingestion, les muqueuses exposées et toute brèche dans la barrière protectrice que constitue la peau peuvent laisser pénétrer des virus.

On a parlé du rôle des piscines dans la propagation des conjonctivites et des pharyngites à adénovirus ainsi que des méningites à entérovirus. Le virus Coxsackie B5 a été isolé chez des patients ayant nagé dans des lacs où la présence de cet organisme avait été constatée. Les bassins qui ne contiennent pas de chlore résiduel libre

permettent au virus de survivre et de se multiplier et peuvent ainsi devenir une source d'infection en ce qui concerne les maladies virales sévissant dans la collectivité. Les risques d'infection dans des piscines convenablement entretenues et désinfectées ne paraissent pas grands, mais les exemples d'infections contractées dans des piscines mal entretenues montrent que le danger existe.

Les maladies gastro-intestinales sont sensiblement plus fréquentes chez les personnes qui pratiquent la natation dans de l'eau de mer polluée que chez les non nageurs ou chez les personnes qui nagent dans de l'eau de mer non polluée (27). Il a été constaté que le groupe le plus vulnérable était celui des enfants jusqu'à l'âge de 10 ans, et il est possible que les rotavirus jouent un rôle dans l'étiologie des maladies en question. Des virus intestinaux ont été découverts en des lieux de baignade de zones côtières, dans des eaux qui répondaient à une norme bactériologique admise, soit moins de 1000 coliformes/100 ml (28).

5.5 Sols et cultures

Avec l'augmentation de la population et l'épuisement des ressources en eau qu'entraîne l'accroissement de la demande des milieux urbains et agricoles, on s'intéresse de plus en plus dans le monde entier à la réutilisation des eaux usées pour l'irrigation, tant dans les zones arides que dans les régions normalement humides.

En outre, dans certains pays, la pratique consistant à se débarrasser des eaux usées en les épandant directement sur le sol est considérée comme un moyen de réduire la charge polluante dans des rivières et lacs fortement contaminés. L'utilisation directe d'excreta humains (matières de vidange) comme engrais est largement pratiquée dans certaines parties de l'Asie depuis des siècles; plus récemment des boues provenant d'installations modernes de traitement des eaux usées ont été employées comme amendements ou ont été épandues sur le sol, cette opération étant considérée comme un moyen d'évacuation peu coûteux.

Bien qu'il existe une littérature abondante sur la transmission de bactéries pathogènes, d'helminthes et de protozoaires par l'épandage d'eaux usées, de boues et de matières de vidange sur le sol, on n'a commencé que récemment à se préoccuper des risques de contamination virale inhérents à cette pratique, et l'on ne dispose encore à ce sujet que d'informations limitées. Le dépôt sur le sol de concentrations importantes de virus peut être à l'origine de divers risques pour la santé:

- 1) contamination virale directe de travailleurs agricoles et de leurs contacts;
- 2) contamination virale de cultures destinées à la consommation humaine;
- 3) contamination virale de sources fournissant de l'eau de boisson, à la suite du ruissellement ou d'infiltrations dans les eaux souterraines;
- 4) dissémination de virus par des insectes ou autres animaux vecteurs ayant été en contact avec des sols contaminés;
- 5) là où l'irrigation est pratiquée par pulvérisation d'eaux usées, il peut se produire une dissémination des virus par des aérosols entraînant un risque d'infection, par les voies respiratoires, des travailleurs agricoles, des habitants du voisinage ou des passants.

La concentration de virus intestinaux dans les excréments humains frais peut atteindre 10^5 - 10^8 UFP/g (J. L. Melnick, communication personnelle). Le nombre des virus intestinaux dans les eaux usées peut varier en fonction de facteurs environnementaux tels que le temps et la saison, aussi bien que des conditions locales d'endémie et d'épidémie. Le degré de concentration dans les eaux usées est aussi fonction du degré de traitement, mais les recherches faites à ce jour indiquent que le traitement classique n'assure pas une élimination totale des virus. Des concentrations allant de 1 à 100 UFP/ml ont été découvertes (29, 30) dans des boues primaires brutes, et on en a trouvé de plus fortes allant de 10 à 1000 DI_{50CT} (dose infectieuse à 50% en culture de tissus)/ml (31). Même des boues bien digérées demeurent une source potentielle de contamination.

Les facteurs qui influent sur la survie des virus intestinaux dans le sol comprennent le pH, la concentration ionique, l'humidité, la température, l'exposition à la lumière solaire et la présence de matières organiques. Les virus sont facilement adsorbés par les particules du sol, et il a été signalé que cela prolongeait leur survie. Toutefois, ces virus restent aussi infectieux pour les êtres humains que les virus libres. Dans les sols argileux et les sables gras, les virus intestinaux sont extrêmement stables et leur temps de survie peut atteindre 170 jours (32). Des poliovirus ont été découverts dans des sols irrigués avec des eaux boueuses et des effluents d'égouts infectés, après 96 jours en hiver et 11 jours en été, et on en a trouvé également à la surface de végétaux arrivés à maturité, 23 jours après la cessation de l'irrigation (33). On a aussi trouvé des poliovirus sur le sol et à la surface de plantes cultivées 8 jours après une irrigation faite avec des

eaux usées infectées à titre expérimental (34). Ces indications concernant la durée de survie des virus ne constituent pas nécessairement des valeurs maximales puisque d'autres types de virus intestinaux peuvent être plus résistants encore. De surcroît, certains virus peuvent être difficiles à déceler par les méthodes utilisées pour ces études.

Les virus survivent moins longtemps dans les cultures que dans le sol puisque ceux qui se trouvent à la surface des plantes cultivées sont directement exposés à des facteurs environnementaux qui leur sont défavorables, tels que la lumière solaire et la dessiccation. Toutefois, on peut s'attendre que la survie soit prolongée dans les parties humides ou bien protégées des plantes, par exemple dans les plissements des végétaux feuillus, dans les parties profondes des tiges et sur les surfaces rugueuses et crevassées des racines comestibles. D'autres études ont montré que des virus humains peuvent pénétrer dans des racines endommagées et, sous certaines conditions, dans la tige et les parties feuillues des plantes comestibles (35-37). Bien que l'on n'ait que de faibles indices de ce phénomène, le rôle possible de celui-ci dans la contamination des cultures ne doit pas être négligé. Après les récoltes, les virus intestinaux peuvent survivre pendant de longues périodes lorsque les produits sont conservés à basse température dans des installations commerciales ou domestiques. Par exemple, des poliovirus et des virus Coxsackie se trouvant à la surface de végétaux peuvent survivre pendant plus de deux mois sous réfrigération (38). Le risque d'infection d'êtres humains par des produits du sol contaminés par des virus est accru lorsqu'il s'agit de fruits ou de légumes généralement consommés crus. Toutefois, il est également possible que des légumes consommés après une longue cuisson aient été infectés par contact avec des installations de cuisine, des ustensiles ou des mains contaminés par des légumes ou des fruits crus.

5.6 Eaux souterraines

L'épandage d'eaux usées sur le sol, soit pour l'irrigation des cultures soit comme méthode de traitement et d'élimination, crée un risque de contamination virale des eaux souterraines. Les facteurs qui influent sur le mouvement des virus dans le sol ont été récemment évalués. Le taux d'épandage, la composition et la structure du sol, et le pH, le contenu organique et la charge ionique de l'effluent doivent également être pris en considération.

Le taux d'épandage des eaux usées est l'un des facteurs critiques de pénétration éventuelle des virus dans les eaux souterraines. Alors que le taux normal d'épandage pour l'irrigation des cultures est d'environ 1 m^3 d'eau/ 1 m^2 de terrain/année, le taux de la charge hydrique pour l'évacuation des effluents par épandage peut atteindre $100 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{année}$. Avec des taux de charge plus élevés, l'élimination des virus est moins complète mais dans un cas — alors même que les taux d'écoulement atteignent $10 \text{ m}^3/\text{m}^2$ jour — une élimination à 99,9% a été obtenue après passage à travers 2,5 m de sable gras.

La composition et la structure du sol influent sur le mouvement des virus, puisque ceux-ci sont facilement adsorbés par l'argile lorsque les conditions s'y prêtent, et l'on considère que plus la teneur en argile du sol est élevée, plus l'élimination des virus est complète. De même, les sables gras et les sols contenant des matières organiques favorisent l'élimination des virus. En revanche les sols formés de sable et de gravier n'assurent pas une bonne élimination, et les couches aquifères de calcaire fissuré se trouvant sous une mince couche de terre permettent aux virus de se déplacer à grande distance et peuvent être à l'origine de sérieux problèmes de pollution des eaux souterraines.

En dépit des taux très élevés d'épandage d'effluents dans des bassins de sable gras, taux qui atteignent $90 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{année}$, on n'a trouvé aucun virus dans des puits de 6 m de profondeur situés à 6 m du bord d'un bassin d'infiltration, ce qui indique que les virus ont été éliminés à 99,9% au moins (39). Les déplacements des virus ont été étudiés dans le cadre d'un projet de régénération des eaux usées mis en œuvre près de St Petersburg (Floride, Etats-Unis d'Amérique), où les eaux chlorées d'un effluent secondaire étaient répandues à l'aide d'un dispositif d'irrigation par pulvérisation sur un sol sablonneux ne contenant pas ou guère de limon ou d'argile (40). Des poliovirus et des echovirus ont été découverts dans des drains souterrains à 1,5 m de profondeur, ce qui démontre que les virus survivent à l'aération et à l'exposition à la lumière solaire auxquelles ils sont soumis au cours de la pulvérisation, aussi bien qu'à la filtration à travers 1,5 m de terre. Bien qu'on n'ait tout d'abord découvert aucun virus dans des puits à 3 m et à 6 m au-dessous de la surface, on en a trouvé après de fortes pluies, ce qui révèle un déplacement dans le sol. Les mêmes auteurs n'ont pu trouver aucun coliforme fécal dans des échantillons d'eaux de puits contenant des virus.

Un pH bas favorise l'adsorption alors qu'un pH élevé peut aboutir à l'éluion des virus adsorbés. De fortes concentrations de

matières organiques solubles dans les eaux usées peuvent se trouver en concurrence avec les virus en ce qui concerne l'adsorption par les particules du sol, ce qui réduit l'adsorption des virus ou même libère des virus déjà adsorbés, alors que la présence de fortes concentrations de cations favorise généralement la rétention des virus. Les virus retenus près de la surface du sol peuvent être libérés et entraînés dans les strates inférieures par des pluies abondantes.

Comme les facteurs qui influent sur le mouvement des virus dans le sol ne sont pas encore complètement connus, et comme les caractéristiques des effluents et du sol varient beaucoup, il faut faire preuve de prudence, à proximité des terrains irrigués avec des eaux usées ou des terrains d'épandage, en ce qui concerne les puits fournissant de l'eau de boisson. Les conditions locales doivent être soigneusement étudiées. Parmi les mesures de sécurité qu'il conviendra de prendre, on peut citer le creusage de puits à une distance suffisante desdits terrains et la surveillance virologique systématique de la qualité de l'eau.

