



20498



Agence de l'eau
Rhin-Meuse



1995 - ECOLE DOCTORALE "BIOLOGIE & SANTE"

THESE

Présentée et soutenue **publiquement**
le 5 juillet 1995

pour obtenir le titre **de**

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ - NANCY 1
Mention : Chimie et Microbiologie de l'Eau

par

Frédéric QUIGNON
titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies

Sujet :

ETUDE EN MILIEU HYDRIQUE DE L'INACTIVATION
DU PÔLIOVIRUS-1 ET DE SON ADSORPTION
SUR ARGILE ET SUR BIOFILM

MEMBRES DU JURY

Président :	Pr Jean-Claude BLOCK (Université Henri Poincaré - Nancy 1)
Examineurs :	Mr Laurent KIENE (CIRSEE - Lyonnaise des Eaux) Pr louis SCHWARTZBROD (Université Henri Poincaré - Nancy 1) Dr Fabien THOMAS (ENSG - Nancy - CNRS)
Rapporteurs :	Pr Juan JOFRE (Université de Barcelone - Espagne) Dr Robert DELOINCE (CRSSA - Grenoble) Dr Michel SARDIN (ENSIC - Nancy - CNRS)

La pollution du milieu hydrique est, au niveau mondial, un phénomène important et préoccupant [Pelt (1990), Waller et Millard (1994)]. Elle est à la fois chimique par le rejet de multiples déchets industriels, physique par la contamination radioactive ou thermique, microbienne enfin.

Ce dernier type de contamination est surtout provoqué par le déversement dans les eaux de surface des eaux usées urbaines, réceptacle obligé des résidus de l'activité humaine individuelle ou collective, domestique ou industrielle.

Or, l'eau destinée à la consommation humaine, obtenue de plus en plus fréquemment par traitement des eaux de surface, doit être exempte de tout organisme pathogène pouvant représenter un risque pour la santé publique [CCE (1993)]. Il importe donc de connaître le comportement des micro-organismes susceptibles d'être transmis par l'eau et d'évaluer leur impact sur la santé publique.

1.1 Micro-organismes pathogènes et eau

Des micro-organismes pathogènes d'origine humaine ou animale peuvent être à l'origine d'une contamination de l'homme :

- par consommation d'eau de boisson contaminée,
- lors d'une baignade ou d'un contact direct avec les eaux récréatives,
- par consommation de coquillages élevés dans des zones maritimes contaminées,
- par consommation de produits maraîchers contaminés par une eau d'irrigation souillée,
- par inhalation d'aérosols créés par les climatiseurs, humidificateurs, pommes de douche et autre robinetterie.

Ces micro-organismes pathogènes correspondent essentiellement à des bactéries, des virus ou des parasites.

1.1.1 Bactéries

Des bactéries pathogènes peuvent être transmises à l'homme par l'intermédiaire du milieu hydrique selon plusieurs voies : digestive, cutanéomuqueuse et respiratoire.

1.1.1.1 Voie digestive

Les bactéries susceptibles d'infecter l'homme à partir du milieu hydrique par voie digestive appartiennent essentiellement à la famille des ***Enterobacteriaceae*** avec ***Shigella***, ***Escherichia***, ***Yersinia***, ***Salmonella***, à celle des ***Vibrionaceae*** avec ***Vibrio*** et ***Plesiomonas***, ainsi qu'aux ***Spirillaceae*** avec ***Campylobacter***.

Leur excrétion par les individus infectés peut s'étaler sur une période bien supérieure à la période d'état de la maladie. Ainsi, ***Salmonella typhi*** et ***S. paratyphi*** sont excrétés à partir du septième jour suivant le début de la phase d'hyperthermie, à des teneurs pouvant atteindre 10^{10} germes par gramme de fèces. Pendant la période de convalescence d'environ deux mois, 9 à 10% des cas cliniques continuent à excréter ***S. typhi***. Deux à 5% des individus infectés sont des porteurs chroniques et peuvent excréter ces micro-organismes pendant plus d'un an.