5.7 Aérosols

De nombreuses opérations comportant l'utilisation d'eau ou d'eaux usées peuvent provoquer la formation d'aérosols contaminés par des virus, qui peuvent par la suite infecter des êtres humains en pénétrant dans les voies respiratoires. Bien que des aérosols puissent se former naturellement sous l'effet des vagues et des chutes d'eau, leur formation est probablement liée le plus souvent au traitement des eaux usées ou à l'utilisation de celles-ci pour l'irrigation par pulvérisation.

Les êtres humains peuvent être infectés par des aérosols contenant des bactéries ou des virus pathogènes, principalement par inhalation de particules mesurant 0,2-2 μ , qui pénètrent les alvéoles pulmonaires. Toutefois, des gouttelettes plus grosses, pouvant atteindre 2-5 μ ou davantage, qui se trouvent prises dans l'appareil respiratoire supérieur, sont évacuées par action ciliaire et peuvent passer dans l'appareil digestif par ingestion. Une étude rétrospective des risques possibles pour la santé associés à l'irrigation par pulvérisation d'eaux usées a été effectuée en Israël (41). Dans 77 exploitations agricoles pratiquant l'irrigation par pulvérisation en utilisant des effluents de bassins d'oxydation après trois à sept jours de rétention, l'incidence de la fièvre typhoïde, des salmonelloses, des shigelloses et des hépa-

tites infectieuses a été de 2 à 4 fois plus forte que dans 130 exploitations témoins n'employant pas d'eau usée pour l'irrigation. Dans le premier groupe, les cas de grippe décelés par examen clinique ont été deux fois plus nombreux que dans le groupe témoin. Toutefois, la comparaison de l'incidence des cas de grippe confirmés en laboratoire n'a fait apparaître aucune différence. D'après les auteurs, l'accroissement apparent de la fréquence des cas de grippe décelés par examen clinique pourrait être attribué au fait que des infections des voies respiratoires associées aux entérovirus propagés par l'irrigation par pulvérisation sont notifiés à tort comme des cas de grippe. La distance entre les zones résidentielles et les zones irriguées au moyen d'eaux usées variait de 300 à 3000 mètres. Les auteurs notent que, bien que leur étude semble indiquer que la surmorbidity intestinale pourrait être associée à la transmission par les aérosols de germes pathogènes, d'autres hypothèses peuvent expliquer le phénomène. Par exemple, les germes pathogènes pourraient avoir été apportés dans la communauté sur les vêtements ou le corps des travailleurs chargés des travaux d'irrigation, et transmis par contact direct dans les réfectoires. On procède actuellement à de nouvelles recherches pour vérifier ces premiers résultats.

Dans le processus de formation de gouttelettes à la surface de liquides aérés, les gouttelettes balayent des matières organiques et des micro-organismes, avec ce résultat que les particules de l'aérosol peuvent contenir des concentrations de bactéries ou de virus 100 fois ou plus de 100 fois supérieures à celles que l'on trouve dans l'eau ambiante (42). Cela semble indiquer que les bulles formées au cours du processus d'aération, lors du traitement des eaux usées par des méthodes telles que celle des boues activées, peuvent conduire à la formation de gouttelettes contenant de beaucoup plus fortes concentrations de microbes pathogènes que les eaux usées elles-mêmes. Au cours des pulvérisations qui sont couramment pratiquées pour répandre des eaux usées sur le sol, 0,1% à 1% du liquide (suivant le type de pulvérisateur, la pression et la vitesse du vent) est transformé en aérosol. Dans l'eau de mer, les virus sont concentrés par la montée de bulles d'air qui, en éclatant à la surface, projettent des gouttelettes qui peuvent être transportées à des distances considérables (43). Ainsi, l'eau de mer dans laquelle des eaux d'égout non traitées ont pénétré peut provoquer une contamination de l'air constituant un risque pour la santé dans les zones résidentielles ou les zones de récréation voisines, même lorsque les gens ne s'exposent pas par la baignade à une contamination directe.

Une fois formés, les aérosols peuvent parcourir des distances considérables: par exemple, des micro-organismes intestinaux contenus dans des aérosols formés lors du traitement d'eaux usées dans une station d'épuration ont été découverts à 1200 mètres sous le vent de celle-ci, et des micro-organismes se trouvant dans les eaux usées provenant d'installations de traitement de denrées alimentaires peuvent être transportés, à la suite de l'utilisation de ces eaux pour l'irrigation par pulvérisation, à des distances pouvant atteindre 25 km (44). On a trouvé des coliformes à 350 m, des salmonelles à 60 m et des entérovirus à 40-100 m sous le vent de champs irrigués par pulvérisation d'eaux usées (45). Environ 30% des particules d'aérosols étaient assez petites (moins de 5 µm) pour être inhalées. Les mêmes auteurs ont d'autre part constaté que le taux de détection d'organismes viables augmentait dans des conditions de forte humidité et de faible irradiation solaire, et que les valeurs observées étaient 10 fois plus grandes de nuit que de jour.

Il ressort d'une étude sur la présence de virus dans des aérosols issus de stations d'épuration d'eaux usées que les bactéries coliformes sont beaucoup moins stables que les coliphages lorsque ces bactéries sont en suspension dans l'air (46). Il apparaît donc que la présence de coliphages pourrait être un meilleur indicateur de la présence de virus transmis par l'air.

Les données recueillies sur le terrain concernant la dispersion de virus véhiculés dans les aérosols provenant du traitement ou de l'épandage d'eaux usées, et les risques qui en découlent pour la santé, sont encore en nombre limité. Toutefois, on en sait assez pour penser qu'un risque pour la santé peut exister et que l'adoption de mesures propres à réduire ce risque pourrait être justifiée. Au Japon, la pratique tendant à couvrir les bassins d'aération d'eaux usées avec de minces feuilles de matière plastique pour réduire la dispersion d'aérosols tend actuellement à se généraliser.

6. SURVEILLANCE DES VIRUS

6.1 Objectif

Lors de toute poussée épidémique causée par un virus intestinal, il importe de déterminer si l'approvisionnement en eau contribue ou non à la propagation de la maladie. A cette fin, il faut examiner des échantillons d'eau brute, d'eau complètement traitée et d'eau du robinet.

L'examen de l'eau du robinet est particulièrement important dans les cas où l'intégrité du système de distribution est douteuse. La découverte de tout virus intestinal, même de faible pathogénicité, dans l'eau de boisson est un signal de danger, car l'eau peut contenir des virus plus pathogènes.

Lorsque l'on peut disposer des services virologiques nécessaires, il est bon de rechercher régulièrement la présence de virus dans les effluents et les sources d'eau brute. On recueillera ainsi des données de base auxquelles comparer des circonstances exceptionnelles comme il peut s'en produire au cours d'une épidémie. En outre, un système permanent de contrôle évitera les retards que l'on peut connaître lorsque les services ne sont assurés qu'en cas d'épidémie. La surveillance des eaux usées permet de dépister à un stade précoce les infections virales dans la collectivité, bien que la présence d'un virus dans les eaux usées n'indique pas nécessairement un risque pour la santé publique et que les retards inévitables associés aux méthodes actuelles de dépistage des virus puissent réduire la valeur d'une telle indication. Cependant, le dépistage de types de virus que l'on n'avait pas observés jusque-là ou l'augmentation marquée de la concentration de tel ou tel virus peut indiquer qu'une maladie à virus est en train de se développer dans la collectivité sans qu'elle soit encore cliniquement apparente.

L'application de normes virologiques pour l'eau de boisson n'est pas encore généralisée, mais la recherche systématique de la présence de virus dans l'eau destinée à la consommation peut constituer une protection supplémentaire pour la santé publique. Cette recherche systématique se justifie particulièrement dans les nombreux cas où de grands centres urbains utilisent comme sources d'eau brute des cours d'eau très pollués charriant un volume important d'eaux usées. Dans ces cas, on peut à juste titre considérer qu'il y a — indirectement — réutilisation d'eaux usées. La surveillance régulière des virus devrait être obligatoire partout où des eaux usées sont directement réutilisées pour l'approvisionnement en eau potable.

6.2 Méthodes

6.2.1 Généralités

On peut utiliser un certain nombre de techniques pour déceler la présence de virus intestinaux. Il n'existe pas de méthode unique que l'on puisse appliquer à tous les types de virus, et ceux qui seront isolés dépendront donc dans une certaine mesure des techniques utilisées.

La plupart des investigations auxquelles on procède actuellement se limitent aux virus qui se prêtent aux cultures tissulaires. D'autres virus exigent des techniques plus spécialisées — les rotavirus, par exemple, sont généralement recherchés au microscope électronique dans des prélèvements fécaux. Pour certains virus, comme celui de l'hépatite A, il n'existe encore aucune méthode permettant de les isoler facilement. Il se peut donc que les virus décelés par l'examen virologique ne représentent qu'une petite fraction du contenu viral total.

La méthode la plus fréquemment utilisée comprend essentiellement trois opérations: concentration, culture et identification. Les techniques de culture et d'identification sont les mêmes que celles que l'on utilise dans d'autres domaines de la virologie: le virus obtenu après concentration est inoculé à des cellules vivantes (en général une culture de tissus, bien que l'on puisse utiliser des animaux) et les virus isolés sont généralement identifiés au moyen d'antisérums spécifiques. C'est dans le domaine de la concentration qu'ont été élaborées des techniques spéciales qui font pour la plupart appel soit à l'ultrafiltration, soit à l'adsorption suivie d'élution. Avec la méthode de l'ultrafiltration (appelée maintenant « osmose inverse »), l'échantillon, peut-être après avoir subi une clarification initiale, est passé à travers un filtre capable de retenir des particules de la taille d'un virus. Les principaux inconvénients de cette méthode sont qu'elle demande beaucoup de temps et qu'elle entraîne une concentration parallèle de substances toxiques pour les cultures cellulaires. Avec la méthode d'adsorption/élution, le pH et le contenu salin de l'échantillon sont ajustés de manière que les virus soient adsorbés sur une surface appropriée à partir de laquelle ils pourront ensuite être élués sous faible volume. L'adsorption est favorisée par un pH faible et une concentration saline élevée et l'élution par un pH élevé ou un contenu organique élevé, ou les deux. Le support adsorbant peut être fourni par divers matériaux tels que des membranes en ester de cellulose ou des filtres en fibre de verre. On peut aussi utiliser des suspensions particulières — l'oxyde de fer ou l'hydroxyde d'aluminium par exemple. Pour les grands volumes, on peut utiliser la technique du flux continu et celle du traitement multiple.

6.2.2 Eau

La méthode de choix pour tout échantillon dépend d'un certain nombre de facteurs dont les plus importants sont le contenu viral que

l'on s'attend à trouver et la quantité de solides en suspension. Les prélèvements peuvent aller de l'eau de robinet propre, dont le contenu en virus est faible, aux eaux usées brutes, où les virus peuvent être si nombreux qu'il n'y a pas ou guère lieu de procéder à une concentration. Quelle que soit la méthode adoptée, il conviendra de ne l'utiliser qu'après avoir tenu compte des réserves suivantes:

1) Certaines méthodes permettent la récupération quantitative de quantités connues de virus additionnés, mais peuvent ne pas déceler tous les virus présents dans des échantillons prélevés sur le terrain ni donner la même récupération quantitative pour différents virus.

2) L'efficacité de toute méthode peut varier, en fonction notamment de modifications de la qualité de l'eau échantillonnée.

3) L'efficacité des méthodes décrites est étayée par des données plus ou moins nombreuses. Ces méthodes n'ont été étudiées que pour quelques types de virus et le nombre des études est trop faible pour qu'il soit possible de comparer l'efficacité d'une méthode à celle d'une autre employée dans les mêmes conditions.

4) Certaines des techniques nécessitent un matériel coûteux. Dans le cas des méthodes qui évoluent rapidement, ce matériel risque d'être rapidement périmé.

Certaines des méthodes existantes sont présentées sommairement dans le tableau 2 et décrites plus en détail dans l'annexe 1.

6.2.3 *Sédiments*

Dans les eaux naturelles telles que les cours d'eau, de grandes quantités de matières particulaires peuvent être présentes. La plupart des virus découverts dans ces eaux sont souvent associés à ces matières particulaires, qui devraient donc toujours être éliminées. On ne sait pas jusqu'à quel point les virus captifs dans des solides sont extraits par les techniques utilisées actuellement, mais il est possible qu'il y ait beaucoup plus de virus à l'intérieur qu'à la surface des solides et que la plupart d'entre eux, sinon tous, échappent au dépistage.

6.2.4 *Boues*

Le nombre des virus présents dans les boues primaires et les floccs chimiques peut être si élevé qu'il n'est pas nécessaire de recourir à des techniques de concentration, même s'il faut le faire pour les eaux

Tableau 2. Méthodes de recherche des virus dans différents types d'eaux et de boues

Méthode	Type d'échantillon
Inoculation directe sans concentration (30, 47)	Eaux usées, boues
Prélèvement par écouvillonnage (48, 49)	Echantillons d'eaux usées (méthode sensible mais non quantitative)
Adsorption sur filtre/élution Adsorption et précipitation à l'aide de sels cationiques polyvalents Utilisation d'alun, préformé, d'hydroxyde d'aluminium, d'oxyde ferrique (50), de chlorure ferrique ou de floccs de chaux. Floculation par addition de sels (51) Hydroextraction (52) et techniques de séparation en deux phases aqueuses par addition de polymères (53). Alginat soluble (54). Précipitation par pH faible (55).	Echantillons de 0,2-5,0 l lorsque l'on s'attend à trouver plus d'une unité infectante de virus par litre.
Membranes plates, fibre creuse (56). Adsorption sur filtre en flux continu d'échantillons acidifiés suivie d'élution à un pH élevé. Traitement simple ou traitement multiple (57)	Echantillons volumineux de 5-400 l ou davantage. En général, on peut utiliser un traitement simple pour les échantillons allant jusqu'à 20 l, c'est-à-dire pour les échantillons contenant des quantités relativement fortes de virus comme cela peut être le cas pour les eaux usées, les effluents traités et les eaux de surface polluées.
Filtration sur filtre plissés suivie d'élution (58). Floculation organique suivie d'élution (59). Filtration sur filtres adsorbants à charge positive suivie d'élution (60). Adsorption sur poudre de verre suivie d'élution (61).	Eaux souterraines, eaux de surface moins polluées et eaux usées fortement traitées (traitement multiple).

usées brutes correspondantes. Les boues primaires peuvent contenir 10-1000 DI_{50} CT/ml. Les échantillons de boues présentent toutefois des problèmes extrêmes en raison de leur toxicité pour les cultures cellulaires.

On trouvera dans l'annexe 1 quelques méthodes appropriées. On ne peut pas considérer qu'il s'agit de méthodes vraiment quantitatives

car, malgré leur efficacité démontrée par des études expérimentales en laboratoire, il est possible qu'elles ne soient pas efficaces en situation réelle (62, 65).

6.3 Les bactéries et les bactériophages, indicateurs de la présence de virus intestinaux

L'observation que les eaux polluées recèlent en général beaucoup plus de bactéries indicatrices que de virus avait laissé espérer que ces bactéries serviraient à révéler si des virus sont ou non présents (66), mais des études récentes ont montré que les virus peuvent survivre dans un effluent qui a été soumis à une désinfection suffisamment poussée pour détruire tous les streptocoques et coliformes fécaux. En outre, il a été prouvé que le ratio bactéries coliformes fécales/virus est plus élevé à proximité des émissaires d'égouts qu'il n'est en des points plus éloignés, ce qui démontre que les bactéries indicatrices sont plus sensibles aux conditions environnementales défavorables que ne le sont les virus. En outre, plusieurs chercheurs ont trouvé des virus dans de l'eau où aucun coliforme fécal n'était décelable. Il est désormais amplement démontré que, si les coliformes fécaux et d'autres bactéries fécales végétatives sont les indicateurs d'une pollution fécale, l'absence de ces indicateurs n'offre aucune garantie que les virus soient aussi absents. Il faut souligner que la recherche de coliformes reste la méthode la plus simple pour déterminer la contamination fécale de l'eau.

On a envisagé la possibilité d'utiliser les bactériophages de bactéries intestinales comme indicateurs de la présence de virus intestinaux. La rapidité et le faible coût des épreuves de recherche des bactériophages par rapport aux épreuves de recherche des virus intestinaux rendent cette proposition attrayante. Quelques exemples encourageants de l'utilisation de ces épreuves ont été donnés. Il a été, par exemple, signalé en URSS (G. A. Bagdasarjan, communication personnelle) que les phages d'*Escherichia coli* font preuve d'une plus forte résistance aux facteurs physiques et chimiques que les bactéries coliformes, et que les coliphages sont maintenant utilisés comme indicateurs de la pollution virale de l'eau et aussi pour l'évaluation de l'efficacité des procédés de traitement des eaux usées et de la qualité des sources d'eau. Quelques autres chercheurs ont également préconisé d'utiliser les bactériophages comme indicateurs, mais les résultats publiés sont peu nombreux. On considère toutefois qu'en raison des grandes différences de sensibilité des divers types de bactériophages

qui pourraient être présents dans différents types d'eaux de telles méthodes seraient difficiles à établir. Le groupe scientifique a été d'avis que, vu l'importance de la question, il convenait de la maintenir à l'étude et d'encourager de nouvelles recherches.

7. ÉLIMINATION DES VIRUS PAR DIVERS PROCÉDÉS DE TRAITEMENT

7.1 Eaux usées

Tous les procédés de traitement des eaux usées éliminent ou détruisent dans une certaine mesure les virus, mais il est probable qu'aucun ne les élimine entièrement. En outre, l'efficacité d'un procédé donné peut varier énormément selon la conception de la station d'épuration, son emplacement, la compétence du personnel, la nature des effluents (volume et qualité des effluents industriels présents) et d'autres facteurs.

La sédimentation primaire peut éliminer une proportion importante des virus (jusqu'à 50%), ceux-ci étant associés aux matières solides.

Parmi les traitements secondaires, le traitement aux boues activées est le plus efficace des traitements biologiques car il élimine de 60% à 99% des virus présents. Les filtres lents et les bassins de stabilisation donnent des résultats variables, mais des bassins multicellulaires bien conçus peuvent éliminer de 80% à 95% des virus.*

La coagulation chimique est considérée comme l'un des plus efficaces des traitements en une seule étape. On emploie couramment l'alun ou la chaux, mais parfois aussi des sels ferriques. La chaux est probablement l'agent le plus efficace (80% à 99% de réduction), puisqu'elle n'élimine pas seulement les virus matériellement, mais les inactive en les exposant à un pH élevé. Il est important de compléter le traitement par la filtration des effluents coagulés, la filtration lente sur sable étant plus efficace que la filtration rapide sur sable. Les pro-

* Dans le procédé des boues activées, la fraction liquide des eaux usées est mélangée avec des boues recyclées et aérée mécaniquement. Dans les filtres lents, le liquide traverse un lit poreux de matériaux filtrants sur lesquels vivent des microbes. Dans les bassins de stabilisation, la totalité des eaux usées passe lentement à travers une série de lagunes. Ces trois procédés agissent tous en créant des conditions appropriées (durée suffisante, oxygène, etc.) permettant aux microbes de détruire les impuretés.

cédés d'adsorption, à l'aide d'argile, de charbon ou de charbon actif, peuvent éliminer les virus dans une certaine mesure mais ne sont pas très efficaces.

L'épandage des eaux usées peut constituer un traitement tertiaire utile, et il est pratiqué avec succès dans de nombreux pays. On sait peu de choses de la survie des virus dans le sol ou dans les eaux de ruissellement, mais plusieurs études montrent clairement qu'ils peuvent survivre longtemps dans le sol et être lavés par de fortes pluies. Il est indispensable de disposer d'un espace suffisant et d'un sol présentant les caractéristiques appropriées, et d'être très prudent quant aux techniques et règlements concernant l'emploi agricole de ces terres.

Dans les cas où il faut désinfecter les eaux usées pour les rendre inoffensives avant de les évacuer dans l'environnement, on emploie couramment le chlore, mais ce procédé est loin d'être idéal. Son efficacité est diminuée en présence de matières organiques et en cas de durée de contact ou de dosage insuffisants, et elle est aussi affectée par la température, le pH et la présence d'ammoniac. Ces facteurs peuvent rendre la chloration classique — dans laquelle on laisse un résidu de chlore combiné en contact avec l'eau pendant une période allant jusqu'à deux heures — complètement inefficace contre les virus. La chloration n'est souvent pas pratiquée de manière optimale, comme en témoigne la fréquence des isollements de virus dans des effluents chlorés. Il peut aussi se former des produits chimiques indésirables comme le chloroforme.

Les moyens les plus sûrs pour désinfecter totalement les effluents contenant des solides sont le stockage prolongé, les traitements thermiques et l'irradiation, mais ces méthodes ne sont souvent pas applicables en pratique. On recherche de nouvelles méthodes de désinfection, mais le problème n'est pas simple, et il faut choisir les désinfectants en fonction des besoins.

7.2 Boues

Si les eaux usées non traitées contiennent des virus, il est probable que, dans une plus ou moins grande mesure, les boues produites par les stations d'épuration en contiendront aussi. Les boues primaires et les produits de la floculation chimique ont une teneur en virus plus élevée que les boues secondaires. Il faut traiter ces boues en conséquence, mais il est parfois difficile de les évacuer et de les rendre inoffensives. Dans certaines régions on les incinère, mais en général

on les répand sur le sol, le plus souvent sous une forme stabilisée qui permet d'atténuer l'odeur et de simplifier les problèmes de transport. L'épandage de boues insuffisamment traitées peut poser de graves problèmes de santé publique, y compris le risque de contamination virale. Ces boues ne devraient pas entrer en contact avec des produits agricoles qui seront mangés crus, et même cuits, car ils seront introduits dans la cuisine encore crus. Il importe aussi d'éviter d'épandre les boues dans des endroits ou pendant des périodes de l'année où le ruissellement vers les réserves d'eau peut poser des problèmes.