Les individus infectés par ***Shigella*** et présentant une dysenterie bacillaire éliminent 10^5 à 10^9 germes par gramme de selles liquides, les porteurs asymptomatiques en éliminent 10^2 à 10^6 g⁻¹, pour une durée inférieure à un mois dans la majorité des cas. Moins de 10% des cas sont encore porteurs chroniques après un an.

Certaines souches d'***E. coli***, hôte normal du tractus intestinal humain, sont entéro-pathogènes, produisent des toxines ou sont entéro-envahissantes. (Les souches de ***E. coli*** utilisées comme indicatrices de contamination fécale sont saprophytes.)

1.1. 7.2 Voie cutané-muqueuse

Les deux types de micro-organismes concernés sont :

i/ Leptospira (agent des leptospiroses)

Il s'agit d'organismes spiralés de 6 à 15 μm de long et de $\varnothing 0,1 \mu\text{m}$ présentant une mobilité particulière. Les souches saprophytes de *L. biflexa* sont présentes en abondance dans les eaux douces. Les rongeurs et les animaux domestiques sont un réservoir important de souches pathogènes de *L. interrogans*. L'homme est contaminé par contact avec l'eau et les milieux humides (marais, vases, rizières, étangs) souillés par l'urine de ces animaux porteurs. L'infection à leptospires est par ailleurs associée à certaines professions en contact avec l'eau (mineurs, agriculteurs, égoutiers ou responsables de loisirs nautiques).

ii/ Mycobactéries atypiques

Les mycobactéries atypiques peuvent être à l'origine d'affections opportunistes, comme le granulome des piscines provoqué par *Mycobacterium marinum* [Dailloux *et al.* (1980)], liées à un contact avec un milieu hydrique contaminé. Toutes ces mycobactéries atypiques présentent une grande résistance aux antibiotiques et aux désinfectants. Leur utilisation comme indicateur d'efficacité de traitement de désinfection est donc envisageable.

3.3. 1.3 Voie respiratoire

Bactérie flagellée aérobie à gram négatif, *Legionella pneumophila* est classiquement transmise par l'intermédiaire des climatiseurs [Mc Dade *et al.* (1977)]. Cette bactérie est en fait très largement présente dans le milieu hydrique. *L. pneumophila* a ainsi été détectée dans 90% des 200 prélèvements effectués dans 23 lacs ou étangs de deux États ouest-américains. (**Georgia** et **South Carolina**) à des concentrations de $2,7.10^5$ à $9,6.10^6 \text{ L}^{-1}$ [Fliermans *et al.* (1979)]. *L. pneumophila* affectionne les eaux chaudes. Bourmon et Desplaces (1983) ont montré que les taux de positivité observés dans les eaux parisiennes sont de :

- 0% au niveau des châteaux d'eau,
- 24% au robinet d'eau froide des usagers,
- 70% dans les systèmes d'eau chaude,
- 83% dans les circuits de refroidissement.

1.1.2 Virus

Plus de 140 types de virus pathogènes peuvent être transmis à l'homme via la voie hydrique. Les principaux types susceptibles d'être rencontrés - car déjà mis en évidence - dans l'eau sont reportés dans le Tab. I.I.1. Ils correspondent tout à fait à ceux qui sont excrétés dans les fèces des individus infectés [Hurst (1989)]. Regroupés sous le vocable de virus entériques, ils appartiennent à plusieurs familles et genres.

1.1.2.1 Les Entérovirus

De la famille des Picornaviridae, ce sont des virus à ARN monocaténaire, nus, à capsidie icosaédrique et dont la taille varie de 20 à 30 nm.

Le genre **Enterovirus** comprend les poliovirus, les coxsackievirus A et B, les echovirus et les entérovirus 68 à 71.

Leur transmission se fait par l'eau souillée ou les aliments contaminés.