On trouvera dans le tableau 3 d'autres renseignements sur les méthodes de traitement des boues et leurs effets probables sur le contenu viral.

7.3 Eau de boisson

La plupart des procédés employés pour traiter l'eau destinée à la boisson permettent de réduire le contenu viral, mais à l'exception peut-être de la désinfection poussée, aucun d'entre eux ne garantit l'élimination totale des virus dans toutes les situations. En outre, leur efficacité peut varier énormément selon la conception et le fonctionnement de l'usine de traitement, la qualité de l'eau, la température et d'autres facteurs. Le stockage en réservoir pendant plusieurs semaines ou plus longtemps est efficace, en particulier dans les climats chauds, mais exige un emplacement approprié. La filtration rapide sur sable ou le microtamisage (qui élimine les particules solides par passage à travers une fine grille d'acier inoxydable (80 000 trous/pouce carré, soit environ 12 000 trous/cm²) sur un filtre rotatif ne réduit que de manière négligeable le contenu viral, mais on a montré que la filtration lente sur sable et la filtration biologique sont très efficaces. D'après certains auteurs, les procédés de floculation, généralement combinés avec une filtration rapide, éliminent entre 60% et 99% des virus selon le dosage et les conditions locales. Cependant, les virus éliminés par floculation ne sont pas inactivés et il faut être très prudent dans l'évacuation des boues infectées. La floculation à la chaux, souvent employée pour les eaux régénérées, est très efficace (99,9% de réduction) à condition de maintenir une forte alcalinité (pH > 11,5) pendant au moins une heure. L'avantage de ce procédé est qu'il élimine et détruit en même temps les virus. L'adsorption au charbon actif peut éliminer les virus, mais les virus adsorbés risquent d'être libérés par la suite si d'autres substances organiques cherchent à se fixer sur les sites d'adsorption disponibles.

Tableau 3. Elimination des virus par le traitement des boues

Type de boues	Traitement	Résultat
Boues primaires non traitées ou boues secondaires, ou les deux.	Aucun.	Teneur en virus 10 à 100 fois plus élevée que dans les eaux usées brutes.
	Digestion anaérobie à 30-35 °C ou 50 °C avec une durée de rétention moyenne de 3 semaines ou plus.	La température et la durée de rétention sont plus que suffisantes pour inactiver les entérovirus, mais la méthode d'application du procédé permet à une petite partie d'entre eux de survivre, de sorte que les effluents digérés peuvent contenir une quantité décelable de virus.
Boues brutes ou digérées.	Lits de séchage.	Selon l'efficacité du séchage (température et irradiation solaire), les virus peuvent être détruits en quelques semaines, mais il arrive que certains survivent après quatre mois.
	Compostage	Le compostage en silo peut dégager une chaleur suffisante (60-70 °C) pour produire un compost exempt de virus, à condition que le mélange et l'aération soient efficaces. Les bactéries intestinales peuvent se remettre à proliférer.
	Pasteurisation et autres traitements thermiques.	Permettent d'obtenir une inactivation complète des virus.
	Irradiation à 2-5kGy	Permet d'obtenir une très forte inactivation des virus.
Flocs chimiques résultant d'un traitement par l'alun, par un sel ferrique ou par la chaux. Boues stabilisées à la chaux.	Aucun	Les flocs d'alun et de sel ferrique peuvent contenir une très forte concentration de virus, beaucoup plus élevée que celle des eaux usées brutes. Les flocs de chaux peuvent contenir une quantité décelable de virus, mais généralement moins que les eaux usées brutes.

Le groupe scientifique a estimé qu'il faudrait désinfecter toutes les eaux de boisson provenant de sources contaminées par des virus, les autres procédés de traitement n'étant pas toujours suffisants. Les méthodes de désinfection correctement appliquées peuvent être très efficaces pour la destruction des virus. Les désinfectants les plus couramment utilisés sont le chlore et l'ozone. Pour l'emploi du chlore, il

est très important de faire la différence entre le chlore libre et le chlore combiné (c'est-à-dire les différentes formes de chloramine). Le chlore libre est un virucide très efficace, alors que le chlore combiné l'est beaucoup moins et agit beaucoup plus lentement, ses effets étant en revanche plus durables. L'efficacité du chlore libre peut être plus de 100 fois plus élevée que celle du chlore combiné. Pour être efficace, le chlore libre doit être en contact avec l'eau en quantité suffisante et pendant assez longtemps. La quantité nécessaire dépend de la qualité de l'eau, en particulier de son pH et de sa teneur en ammoniac et en substances organiques. On a constaté que, pour une eau de surface à faible turbidité, une dose de chlore suffisante pour laisser subsister un résidu de 2,3 à 2,5 mg/l de chlore libre après 30 à 60 minutes de contact donne une sécurité élevée. Dans les situations où l'eau potable est susceptible d'être contaminée en aval de la station d'épuration, il n'est pas possible d'obtenir une protection complète, mais on améliorera la sécurité en maintenant du chlore résiduel dans le réseau de distribution.

Le groupe scientifique, conscient des problèmes potentiels pouvant découler de la formation de composés cancérigènes comme les trihalométhanes lors de la chloration d'eau contenant des matières organiques, a estimé qu'il convient de mettre au point d'autres méthodes de désinfection permettant une inactivation efficace des virus. Cependant, en cas de risque de maladie transmise par l'eau, il ne faut pas hésiter à continuer d'employer les méthodes habituelles de désinfection par le chlore jusqu'à ce que d'autres solutions efficaces aient été mises au point. Parmi les directions de recherche qui pourraient permettre de trouver d'autres solutions, le traitement de l'eau avant désinfection par filtration sur granules de charbon actif, qui supprime les éléments constitutifs de ces produits cancérigènes, est prometteur. Ce traitement préliminaire pourrait permettre de continuer à employer le chlore qui est un désinfectant efficace.

L'ozone est également un désinfectant viral efficace, à appliquer de préférence à de l'eau propre, en maintenant un résidu de 0,2-0,4 m/l pendant quatre minutes. L'ozone présente des avantages par rapport au chlore pour le traitement d'eaux contenant de l'ammoniac, mais il est malheureusement impossible de maintenir un résidu dans le réseau de distribution. Le dosage pose aussi quelques problèmes.

Malheureusement, dans les conditions de fonctionnement moyennes d'un grand nombre de stations d'épuration, on peut s'attendre à ce que des virus provenant d'eaux contaminées pénètrent

dans le réseau de distribution d'eau potable. Il est à noter que des virus ont été en plusieurs occasions isolés dans des eaux traitées.

8. RECYCLAGE NATUREL ET RÉUTILISATION INTENTIONNELLE DE L'EAU

8.1 Recyclage naturel et pollution

Le cycle naturel de l'eau est semblable à celui des réutilisations. Il combine la dilution, la filtration, l'adsorption, la sédimentation et l'action biologique, pour aboutir à l'épuration de l'eau. Malheureusement, quand on déverse des eaux usées non traitées ou partiellement traitées dans des eaux de surface qui sont ensuite puisées en aval pour une réutilisation, les divers processus naturels d'épuration n'ont pas toujours le temps de se produire. Il arrive dans de nombreuses régions qu'on recycle ainsi involontairement des eaux polluées. Dans certains endroits, la proportion des eaux usées est telle que les processus naturels d'épuration ne peuvent plus agir.

Pour assurer l'innocuité de cette eau, il est important d'appliquer des procédés de décontamination efficaces permettant d'éliminer les virus et autres agents pathogènes. Lorsque c'est possible, c'est à la source de la pollution qu'il faut détruire ces micro-organismes, là où ils sont le plus concentrés et le plus accessibles, plutôt qu'après leur dissémination dans l'environnement. En pratique, cela signifie qu'il faut agir au niveau des installations d'assainissement. Une telle action atténuerait beaucoup les problèmes dus à la présence de virus dans les lacs et les mers. Le traitement par épandage n'est pas, lui non plus, toujours satisfaisant. Des données sans cesse plus nombreuses montrent que la capacité du sol à éliminer les virus dépend d'un certain nombre de variables et qu'après une pluie les virus peuvent pénétrer le sol et contaminer les eaux souterraines. On éviterait ce danger en décontaminant les eaux usées à la source.

8.2 Réutilisation intentionnelle de l'eau

Du point de vue de la santé publique, il serait judicieux, partout où c'est possible, de prélever l'eau destinée à la boisson sur les réserves d'eau de la meilleure qualité; il faudrait notamment que les sources alimentant les réseaux d'approvisionnement soient le plus pures possibles du point de vue chimique et biologique, car les pro-

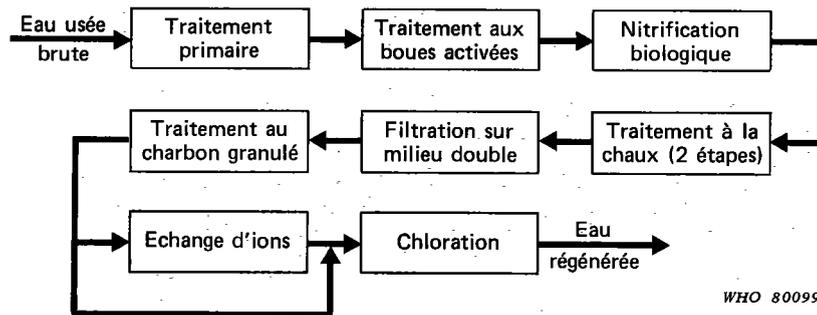


Fig. 2 Système de traitement pour la production d'eau potable

Source: Référence 4, page 36.

cédés de traitement actuels n'assurent pas toujours l'élimination complète des contaminants. Cependant, devant l'augmentation de la demande d'eau, certains pays envisagent sérieusement de réutiliser des eaux usées qui contiennent au départ une forte concentration de virus. Cette réutilisation directe, appelée système « en circuit fermé » comporte évidemment un certain nombre de dangers. Néanmoins, dans certains cas d'extrême pénurie d'eau, le recyclage direct peut être la seule solution envisageable. En pareil cas, il faudra appliquer toute une série de procédés perfectionnés d'épuration et de traitement de l'eau pour éliminer le plus possible les polluants. La figure 2 présente un exemple de combinaison de procédés qui pourrait être utilisable pour le recyclage direct de l'eau usée. Il faut qu'à chaque étape ce traitement réduise de 90% à 99% le contenu viral, ce qui permet de réduire la concentration initiale dans une proportion pouvant atteindre 12 log-cycles* (autrement dit par un facteur de 10^{12}).

On considère souvent que la réutilisation indirecte, qui consiste à déverser l'effluent traité dans des lacs, des cours d'eau ou des nappes souterraines, ne présente pas de danger, l'eau étant soumise à une épuration naturelle puis à un traitement en station d'épuration. En réalité, particulièrement dans le cas des cours d'eau fortement pollués

* Une réduction de 1 log-cycle correspond à 10%, de 2 log-cycles à 1%, etc.

qui contiennent 50% d'effluents ou davantage, la réutilisation indirecte présente à peu près les mêmes risques pour la santé que la réutilisation directe.