La plupart des infections provoquées par ces virus sont inapparentes. Chez l'enfant, le rapport des infections (selles contaminées) aux maladies est par exemple de 250/1 pour le poliovirus-1 et de 1500/1 pour les poliovirus-2 ou -3 [Beytout (1985)]. Leur domaine pathologique est très étendu car ils sont capables de provoquer des lésions du système nerveux, du tractus gastro-intestinal, de l'appareil respiratoire, des muscles, de la peau et des yeux.

1.1.2.2 Les virus des hépatites

Deux types de virus des hépatites sont excrétés dans les selles des individus infectés et sont susceptibles d'être transmis par voie hydrique : le virus de l'hépatite A (VHA) et celui de l'hépatite E (VHE).

Le VHA, classé dans le genre **Hepatovirus**, appartient à la famille des Picornaviridae. C'est un virus à ARN monocaténaire, nu et à capsidie icosaédrique de 27 nm de diamètre. Il

Ce travail a été motivé par la question de savoir si le risque virologique au niveau d'un **réseau** de distribution d'eau potable existe et s'il est possible de dégager les facteurs favorables à la survie des virus dans un tel système.

Il nous est apparu que les virus devraient être en interaction non seulement avec la phase aqueuse continue, mais aussi avec la matière en suspension dans l'eau et avec le biofilm, à l'interface liquide/solide.

C'est pourquoi notre travail s'est axé d'une part sur les phénomènes d'inactivation virale dans l'eau et d'autre part sur les phénomènes d'adsorption virale sur la matière **particulaire** en suspension.

Il nous a ainsi semblé souhaitable d'étudier la survie des virus dans un pilote réseau, tant au niveau de la phase liquide que du biofilm, en tirant bénéfice de la détermination préalable des conditions favorables à l'inactivation et à l'adsorption virale dans l'eau.

Notre motivation sera **recompensée** si ce travail peut servir de base à l'évaluation du risque virologique lié aux eaux de distribution.

provoque une infection qui est le plus souvent inapparente chez l'enfant et **potente** chez l'adulte (ictère accompagné d'asthénie, anorexie, nausées, vomissements et fièvre.) La transmission du VHA se fait par consommation d'eau souillée ou d'aliments contaminés, en particulier les coquillages.

Le VHE est un virus à ARN, non enveloppé, à capsidie icosaédrique, d'un diamètre de 27 à 34 nm. Il est rattaché aux Hepeviridae. Il est responsable de nombreux cas d'hépatites après transmission par voie orale. Chez la femme enceinte, le risque de mortalité est de 20%.

1.1.2.3 Agents des gastro-entérites

Ceux-ci regroupent les virus entériques ayant comme particularité commune de provoquer des diarrhées épidémiques et des vomissements.

i/ Rotavirus

Appartenant à la famille des Réoviridae, ces virus nus possèdent un ARN bicaténaire fragmenté, une double capsidie et une symétrie icosaédrique. Leur taille est de 70 à 80 nm.

Les rotavirus sont les agents majeurs des gastro-entérites aiguës sporadiques chez le jeune enfant. Après une incubation de un à deux jours, ils provoquent des vomissements et une diarrhée associée à de la fièvre. La guérison survient en général après 5 à 6 jours. Chez l'adulte l'infection est souvent inapparente.

ii/ Calicivirus

Les **Calicivirus** humains sont responsables de gastro-entérites marquées par des vomissements et des diarrhées pendant 4 jours. Le virus de Norwalk et les virus apparentés appartiennent à ce genre. En fait, les **Calicivirus**, les **Astrovirus** et les **Parvovirus-like** sont regroupés sous l'appellation de "**Small Round Viruses**". Ces virus présentent une morphologie voisine en microscopie électronique. Il s'agit de virus nus, de 20 à 40 nm de diamètre, à ARN monocaténaire (ADN pour les **Parvovirus-like**) et à capsidie icosaédrique. Leur surface peut être lisse ou présenter des reliefs caractéristiques.