8.3 Limites admissibles de contamination virale

Parmi les problèmes examinés par le groupe scientifique figurait celui de la nécessité de fixer des normes virologiques pour la réutilisation intentionnelle de l'eau usée, compte tenu des techniques actuelles. En raison du risque particulier que présente pour la santé publique la réutilisation d'eaux usées pour l'approvisionnement en eau potable, le groupe a conclu qu'il faudrait qu'aucun virus ne soit décelable dans des échantillons de 100 à 1000 litres d'eau directement recyclée. En outre, il faudrait maintenir au robinet un résidu suffisant de désinfectant, et vérifier fréquemment que l'eau régénérée ne contient pas de virus, en utilisant les techniques décrites dans le présent rapport. Le groupe a d'autre part estimé qu'il faudrait agir de même dans de nombreux cas de réutilisation indirecte d'eaux usées, lorsque d'importantes collectivités prélèvent leur eau de boisson dans des cours d'eau très pollués qui contiennent une forte proportion d'eaux usées.

9. CONCLUSIONS

La contamination bactérienne de l'eau et du sol, et les risques qui en découlent pour la santé, ayant été étudiés de manière approfondie, on s'intéresse désormais de plus en plus aux dangers que présente la contamination virale de l'eau. Le groupe scientifique a passé en revue les connaissances actuelles sur la question et a conclu que la contamination de l'eau et du sol par des eaux usées et des excréments humains contenant des virus intestinaux peut poser de réels problèmes de santé publique. Cette conclusion vaut aussi pour les régions du monde où les principales maladies bactériennes transmises par l'eau ont été maîtrisées.

Il existe plus de 100 types différents de virus intestinaux, tous jugés pathogènes pour l'homme. Leur concentration dans les eaux usées peut atteindre de 10 000 à 100 000/l et ils sont capables de survivre plusieurs mois dans l'eau et dans le sol. Dans certains cas, l'ingestion d'une seule unité infectieuse peut provoquer une infection touchant une certaine proportion d'êtres humains vulnérables.

Dans bien des cas, des épidémies d'hépatite virale A ont été transmises par l'eau. De nombreuses poussées de cette maladie ont été provoquées par la consommation de fruits de mer élevés dans des estuaires et des eaux côtières contaminés par des eaux usées. Il est d'autre part probable qu'une proportion importante des poussées de gastro-entérite d'étiologie non bactérienne transmises par l'eau qui ont été signalées sont imputables à des virus (rotavirus, par exemple).

Le groupe scientifique a reconnu que les poussées massives de maladies virales transmises par l'eau sont assez rares, mais il n'en a pas moins conclu que le fait que d'importants groupes de population soient constamment exposés à des virus intestinaux présents dans une grande quantité d'eau, même à une concentration relativement faible, peut provoquer une dissémination endémique des virus dans la collectivité, dissémination qu'il est possible et indispensable d'éviter.

On a constaté que les bactéries utilisées comme indicateurs de l'innocuité de l'eau potable sont nettement moins résistantes que les virus aux facteurs environnementaux et aux méthodes de traitement de l'eau et des effluents. Il est donc possible que des eaux qui ne présentent pas ou guère de signes de pollution bactérienne contiennent des virus intestinaux.

Les enquêtes effectuées ont permis de déceler des virus dans le réseau d'eau potable d'un certain nombre de villes alors que l'eau fournie avait été traitée par des méthodes classiques, y compris la filtration et la désinfection, qui sont jugées suffisantes pour la protection contre les bactéries pathogènes. Certaines municipalités envisagent de recycler les eaux usées pour la consommation domestique et de nombreuses autres utilisent à cette fin des eaux de surface contaminées qui contiennent une proportion importante d'eaux usées. Dans ces deux cas, il faut soigneusement évaluer le risque de pénétration de virus dans le réseau de distribution, et assurer une surveillance et un traitement appropriés.

Des méthodes de concentration et de dénombrement des virus dans de grands volumes d'eau ont été mises au point, mais elles ne sont pas encore normalisées. Elles permettront de rechercher systématiquement la présence de virus dans de grands échantillons d'eau.

Il existe maintenant des méthodes de traitement des eaux permettant d'éliminer et d'inactiver efficacement les virus et il est donc possible de modifier les stations d'épuration classiques pour s'attaquer à ce problème. La formation de composés cancérigènes lors de la chloration d'eaux contenant des matières organiques peut constituer un

danger pour la santé. Cependant, quand il y a un risque de transmission de maladie, il ne faut pas hésiter à désinfecter l'eau par les méthodes actuelles de chloration, en attendant que soient mises au point d'autres techniques efficaces d'inactivation des virus.

Les virus présents dans les eaux usées et les boues répandues à des fins d'irrigation, de fertilisation ou d'évacuation peuvent survivre dans le sol pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois. Les cultures vivrières, contaminées au contact d'un sol contenant des virus ou du fait d'une irrigation par pulvérisation d'eaux usées, peuvent héberger des virus capables de survivre jusqu'à la récolte et à la commercialisation; leur consommation présente donc un risque pour la santé.

On ne sait pas grand-chose des risques découlant pour la santé de la dispersion des virus dans les aérosols créés par le traitement des eaux usées et l'épandage. Toutefois, il y a certainement là un risque potentiel et il vaut peut-être la peine de prendre des mesures pour le réduire. La désinfection des effluents avant épandage, en particulier en cas d'irrigation par pulvérisateurs à proximité de zones habitées, pourrait constituer une mesure préventive efficace.

10. RECOMMANDATIONS

1) Partout où c'est possible, l'eau de boisson devrait être exempte de virus intestinaux humains. Pour s'en assurer, il faudrait procéder à des vérifications sur des échantillons de 100 à 1000 litres, par la méthode la plus sensible dont on dispose. Dans tous les cas de réutilisation directe et intentionnelle des eaux usées pour la consommation domestique, il faudrait considérer cette précaution comme indispensable, et il faudrait l'appliquer au moins dans les grandes agglomérations urbaines dont l'eau potable provient de sources contaminées par des virus, telles que des eaux de surface contenant une proportion importante d'eaux usées non traitées ou ayant subi un traitement insuffisant pour inactiver les virus. Il convient en outre de continuer à étudier la question de l'adoption de recommandations concernant les limites admissibles pour la teneur en virus des eaux à usage récréatif, ainsi que des effluents et des boues employés dans l'agriculture.

2) Lorsqu'on peut disposer d'installations pour examens virologiques, il est souhaitable de surveiller les eaux usées, les réserves d'eaux non traitées et l'eau potable pour déceler la présence de virus. On pourra ainsi recueillir des données de base permettant d'évaluer le risque sanitaire auquel est exposée la population.

3) De nombreux virus intestinaux résistant mieux à la désinfection et aux autres procédés de traitement que les bactéries utilisées comme indicateurs de pollution, l'eau de boisson obtenue à partir d'eau contaminée par des virus devrait être traitée par des méthodes ayant fait la preuve d'une grande efficacité pour l'élimination ou l'inactivation, non seulement des bactéries, mais aussi des virus. En pareil cas, il convient tout particulièrement d'assurer une désinfection efficace de l'eau de boisson, par exemple en maintenant un résidu de 0,5 mg/l de chlore libre en contact pendant 30 à 60 minutes, ou un résidu de 0,2-0,4mg/l d'ozone pendant quatre minutes.

4) Les virus étant capables de survivre longtemps dans l'eau de mer, il est recommandé de protéger les zones côtières destinées à la baignade et à l'élevage de fruits de mer contre la contamination par les eaux usées et les boues. Il serait souhaitable de rechercher systématiquement la présence de virus dans ces zones.

5) Il faut mettre en place des procédures de contrôle dans tous les cas où des eaux usées ou des boues sont employées pour l'irrigation ou la fertilisation, afin d'éviter la contamination des fruits et légumes destinés à être mangés crus. (D'ailleurs, même s'ils sont consommés cuits, les légumes crus contaminés risquent de polluer d'autres aliments dans la cuisine.) Lorsqu'il est quand même prévu d'employer des effluents pour irriguer ce genre de cultures ou pour arroser des cultures à proximité de zones habitées, il convient de les traiter de manière à obtenir une qualité microbiologique élevée, proche de celle de l'eau potable.

6) Les facteurs qui déterminent les mouvements des virus dans le sol n'étant pas encore parfaitement compris, et les caractéristiques des effluents et des sols variant énormément, il convient d'être prudent en cas d'irrigation par des eaux usées ou d'épandage à proximité de puits fournissant de l'eau de boisson. Il faut étudier soigneusement les conditions locales, et il est conseillé de choisir soigneusement l'emplacement des puits et de surveiller systématiquement la qualité virologique de l'eau.

7) Il est nécessaire de poursuivre les recherches sur les risques découlant pour la santé de la présence de virus dans l'eau et dans le sol. Ces recherches devraient porter notamment sur la mise au point et l'évaluation de méthodes de détection des virus et de nouveaux indicateurs de pollution virale (comme les phages), ainsi que sur l'amélioration des méthodes de traitement permettant l'inactivation et l'élimination des virus dans l'eau et les effluents. Il y a lieu aussi d'étudier la dissémination et la survie des virus dans la nature.

8) Il convient de mettre au point une méthode normalisée pour la concentration et la détection des virus dans de grands volumes d'eau de boisson (par exemple 100 à 1000 litres), en se fondant sur une évaluation complète des techniques actuellement employées dans différents laboratoires. Une telle méthode faciliterait la mise au point de programmes de surveillance des virus et garantirait l'obtention de résultats aussi comparables que possible. Il convient aussi de mettre au point un système de contrôle de la qualité en laboratoire pour permettre aux laboratoires participants de normaliser leurs procédures.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. MELNICK, J. L. Poliomyelitis virus in urban sewage in epidemic and non-epidemic times. *American journal of hygiene*, **45**: 240-253 (1947).
2. MELNICK, J. L. ET AL. Viruses in water. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, **56**: 499-506 (1978).
3. OMS, Série de Rapports techniques, N° 404, 1968 (*Lutte contre la pollution des eaux dans les pays en voie de développement*, Rapport d'un comité d'experts de l'OMS).
4. OMS, Série de Rapports techniques, N° 517, 1973 (*La réutilisation des effluents: méthodes de traitement des eaux usées et mesures de protection sanitaire*. Rapport d'une réunion d'experts de l'OMS).
5. OMS, Série de Rapports techniques, N° 541, 1974 (*Evacuation des eaux usées des collectivités*. Rapport d'un comité d'experts de l'OMS).
6. OMS, Série de rapports techniques, N° 550, 1974 (*Hygiène du poisson et des fruits de mer*: Rapport d'un comité d'experts de l'OMS réuni en coopération avec la FAO).
- 6a. WOOD, P. C. *Manuel d'hygiène des fruits de mer*, Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1976 (OMS, Publication offset N° 31).
7. BERG, G. ET AL., ed. *Viruses in water* [Actes de la Conférence internationale sur les virus dans l'eau, Mexico, 9-12 juin 1974], Washington, DC, American Public Health Association, 1976.
8. SUESS, M. J., ed. *Examination of water for pollution control: handbook for management and analysis*, 3 vol. (en préparation au Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, Copenhague).
9. MOSLEY, J. W. In: BERG, G., ed. *Transmission of viruses by the water route*, New York, Interscience Publishers, 1967.
10. SABIN, A. B. Properties of attenuated polioviruses and their behavior in human beings. *Special publications of the New York Academy of Sciences*, **5**: 113-127 (1957).

11. BODIAN, D. & HORSTMANN, D. M. Polioviruses. In: HORSFALL, F. L. & TAMM, I., ed. *Viral and rickettsial infections of man*, Philadelphia, Lippincott, 4th ed., 1965, pp. 430-473.
12. KATZ, M. & PLOTKIN, S. A. Minimal infective dose of attenuated poliovirus for man. *American journal of public health*, **57**: 1837-1840 (1967).
13. PLOTKIN, S. A. ET AL. Clinical trials in infants of orally administered attenuated poliomyelitis viruses. *Pediatrics*, **23**: 1041-1062 (1959).
14. KOPROWSKI, H. Immunization against poliomyelitis with living attenuated virus. *American journal of tropical medicine and hygiene*, **5**: 440-452 (1956).
15. MCLEAN, D. M. Human enteroviruses in water and wastewater and their implications. In: MAHDY, M. S. & DUTKA, B. J., ed. *Proceedings of symposium: Viruses in the environment and their potential hazards* (sponsored by: Canada Center for Inland Waters and E.P.A. Gross Ile Laboratory, USA), 1973, pp. 140-154.
16. WESTWOOD, J. C. N. & SATTAR, S. A. Environmental transmission of infections. Is there a hazard? In: MAHDY, M. S. & DUTKA, B. J., ed. *Proceedings of symposium: Viruses in the environment and their potential hazards* (sponsored by: Canada Center for Inland Waters and E.P.A. Gross Ile Laboratory, USA), 1973, pp. 155-166.
17. CRAUN, G. F. & MCCABE, L. J. Review of the causes of water-borne disease outbreaks. *Journal of the American Water Works Association*, **65**: 74-84 (1973).
18. RAO, V. C. ET AL. *Developments in environmental virology in India* (presented at the 19th Annual Meeting of the Association of Microbiologists of India, Baroda, November 1978), Nagpur, Indian Association for Water Pollution Control, 1978 (Nagpur Technical Annual 1978, pp. 1-16).
19. RAO, V. C. Monitoring, prevention and control of viral pollution of water. *Journal of the Calcutta Institute of Public Health Engineers*, **3**: 51-59 (1976).
20. FOLIGUET, J. M. ET AL. Recent developments of virological water research in France, 1978. In: *Fourth International Congress on Virology, The Hague. Workshop 6: Viral pollution of the environment. Abstracts*, Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1978.
21. ADDY, P. A. K. & OTATUME, S. Ecology of enteroviruses in Ghana. Isolation of poliomyelitis and other enteroviruses from water and sewage. *Ghana medical journal*, **15**: 102-108 (1976).
22. NUPEN, E. M. *The effectiveness of various techniques for the removal of bacteria and viruses*. Paper presented at the Regional Conference on Practical Aspects of Water Supply and Pollution Control in Southern Africa, June 1975, Mbabane, Swaziland (non publié).
23. NESTOR, I. & COSTIN, L. Presence of certain enteroviruses (coxsackie) in sewage effluents and in river waters of Romania. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology and immunology (Praha)*, **20**: 137-149 (1976).
24. HOEHN, R. C. ET AL. Trihalomethanes and viruses in a water supply. *Journal of the Environmental Engineering Division of the American Society of Civil Engineers*, **103** (EE5): 803-824 (1977).

25. OŠEROVIČ, A. [Les résultats de l'étude virologique des facteurs environnementaux. *Actes de l'Institut de la poliomyélite et des encéphalites virales (Moscou)*, **14**: 119-125 (1970).
26. RABISHKO, E. V. Some aspects of the circulation of enteroviruses in the environment. *Gigiena i Sanitariya*, No. 4: 105-106 (1974).
27. CABELLI, V. J. ET AL. The impact of pollution on marine bathing beaches: an epidemiological study. In: Middle Atlantic continental shelf and the New York bight. *Limnology and oceanography*, **2**: 424 (1976).
28. GOYAL, S. M. ET AL. Prevalence of human enteric viruses in coastal canal communities. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **50**: 2247-2256 (1978).
29. SHUVAL, H. I. Health considerations in water renovation and reuse. In: SHUVAL, H. I., ed. *Water renovation and reuse*, New York, Academic Press, 1977, pp. 33-72.
30. BURAS, N. Concentration of enteric viruses in wastewater and effluent: a two year survey. *Water research*, **10**: 295-298 (1976).
31. LUND, Disposal of sludges. In: BERG, G. ET AL., ed. *Viruses in water* [Actes de la Conférence internationale sur les virus dans l'eau, Mexico, 9-12 juin 1974], Washington, DC, American Public Health Association, 1976.
32. GERBA, C. P. ET AL. Fate of wastewater and viruses in soil. *Journal of the Irrigation and Drainage Division of the American Society of Civil Engineers*, **101**: 157-174 (1975).
33. TIERNEY, J. T. ET AL. Persistence of poliovirus I in soil and on vegetables grown in soil previously flooded with inoculated sewage sludge or effluent. *Applied and environmental microbiology*, **33**: 109-113 (1977).
34. SADOVSKI, A. Y. ET AL. A study of the distribution and survival of enteric viruses and bacteria during simulated epidemics in soil and crops. In: *Proceedings of the 7th Scientific Conference of the Israel Ecological Society, October 1976*, Tel Aviv, 1976, pp. 221-235.
35. MURPHY, W. H. ET AL. Absorption and translocation of mammalian viruses by plants. *Virology*, **6**: 623-636 (1958).
36. MAZUR, B. & PACKIOKIEWICZ, W. Dissemination of enteroviruses in the human environment. I. The presence of poliovirus in various parts of vegetable plants grown on infected soil. *Medycyna doswiadczalna i mikrobiologia*, **25**: 83-98 (1973) [Résumé en anglais].
37. MILLS, D. [*La viabilité des poliovirus dans le sol et leur possibilité de pénétration dans les feuilles par les racines*], Jérusalem, Université hébraïque de Jérusalem (thèse), 1977 [en hébreu].
38. BAGDASARIAN, G. A. Survival of the enterovirus group (poliomyelitis, ECHO, coxsackie) in soil and on vegetables. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology and immunology (Praha)*, **8**: 497-505 (1964).
39. GILBERT, R. G. ET AL. Wastewater renovation and reuse. Virus removal by soil filtration. *Science*, **192**: 1004-1005 (1976).

40. WELLINGS, F. M. ET AL. Virus studies in a spray irrigation project. In: *Proceedings of the Institute of Food and Agricultural Sciences: 2nd Annual Wastewater Workshop, May 1973*, Gainesville, University of Florida, 1973, pp. 202-214.
41. KATZENELSON, E. ET AL. Risk of communicable disease infection associated with wastewater irrigation in agricultural settlements. *Science*, **194**: 944-946 (1976).
42. BLANCHARD, D. C. & SYZDEK, L. D. Importance of bubble scavenging in the water-to-air transfer of organic material and bacteria. *Journal de recherches atmosphériques*, **8**: 529-540 (1974).
43. BAYLOR, E. R. ET AL. Virus transfer from surface to wind. *Science*, **198**: 575-580 (1977).
44. PARKER, D. T. ET AL. Microbial aerosols from food processing waste spray fields. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **49**: 2359-2365 (1977).
45. TELTSCH, B. & KATZENELSON, E. Airborne enteric bacteria and viruses from spray irrigation with wastewater. *Applied and environmental microbiology*, **35**: 290-299 (1978).
46. FANNIN, K. F. ET AL. Field studies on coliphages and coliforms as indicators of airborne animal viral contamination from wastewater treatment facilities. *Water research*, **11**: 181-188 (1977).
47. LUND, E. ET AL. Occurrence of enteric viruses in wastewater after activated sludge treatment. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **41**: 169-174 (1969).
48. MELNICK, J. L. ET AL. Coxsackie viruses from sewage: methodology including an evaluation of the grab sample and gauze pad collection procedures. *American journal of hygiene*, **59**: 185-195 (1954).
49. LUND, E. & HEDSTRÖM, C.-E. A study on sampling and isolation methods for the detection of viruses in sewage. *Water research*, **3**: 823-832 (1969).
50. RAO, V. C. ET AL. A simple method for concentrating and detecting viruses in water. *Journal of the American Water Works Association*, **60**: 1238-1294 (1968).
51. ENGLAND, B. Recovery of viruses from waste and other waters by chemical methods. In: BERG, G., ed. *Symposium: Detection of viruses in waste and other waters. Developments in industrial microbiology*, **15**: 174-183 (1973).
52. WELLINGS, F. M. ET AL. Demonstration of virus in groundwater after effluent discharge onto soil. *Applied microbiology*, **29**: 751-757 (1975).
53. LUND, E. & HEDSTRÖM, C.-E. The use of aqueous polymer phase system for enterovirus isolations from sewage. *American journal of epidemiology*, **84**: 287-291 (1966).
54. GARTNER, H. Retention and recovery of poliovirus on a soluble ultrafilter. In: BERG, G., ed. *Transmission of viruses by the water route*, New York, Interscience Publishers, 1967, pp. 121-127.
55. ŠIMKOVÁ, A. & WALLNEROVÁ, Z. Isolations of coxsackie viruses from Danube river water. *Acta virologica (Praha)*, **17**: 363 (1973).
56. BELFORT, G. ET AL. Virus concentration using hollow fibre membranes. *Water research*, **9**: 79-85 (1974).

57. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 15th ed., Washington, DC, 1977.
58. PAYMENT, P. ET AL. Methods for concentrating viruses from large volumes of estuarine water on pleated membranes. *Water research*, **10**: 893-896 (1976).
59. KATZENELSON, E. ET AL. Organic flocculation: an efficient second-stage concentration method for the detection of viruses in tap water. *Applied and environmental microbiology*, **32**(4): 638-639 (1976).
60. SOBSEY, M. D. Improved detection methods for enteric viruses in drinking water and edible shellfish. In: *Fourth International Congress on Virology, The Hague. Workshop 6: Viral pollution of the environment. Abstracts*, Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1978.
61. SARRETTE, B. A. ET AL. A new and simple method for recuperation of enteroviruses from water. *Water research*, **11**: 355-358 (1977).
62. HURST, C. J. ET AL. Development of quantitative methods for the detection of enteroviruses in sewage sludges during activation and following land disposal. *Applied and environmental microbiology*, **36**: 81-89 (1978).
63. DAMGAARD-LARSEN, S. ET AL. Survival and movement of enterovirus in connection with land disposal of sludges. *Water research*, **11**: 503-508 (1977).
64. LUND, E. & RØNNE, V. On the isolation of virus from sewage treatment plant sludges. *Water research*, **7**: 863-871 (1973).
65. LUND, E. ET AL. Detection of human enteric viruses in sludges deposited on land. In: *Fourth International Congress on Virology, The Hague. Workshop 6: Viral pollution of the environment. Abstracts*, Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1978.
66. BERG, G. & METCALF, T. E. Indicators of viruses in waters. In: BERG, G., ed. *Indicators of viruses in water and food*, Ann Arbor, MI, Science Publishers, 1978, pp. 267-296.