A noter que pour les rotavirus ou le virus de Norwalk, l'immunité acquise au cours d'une infection ne dure pas toute

la vie.

iii/ Coronavirus et Coronavirus-like

Les coronavirus sont des virus à ARN monocaténaire et à capsid tubulaire. Ils possèdent de plus une enveloppe lipidique hérissée de larges **spicules**. Leur diamètre est de 120 nm.

iv/ Adénovirus

Les adénovirus humains sont des virus nus à ADN bicaténaire et à capsid icosaédrique dont les structures antigéniques fibrillaires participent à la réaction d'hémagglutination avec certaines hématies. Leur taille est de 70 à 80 nm.

Ils provoquent pour la plupart des infections respiratoires et conjonctivales. Certains possèdent aussi un pouvoir oncogène. Les adénovirus 40 et 41 dits "fastidieux" car très difficilement cultivables sur cellules, ont été retrouvés dans des selles de nourrissons atteints de gastro-entérites [Flewett et **al.** (1975)]. Ces adénovirus fastidieux seraient responsables de 4 à 8% des gastro-entérites infantiles [Adrian et **al.**(1987)].

Les adénovirus sont excrétés dans les selles pendant une à deux semaines après l'apparition des symptômes cliniques.

1.1.3 Parasites

Le risque parasitaire au niveau des eaux est surtout médié par les formes de résistance que sont les kystes de protozoaires (***Giardia spp.***, ***Cryptosporidium spp.***), les amibes (***E. histolytica***) et les helminthes.

Les espèces de protozoaires connues pour être transmises par ingestion d'eau de boisson contaminée sont notamment :

1.1.3.1 Amibes

La seule espèce parasite et pathogène pour l'homme est ***Entamoeba histolytica*** mais il existe des amibes libres présentes dans les milieux naturels qui peuvent accidentellement infecter l'homme.

i/ E. histolytica

La forme de-résistance est un kyste de \varnothing 12 à 15 μm , à coque épaisse, éliminé dans les selles des individus infectés, souffrant de diarrhée. Une forme végétative (***E. histolytica minuta***), de \varnothing 10 à 15 μm , qui se nourrit de débris alimentaires et de bactéries, peut se retrouver dans les selles d'individus bien portants. Elle est très sensible à la dessiccation. La forme pathogène (***E. histolytica histolytica***), d'une taille de 20 à 40 μm , se développe dans les tissus intestinaux (voire hépatiques) où ses enzymes protéolytiques provoquent des micro-abcès qui se traduisent par des diarrhées.

ii/ amibes libres

Deux genres peuvent infecter l'homme : ***Naegleria*** et ***Acanthamoeba***. Ils présentent l'un et l'autre une forme végétative et une forme kystique. Les ***Naegleria*** provoquent des affections neurologiques foudroyantes alors que les ***Acanthamoeba*** sont des agents d'infections chroniques du système nerveux mais aussi de kératites souvent secondaires au port de lentilles cornéennes sales.

1.1.3.2 Giardia intestinalis

La forme de résistance est aussi un kyste à coque épaisse de taille 10-13 μm x 6 μm , éliminé dans les selles des individus infectés à des teneurs pouvant atteindre 107 par gramme de selles et par jour. La forme végétative (ou trophozoïte), de taille 10-20 μm x 6-10 μm et évoquant de face un cerf-volant, est présente au niveau du duodénum et provoque des troubles digestifs accompagnés de diarrhées. Une infestation peut cependant souvent rester asymptomatique. Chez deux humains volontaires, l'ingestion de 10 kystes a suffi pour provoquer l'infection [Rendtorff (1979)].