REMERCIEMENTS

Le groupe scientifique remercie de leur précieux concours les personnes dont les noms suivent: D^r H. Gorchev, Consultant, Critères et normes d'hygiène de l'environnement, OMS, Genève, Suisse; D^r L. Irving, Fairfield Hospital, Fairfield, New South Wales, Australie; D^r E. Strijak, Technologie et soutien en matière d'hygiène de l'environnement, OMS, Genève, Suisse; et D^r M. J. Suess, Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, Copenhague, Danemark.

MÉTHODES DE DÉTECTION DES VIRUS DANS L'EAU ET DANS LES BOUES

Plusieurs méthodes de détection des virus présents dans l'eau ont été examinées et évaluées (1, 2). Il s'agit essentiellement de techniques de concentration des échantillons, le soin d'effectuer les examens virologiques étant laissé aux laboratoires spécialisés. La question de l'examen virologique est traitée dans un manuel relatif à l'analyse des eaux en vue de la lutte contre la pollution que prépare le Bureau régional de l'OMS pour l'Europe (3); d'autre part, la quinzième édition de l'ouvrage de l'American Public Health Association intitulé «Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater» comprend un chapitre sur la recherche des virus (4). Il convient de se référer à ces ouvrages pour avoir des descriptions plus détaillées des procédés. On trouvera ci-après une brève description et une évaluation de certaines des méthodes employées.

On procédera de différentes manières, selon la charge de virus que l'on comptera trouver dans l'eau. Comme on sait que la nature et la turbidité des matières organiques influent sur l'efficacité des méthodes de concentration des virus, il importe de tenir compte de ces facteurs dans le choix de la méthode. Il ne suffit pas qu'une méthode de concentration des virus soit efficace; elle doit aussi être adaptée à la tâche considérée et ne devrait pas normalement nécessiter l'utilisation d'appareils hautement perfectionnés. Dans les paragraphes suivants sont présentées à titre indicatif plusieurs méthodes, ainsi que des méthodes de remplacement n'exigeant pas un matériel coûteux.

A l'état brut, les eaux usées domestiques des zones urbaines peuvent contenir jusqu'à 10^5 DI₅₀ CT/l et parfois même 10^6 DI₅₀ CT/l. Si la teneur est d'au moins 10^4 DI₅₀ CT/l, on peut mettre en évidence la présence des virus par inoculation directe, sans concentration, mais cette dernière opération est nécessaire pour la plupart des échantillons.

1. Méthodes à utiliser pour des échantillons d'un volume de 0,2 à 5 litres

1.1 Systèmes simples d'adsorption sur filtre/élution

Ces techniques sont fondées sur l'adsorption des virus sur des filtres, suivie par leur élution dans un faible volume de liquide. On uti-

lise couramment des filtres en dérivés de la cellulose ou en fibre de verre. L'adsorption des virus est souvent facilitée lorsque l'on ajoute des sels comme le chlorure de magnésium ou d'aluminium et qu'on abaisse le pH à 3,0 ou 3,5. Le volume des échantillons peut aller de 0,2 à 5 litres. Les échantillons peuvent être prélevés par immersion ou par écouvillonnage, et la charge de virus que l'on s'attend à trouver devrait être supérieure à 1 unité infectieuse par litre.

Parmi les problèmes éventuels figure l'élimination possible des virus sur les particules si l'échantillon est clarifié avant adsorption du virus. La présence dans l'eau de certaines substances solubles risque de gêner l'adsorption des particules de virus sur le filtre. Il peut aussi y avoir élution incomplète des virus adsorbés sur le filtre. Il est souvent nécessaire de préfiltrer les échantillons d'eaux usées, mais dans ce cas, le préfiltre doit être élué afin d'obtenir une reconstitution quantitative du virus. Il faut veiller à réduire la durée d'exposition des virus à des pH extrêmes, pour éviter leur inactivation.

Ces techniques ont pour avantage d'être simples et rapides. Le degré d'efficacité atteint avec des échantillons contaminés artificiellement a été jugé satisfaisant, mais il est plus difficile d'opérer avec des échantillons pris sur le terrain, et certains virus peuvent se comporter différemment de ceux qui ont été utilisés pour la mise au point et l'essai de la méthode.

1.2 Méthodes d'adsorption et de précipitation utilisant les sels cationiques polyvalents

Les virus peuvent être adsorbés sur de l'alun préformé, de l'hydroxyde d'aluminium, de l'oxyde de fer ou des floccs de chaux, ou bien on peut ajouter des sels à l'échantillon pour former des floccs *in situ*. Le volume de l'échantillon qui peut être traité est limité par la masse du précipité, qui risque d'encrasser les filtres et d'être trop volumineuse pour pouvoir être traitée par centrifugation. L'élution du précipité est assurée au moyen d'un tampon de pH élevé ou de liquides protéinés, tels que de l'extrait de bœuf ou du sérum de fœtus de veau, de pH neutre ou élevé.

1.3 Techniques d'hydroextraction et de séparation en deux phases aqueuses par addition de polymères

Pour l'hydroextraction, on place un sac pour dialyse contenant l'échantillon dans une solution de polyéthylène glycol (PEG) ou dans

une couche de PEG sec. L'eau et les microsolutés passent du sac dans le PEG mais les virus et les autres macrosolutés sont retenus et donc concentrés. Cette méthode a été utilisée pour concentrer des virus dans des échantillons d'eaux usées de 500 ml réduits à volume final de 5 ml.

On obtient un degré de concentration du même ordre par la technique de séparation en deux phases. Dans ce procédé, on ajoute des polymères à l'échantillon et on obtient la formation de deux phases aqueuses. Lorsque les conditions s'y prêtent, les virus sont concentrés en une seule phase sous faible volume.

Ces méthodes semblent particulièrement bien convenir pour les échantillons d'un volume de 0,2 à 2 l. Le taux d'efficacité varierait de 5% à 100%. Si la charge virale escomptée est inférieure à 10 unités infectieuses par litre, il faudra employer des moyens supplémentaires, par exemple ajouter une autre séparation en deux phases et parvenir ainsi à multiplier par 10 le degré de concentration. Ces méthodes se sont avérées utiles pour des eaux moyennement ou extrêmement polluées mais non pour les boues. Elles peuvent aussi servir d'étape finale pour concentrer les éluats obtenus à partir des précipités ou des filtres dans les procédés de concentration sous grand volume.

Ces deux méthodes sont simples et demandent peu de matériel technique. Cependant, dans la technique de séparation en deux phases, l'efficacité de récupération varie, à moins que le pH, la charge ionique et la concentration en sel des échantillons ne soient soigneusement contrôlés. On a signalé que des souches du virus Coxsackie type B2 et de l'échovirus 6 sont inhibées par le dextransulfate 2000 et que la séparation en phases ne se produit pas toujours. Si les conditions appropriées ne sont pas réunies, il est préférable d'avoir recours à l'hydroextraction.

1.4 Filtres d'alginate soluble

Les filtres à membrane d'alginate peuvent être confectionnés au laboratoire et fixés sur un support en papier-filtre. L'échantillon d'eau est filtré à travers une membrane d'alginate qui est ensuite dissoute dans une solution de citrate de soude pour produire le concentré de virus. Le filtre dissous peut alors être inoculé à des cultures cellulaires. Il n'y a pas de pertes de virus sur ou dans le filtre puisque celui-ci est dissous. Un échantillon d'eau d'un volume allant jusqu'à 1 litre peut passer à travers un filtre de 47 mm de diamètre avec une bonne rétention du virus, mais un tel filtre ne convient pas

pour des échantillons plus importants car la vitesse de filtration est trop lente.

La préfiltration de l'échantillon est presque toujours nécessaire car les filtres d'alginate s'encrassent plus facilement que les filtres à micropores utilisés pour concentrer les virus par adsorption. Ils supportent mal, d'autre part, les charges ioniques élevées.

Cette méthode ne convient ni pour les faibles volumes d'eaux brutes non clarifiées ni pour les grands volumes d'eaux ayant subi un traitement poussé.

2. Méthodes applicables aux grandes quantités d'eau (de 5 à 400 litres et plus)

L'examen de grands échantillons d'eau, qui n'est effectué que par quelques laboratoires, exige des techniques et des matériels spéciaux.

2.1 Systèmes d'ultrafiltration à écoulement liquide tangentiel

L'ultrafiltration est un procédé qui permet la séparation sélective des molécules. Il existe différentes sortes de membranes, telles que des fibres creuses, des disques plats et des cartouches de feuilles enroulées, mais peu d'expériences ont été réalisées avec elles. Seule une méthode utilisant une membrane plate a jusqu'ici trouvé une application d'ordre général.

2.2 Systèmes d'adsorption sur filtre/élution

Les méthodes d'adsorption sur filtre/élution sont utilisées pour concentrer les virus présents dans l'eau, les eaux usées et d'autres liquides. Elles sont fondées sur la propriété qu'ont les virus d'être adsorbés de façon réversible par des surfaces appropriées. Les matériaux et les formes de filtres qui ont été utilisés comme adsorbants sont notamment les suivants: a) des membranes de nitrate de cellulose, d'une porosité de 0,45 μm , b) des filtres du type à cartouche en fibre de verre, d'une porosité comprise entre 0,45 et 8,0 μm et c) des disques-filtres en fibre de verre-amiante-époxy d'une porosité comprise entre 0,45 et 0,65 μm .

Dans certains cas, il faut d'abord clarifier l'eau à traiter pour éviter l'encrassement de l'adsorbant par les matières en suspension dans l'eau. Pour la préfiltration (clarification) on peut utiliser des

matériaux comme la fibre de polyester synthétique ou une fibre de verre traitée par le Tween 80 ou du sérum, ou une substance semblable qui enrobe les sites d'adsorption du virus sur les préfiltres et empêche l'adsorption. Mais de nombreux virus présents dans l'eau sont adsorbés sur les particules et rien n'est prévu d'ordinaire dans ces systèmes de préfiltration pour les récupérer. Une partie importante du contenu viral risque donc d'être perdue. On peut résoudre partiellement ce problème en plaçant le tampon de préfiltration au-dessus du filtre à membrane dans le même logement, et en les éluant ensemble. L'obligation de préfiltrer a, dans une large mesure, été réduite par l'introduction des filtres plissés. Dans ces filtres à micropores, les solides sont retenus sans que le débit soit notablement réduit et les virus associés sont soumis à des procédés d'éluion.