1.1.3.3 Cryptosporidium

La forme de résistance ou oocyste, de \varnothing 4 à 5 μm , est double. L'oocyste à paroi mince est responsable du cycle d'auto-infestation, celui à paroi épaisse est libéré dans l'environnement. La forme pathogène (ou trophozoïte) infecte les tractus gastro-intestinaux et respiratoires de nombreux animaux. ***C. parvum*** et ***C. muris*** infectent les mammifères, dont l'homme, la première espèce étant responsable de la majeure

partie des cas de cryptosporidiose chez l'homme (surtout les enfants de moins de 3 ans et les personnes **immuno-déprimées**) et les animaux domestiques. **Cryptosporidium** est communément responsable de gastro-entérites débutant 3 à 14 jours après l'infection. L'excrétion des oocystes dure de moins de 3 à 30 jours (12 jours en moyenne) et coïncide avec la présence des symptômes cliniques. Cependant, l'excrétion des oocystes peut être intermittente et durer jusqu'à 50 jours après cessation des symptômes.

Ces organismes peuvent s'introduire dans un approvisionnement en eau par contamination fécale humaine et quelquefois animale. Les kystes de protozoaires présentent notamment une très grande résistance aux conditions extérieures. Ainsi, **C. parvum** peut survivre plus de 12 mois à 4°C en conditions isotoniques [Smith (1992)]. Cependant, une dessiccation ou une exposition de 30 min. à une température supérieure à 60°C ou inférieure à -20°C permet de tuer les oocystes de **Cryp tosporidium** [HMSO (1990), Anderson (1985)]. Les oocystes sont aussi très résistants à la **chloration**. Dans l'eau, il est nécessaire d'utiliser une dose de chlore libre de 16 000 mg.L⁻¹ pendant 24 h. pour réduire totalement la viabilité d'espèces de **Cryptosporidium** issues de selles humaines, et ce, pour n'importe quel couple de température et de pH [Smith *et al.*(1989)].

Giardia spp. et **Cryptosporidium** sont sans doute les protozoaires qui possèdent le plus grand potentiel de transmissibilité par l'eau de boisson [Smith *et al.*(1989)].

1.1.3.4 Helminthes

Dans leur phase infectieuse, de nombreux vers parasites ronds (némathelminthes) ou plats (plathelminthes) peuvent être transmis à l'homme par l'eau de boisson ou par pénétration transcutanée. Les helminthes les plus souvent mis en cause lors de transmission par voie digestive sont **Ascaris Zumbriçoïdes** et **Trichuris trichura** (nématodes).

Ces vers sexués de 15 à 25 cm de long pour **A. fumbricoïdes** et 3 à 5 cm de long pour **T. trichura** vivent dans l'intestin grêle. Ils occasionnent des troubles digestifs avec parfois nausées et vomissements. Une femelle d'**A. lumbricoïdes** pond dans l'intestin jusqu'à 200 000 œufs très résistants par jour, qui seront excrétés dans les fèces. Or, un seul œuf peut entraîner

l'infection. La contamination peut se faire par ingestion d'eau, de végétaux ou de sols contaminés par des œufs.

Cependant, la voie hydrique est relativement peu importante, sauf pour ***Dracunculus medinensis*** (ver de Guinée) et pour les schistosomes humains, qui constituent le danger essentiel des approvisionnements sans adduction. Le ver de Guinée est en fait exclusivement transmis par voie hydrique. L'éradication pour 1995 de la maladie qu'il provoque notamment au Ghana et au Nigeria est un des buts des **Centers for Disease Control and Prevention** américains [CDC 1992].

D'autres helminthes peuvent être transmis à l'homme par pénétration de larves par voie trans-cutanée à la suite de contacts avec de la boue ou des eaux contaminées. C'est le cas des ancylostomidés (***Ancylostoma duodenale*** et ***Necator america nus***), vers hématophages de 1 à 2 cm de long, ou des rhabditidés (***Strongyloïdes stercoralis*** ou anguillule) qui provoque des troubles gastro-intestinaux.

D'autres organismes tels que des champignons, des algues ou des escargots peuvent être vecteurs d'organismes pathogènes (fixés sur leur cuticule ou dans leur tractus digestif [Levy et al. (1986)]) ou produire des toxines (dinoflagellées). Ils peuvent aussi engendrer des colmatages de filtres et des problèmes d'odeur et de saveur.

1.1.4 Conclusion

Dans les pays développés, le risque lié à la consommation d'eau potable n'est pas bactérien mais viral ou parasitaire. Les virus entériques pathogènes transmissibles par voie hydrique les plus préoccupants sont le virus de l'hépatite A, les virus des gastro-enterites (rotavirus, adénovirus, virus de type Norwalk...) et les Enterovirus (poliovirus, coxsackievirus, echovirus). Le risque parasitaire concerne les formes résistantes que sont les kystes de protozoaires (Giardia, Cryptosporidium) et les œufs ou larves d'helminthes (Ascaris, Trichuris, Ancylostoma, anguillule).

Dans les pays industrialisés, l'importance relative de l'étiologie virale au niveau des épidémies locales d'origine hydrique est, du fait des progrès des techniques de détection virale, chaque année plus apparente. Cependant, l'appréciation du risque virologique au niveau des eaux distribuées se heurte en particulier à une méconnaissance du devenir des virus entériques introduits dans le réseau. Or, le devenir des virus dans l'eau est la résultante des phénomènes d'inactivation, d'adsorption et d'agrégation virales et de leurs interactions avec tous les composants du milieu hydrique (sels, matières en suspension, biofilm). C'est pourquoi nous avons étudié ces différents phénomènes et interactions au niveau d'un système simplifié (poliovirus-1 dans de l'eau désionisée stérile) que nous avons complexifié progressivement par introduction de sels, d'argile et d'acide tannique. L'étude de l'inactivation virale dans diverses eaux naturelles a également été réalisée. Enfin, le suivi de poliovirus-1 introduit dans un pilote-réseau a permis d'apprécier en conditions réelles l'influence, sur le comportement des virus, de la pré-adsorption virale sur argile.

L'inactivation des virus entériques dans l'eau est en premier lieu fonction de la température de l'eau. Nous montrons en particulier que l'influence de la température sur la vitesse d'inactivation du poliovirus-1 est beaucoup mieux décrite par une relation d'Arrhénius que par un modèle linéaire souvent utilisé dans la littérature.

Dans les eaux naturelles, un second facteur peut, d'après nos résultats, être corrélé à la vitesse d'inactivation virale : la conductivité de l'eau. Cependant, nous observons que la teneur en sels de l'eau n'influe pas, à elle seule, sur l'inactivation virale. Nous faisons l'hypothèse d'une potentialisation par les sels de la capacité inactivante des eaux contenant des substances virucides. Ainsi, après la chaleur, le deuxième facteur inactivant pour les virus en eau naturelle serait le couple force ionique-substances virucides.

La présence dans l'eau de matière particulaire en faible quantité (jusqu'à 205 mg.L⁻¹ de Na-montmorillonite) ne procure au poliovirus-1 aucune protection vis-d-vis de l'inactivation naturelle. D'ailleurs, les virus adsorbés sur l'argile

restent infectieux en culture cellulaire.

Dans l'eau, la majeure partie des virus est adsorbée sur la matière particulaire en suspension. Nous montrons que l'adsorption du poliovirus-1 à la Na-montmorillonite s'accroît sous l'influence conjointe de l'augmentation des concentrations en sel et en argile. En particulier, une concentration de 10 mg.L⁻¹ d'argile est largement suffisante pour adsorber tous les virus introduits, à condition que la conductivité de l'eau soit assez élevée : au delà de 0,4 à 0,7 mS.cm⁻¹ en CaCl₂ ou MgCl₂ et au delà de 0,8 mS.cm⁻¹ en NaCl ou KCl.

La cinétique d'association des virus à l'argile est fort bien décrite par un modèle de diffusion. Pour une charge virale de 10⁷ nppuc.mL⁻¹ et 100 mg.L⁻¹ d'argile, une particule virale aurait à sa disposition au moins 10⁷ particules d'argile. L'adsorption virale à l'argile n'est donc pas limitée par la surface disponible d'adsorbant mais par la probabilité de rencontre de particules colloïdales en suspension. Par ailleurs, nous observons que le formalisme de l'adsorption (Freundlich) ne permet plus, au delà d'une certaine concentration saline, de prédire la quantité de virus qui interagissent avec l'argile. Nous faisons l'hypothèse que les sels favorisent la formation de co-agrégats virusargile et qu'au delà d'une concentration saline critique, plus basse en CaCl₂ qu'en NaCl, les complexes virusargile-sel précipitent.