Pour améliorer l'adsorption des virus, on acidifie l'eau et dans certains cas on ajoute un sel cationique polyvalent comme du chlorure de calcium, de magnésium ou d'aluminium. Les ions d'aluminium trivalents sont peut-être plus efficaces à cet égard que les ions de magnésium ou de calcium bivalents. La récente introduction de filtres possédant une charge électrique positive nette peut éviter d'employer des pH peu élevés et d'ajouter des cations. Il serait possible, pour des volumes plus importants, de recourir à une méthode utilisant de la poudre de verre comme adsorbant de virus. Cette méthode s'est révélée utile pour les échantillons d'eau de rivière et d'eau de boisson d'un volume de 10-30 l, mais elle doit encore faire l'objet d'essais dans différents laboratoires.

Les virus adsorbés peuvent être élués à partir des filtres avec un faible volume d'éluent, à l'aide d'un liquide protéiné généralement peu ou moyennement alcalin (sérum, extrait de bœuf ou bouillon de nutrition) ou à l'aide d'un tampon glycine fortement alcalin.

On a mis au point des traitements simples et des traitements multiples d'adsorption sur filtre/éluion. Dans le traitement simple, les virus sont adsorbés et élués une seule fois, alors que, dans le traitement multiple, ce processus peut se répéter deux ou plusieurs fois de suite. Dans la première étape d'un traitement multiple, l'eau est souvent traitée en flux continu, ce qui permet ainsi de traiter des volumes plus grands. A chaque étape successive du traitement multiple, on utilise des volumes d'éluats et des filtres plus petits, ce qui permet d'atteindre un taux de concentration supérieur à celui qui est obtenu dans le traitement simple. La floculation organique peut être utilisée dans un traitement en deux phases. En règle générale, les traitements simples conviennent pour les volumes de liquide jusqu'à 20 l, c'est-à-

dire pour les eaux susceptibles de contenir d'assez grandes quantités de virus, comme les eaux usées, les effluents traités et les eaux de surface polluées. Les traitements multiples ont été développés essentiellement pour traiter de grands volumes d'eau propre contenant d'assez petites quantités de virus.

3. Procédés d'éluion pour les échantillons d'eau douce et d'eau salée contenant des solides

Les éluents les plus efficaces dont on dispose actuellement sont l'extrait de bœuf, le sérum et les liquides analogues qui entrent en compétition avec les virus pour les sites d'adsorption sur les solides. On utilise aussi des tampons de pH élevé et de diverses compositions, mais ils sont probablement moins efficaces.

Avec les filtres plissés, les virus adsorbés sur les solides captifs sont élués en même temps que les virus sur les filtres.

Lorsque les solides sont recueillis séparément sur les préfiltres, ils doivent être élués. Si les volumes d'éluats sont importants, il est nécessaire de procéder à une concentration, ce qui peut se faire par la technique de la floculation organique au moyen d'extrait de bœuf, de sérum et de substances semblables. Lorsque l'éluion a été obtenue par un tampon de pH élevé, on peut poursuivre la concentration par la procédure d'adsorption sur filtre/éluion ou d'autres méthodes déjà décrites.

4. Méthodes applicables aux échantillons de boues

Les méthodes applicables aux boues sont semblables aux méthodes utilisées pour extraire les virus des solides dans l'eau. Ainsi, les virus peuvent être élués directement de l'échantillon de boue au moyen d'un tampon glycine (7,5–9 de pH) ou d'extrait de bœuf ou d'autres éluents organiques semblables. La précipitation ou la floculation, à un pH faible, au moyen d'alun ou de chlorure ferrique suivies d'éluion peuvent donner de meilleurs résultats sur les échantillons contenant peu de virus. L'éluion à un pH élevé n'est pas recommandée si les boues contiennent de l'ammonium (NH_4^+) car celui-ci se transforme en ammoniac (NH_3) qui détruit les virus.

Les polyélectrolytes utilisés comme épaississants de boues peuvent servir d'agents pour la récupération des virus présents dans les boues. Si l'on ajoute à l'échantillon de boue un polyacrylamide de poids moléculaire élevé, à une concentration de 100 mg/litre par

exemple, on obtient un floc qui peut être filtré à travers un tamis à mailles d'1 mm (ou un entonnoir bouché par un tampon peu serré de coton). Le floc peut ensuite être élué au moyen d'un tampon glycine ou d'extrait de bœuf, etc. On peut recourir aux ultras-sons, si possible en présence de dodécylsulfate de sodium, pour désagréger les solides. Des problèmes de toxicité cellulaire pouvant surgir même dans les éluats, il peut être utile dans ce cas de passer à de nouvelles cultures cellulaires.

On ne sait pas dans quelle mesure les virus captifs dans les solides boueux sont élués par ces procédés.

5. Evaluation des méthodes actuelles

Aucune des méthodes décrites jusqu'ici n'est totalement quantitative. Des essais de plus grande envergure seraient nécessaires. Le nombre des virus étudiés est relativement faible et seuls quelques échantillons de milieux ont été soumis à tous les procédés d'essai. Enfin, la technologie évolue rapidement et il est nécessaire que les chercheurs de différents laboratoires réalisent des essais comparatifs afin d'assurer une normalisation et un contrôle de la qualité.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. HILL, W. ET AL. Detection of viruses in water: a review of methods and application. Proceedings of the 13th Water Quality Conference. *Water Research*, 5: 967-995 (1971).
2. SOBSEY, M. D. Methods for detecting enteric viruses in water and wastewater. In: BERG, G. ET AL., ed. *Viruses in water*, Washington, DC, American Public Health Association, 1976.
3. SUESS, M. J., ed. *Examination of water for pollution control: handbook for management and analysis*, 3 vol. (en préparation au Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, Copenhague).
4. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standards methods for the examination of water and wastewater*, 15th ed., Washington, DC, 1977.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ
SÉRIE DE RAPPORTS TECHNIQUES

Rapports récents

N°	Fr. s.
585 (1976) Résistance des vecteurs et des réservoirs de maladies aux pesticides Vingt-deuxième rapport du Comité OMS d'experts des Insecticides (97 pages)	8,—
586 (1976) Risques pour la santé liés aux nouveaux polluants de l'environnement Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS (108 pages)	8,—
587 (1976) Indices statistiques de la santé de la famille Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS (98 pages)	8,—
588 (1976) Lutte contre la méningite cérébro-spinale Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS (31 pages)	7,—
589 (1976) Planification et évaluation des services de santé dentaire Rapport d'un comité d'experts de l'OMS (37 pages)	6,—
590 (1976) Carence en vitamine A et xérophtalmie Rapport d'une réunion mixte OMS/USAID (95 pages)	8,—
591 (1976) Médecine nucléaire Rapport d'un comité mixte AIEA/OMS d'experts de l'utilisation des rayonnements ionisants et des radio-isotopes à des fins médicales (médecine nucléaire) (74 pages)	7,—
592 (1976) Résidus de pesticides dans les produits alimentaires Rapport de la Réunion conjointe FAO/OMS de 1975 (47 pages)	6,—
593 (1976) Méthodologie de la surveillance nutritionnelle Rapport d'un comité mixte FAO/FISE/OMS d'experts (71 pages)	7,—
594 (1976) Comité OMS d'experts de la Standardisation biologique Vingt-septième rapport du Comité OMS d'experts (90 pages)	8,—
595 (1976) Adjuvants de l'immunité Rapport d'un Groupe scientifique de l'OMS (43 pages)	6,—
596 (1976) Application de l'analyse de systèmes à la gestion sanitaire Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS (76 pages)	7,—
597 (1976) Epidémiologie de l'onchocercose Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS (105 pages)	8,—
598 (1976) Aspects microbiologiques de l'hygiène des denrées alimentaires Rapport d'un Comité OMS d'experts réuni avec la participation de la FAO (115 pages)	9,—
599 (1976) Evaluation de certains additifs alimentaires Vingtième rapport du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (34 pages)	6,—
600 (1976) Tendances et approches nouvelles dans la prestation de soins aux mères et enfants par les services de santé Sixième rapport du Comité OMS d'experts de la Santé maternelle et infantile (108 pages)	12,—
601 (1977) Méthodologie de l'établissement des limites admissibles d'exposition professionnelle à des agents nocifs Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS avec la participation de l'OIT (72 pages)	8,—

N°		Fr. s.
602	(1977) Progrès en matière d'hépatite virale Rapport du Comité OMS d'experts de l'hépatite virale (68 pages) . . .	8,—
603	(1977) Aspects techniques des opérations de lutte antivectorielle Premier rapport du Comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle (44 pages)	6,—
604	(1977) Salubrité des aliments irradiés Rapport d'un Comité mixte AIEA/FAO/OMS d'experts (46 pages) . .	6,—
605	(1977) Chimiothérapie des tumeurs solides Rapport d'un Comité OMS d'experts (118 pages)	10,—
606	(1977) Le rôle des immuncomplexes en pathologie Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS (63 pages)	8,—
607	(1977) Comité OMS d'experts de la lèpre Cinquième rapport du Comité OMS d'experts (50 pages)	6,—
608	(1977) Critères d'évaluation des objectifs éducationnels dans la formation des personnels de santé Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS (48 pages)	6,—
609	(1977) Besoins sanitaires des adolescents Rapport d'un Comité OMS d'experts (59 pages)	7,—
610	(1977) Comité OMS d'experts de la standardisation biologique Vingt-huitième rapport du Comité d'experts de l'OMS (143 pages) . . .	11,—
611	(1977) Emploi des rayonnements ionisants et des radionucléides sur des êtres humains dans la recherche médicale, l'enseignement et les activités non médicales Rapport d'un comité d'experts de l'OMS (42 pages)	6,—
612	(1977) Résidus de pesticides dans les produits alimentaires Rapport de la Réunion conjointe FAO/OMS de 1976 (39 pages) . . .	6,—
613	(1977) Santé mentale et Développement psychosocial de l'enfant Rapport d'un comité OMS d'experts (80 pages)	7,—
614	(1977) Comité OMS d'experts des Spécifications relatives aux préparations pharmaceutiques Vingt-sixième rapport (56 pages)	7,—
615	(1977) La sélection des médicaments essentiels Rapport d'un comité d'experts de l'OMS (39 pages)	5,—
616	(1978) Neisseria gonorrhoeae et les infections gonococciques Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS (159 pages)	12,—
617	(1978) Evaluation de certains additifs alimentaires Vingt et unième rapport du Comité mixte FAO/OMS d'experts des Additifs alimentaires (49 pages)	5,—
618	(1978) Comité OMS d'experts de la Pharmacodépendance Vingt et unième rapport (53 pages)	6,—
619	(1978) La contraception par les stéroïdes et le risque de néoplasmes Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS (59 pages)	6,—
620	(1978) Pesticides : Chimie et normes Deuxième rapport du Comité OMS d'experts de la Biologie des Vecteurs et de la Lutte antivectorielle (40 pages)	5,—
621	(1978) Epidémiologie, étiologie et prévention des parodontopathies Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS (65 pages)	6,—
622	(1978) Promotion et développement de la médecine traditionnelle Rapport d'une réunion de l'OMS (43 pages)	5,—