Le rôle de la matière organique a été étudiée dans notre système en prenant comme modèle l'acide tannique. Toxique à forte dose pour les virus, l'acide tannique ne présente plus de toxicité à des concentrations de l'ordre du mg.L⁻¹. Cependant, il paraît interagir fortement avec l'aluminium. Ce qui a pour conséquence de réduire d'une part la quantité d'agent virucide (l'acide tannique) disponible et d'autre part la quantité d'agent agrégeant (l'aluminium).

Le devenir des virus en milieu hydrique est donc difficilement prévisible dès lors que de multiples phénomènes (inactivation, adsorption, agrégation) interviennent et interfèrent entre eux. Dans ce contexte, nous avons montré que la méthodologie des plans d'expérimentation peut permettre, à moindre coût, une évaluation précise des effets, sur la réponse observée, de chaque constituant du système et de leurs interactions éventuelles.

En ce qui concerne l'adsorption d u poliovirus-1 o u niveau d'un pilote-réseau, il apparaît q u e l'adsorption d u poliovirus-1 sur la Na-montmorillonite en suspension n e procure p l a s aux virus d e protection vis-à-vis d e l'inactivation naturelle o u par le chlore. Par contre, l'introduction d e virus pré-adsorbés sur l'argile (40 mg.L⁻¹) - o u niveau d'une canalisation s e traduit par u n allongement d e l a durée d e détection d e s virus dans la phase eau en sortie d e pilote. En présence d'argile, le temps d e séjour moyen d e s virus en p l a s e eau est ainsi multiplié par 3. En absence d'un résiduel d e chlore, la présence d e matière particulaire engendrerait donc u n risque accru pour le consommateur q u e d e s virus pathogènes puissent s e fixer a u biofilm et y demeurer plus longtemps. Enfin, indépendamment d e la présence d'argile, la majorité d e s virus introduits d a n s le pilote est retrouvée a u niveau d u biofilm. Ainsi, n o u s montrons q u e la minorité d e s virus (entre 3 % et 10%), qui résiste à u n résiduel de chlore libre de 0 . 0 z à 0,04 mg.L⁻¹, s'accumule o u niveau d u biofilm. En accord avec Vanden Bossche et Krietemeyer (1994), n o s travaux indiquent donc q u e le biofilm peut constituer u n b o n réservoir à virus.

L'étude d e l'association d e s virus à l'argile fait apparaître la nécessité d e développer les aspects dynamiques de l'adsorption (cinétiques) et d e préciser notamment l'influence d e s différents paramètres environnementaux sur la fréquence d e chocs efficaces virus/matière en suspension. N O S travaux montrent q u e les virus d a n s l'eau peuvent effectivement être considérés comme d e s biocolloïdes et q u e l e u r comportement peut être prédit par l'application d e modèles analytiques simples. Néanmoins, le facteur limitant d a n s l'exploitation de modèles mathématiques o u d'outils statistiques a u niveau virologique est l'absence d e technique d e quantification virale rapide, précise et p e u onéreuse.

Par ailleurs, n o u s avons montré lors d e notre étude en eaux naturelles q u e la dureté d e l'eau engendre deux phénomènes qui s'opposent : d'une part, le bénéfice d e la potentialisation d e s agents virucides, d'autre part, en présence d'argile, l'inconvénient d e la formation favorisée d e s complexes argile/virus menant, o u niveau des canalisations, à u n allongement de la période d e détection virale. L'effort d u traiteur d'eau soucieux d e la qualité virologique d e l'eau distribuée devra donc porter sur l'élimination d e s sources d e matières en suspension, surtout au niveau d'une eau dure.