

INTRODUCTION

La contamination des eaux par des virus animaux résulte, dans la plupart des cas du rejet des matières fécales dans le milieu hydrique lequel engendre un risque de contagiosité interhumaine qu'il faut d'abord savoir mesurer afin de prendre conscience, sur le plan de la santé publique, des risques réels encourus. A cet égard, les eaux usées brutes constituent pour une population donnée, un échantillonnage particulièrement riche en agents pathogènes excrétés dans le milieu extérieur. Ainsi les entérovirus qui se multiplient au niveau des muqueuses intestinales sont couramment détectés dans ce type d'eau. Après épuration, on constate un abattement plus ou moins important de ces divers agents pathogènes. Sur le plan qualitatif, d'autres familles de virus ont été isolées dans les eaux brutes, à savoir des Adenoviridés, Réoviridés, Parvoviridés ou encore les virus de l'Hépatite.

Cependant, si l'on s'attache, sur le plan quantitatif, à connaître ne serait-ce que le nombre de particules virales transitant dans les eaux résiduaires, on constate rapidement qu'il existe une variabilité très importante des résultats obtenus de par le monde. Il faut en effet considérer que les études menées dans ce domaine sont le plus souvent ponctuelles, utilisent des protocoles expérimentaux différents, font appel à des techniques diverses, sont poursuivies sous des climats et à des saisons variables, sur des populations vaccinées ou non contre la poliomyélite et dont le niveau d'hygiène peut être faible ou élevé.

Dans ces conditions, si une estimation globale demeure toujours possible, la comparaison des résultats conduit le plus souvent à des hypothèses différentes selon l'importance attribuée à tels ou tels paramètres. S'il est impossible de fixer pour chaque étude du même type tous les paramètres susceptibles d'interférer sur les mesures, le choix d'un appareillage et d'une méthodologie communs autorisent, à priori, une interprétation plus aisée des phénomènes observés.

L'évaluation quantitative des entérovirus dans les eaux résiduaires avant et après traitement biologique, dont les résultats constituent l'objet du présent rapport, a été réalisée conjointement par trois laboratoires :

- Le Laboratoire de Bactériologie et Virologie :
Faculté de Pharmacie de l'Université Nancy I
Professeur Schwartzbrod

- Le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique :
Faculté de Médecine de l'Université Nancy I
Professeur FOLIGUET

- Le Service de Contrôle des Eaux de la Ville de Paris
Professeur VILAGINES

à partir d'une technique de concentration des virus (poudre de verre en lit fluidisé) et d'un protocole opératoire acceptés en commun.

Les conditions expérimentales optimales liées à la méthodologie choisie ont été préalablement définies (étude préliminaire et annexe). A ce niveau, la part prise par le Contrôle des Eaux a consisté à :

1°) étudier le rendement du viroconcentrateur à partir d'échantillons de grands volumes d'eaux résiduaires.

2°) déterminer la conservation des concentrats de virus et conservation des entérovirus dans les eaux résiduaires brutes et épurées.

3°) comparer la méthode des plages par rapport à celle des milieux liquides (3 fois trois tubes) pour la numération des particules virales.

L'étude du flux des virus à travers une station d'épuration a été réalisée de façon identique, aux conditions expérimentales définies par les trois laboratoires. Seule la fréquence des prélèvements a fait l'objet de deux options : la première option, celle choisie par le laboratoire du professeur Schwartzbrod et par le notre (professeur Vilaginès), prévoit un rythme mensuel de 18 expériences réalisées en une journée. La seconde option (Laboratoire du Professeur Foliguët) prévoit un rythme trimestriel de 54 expériences réalisées pendant trois jours consécutifs.

Comme en témoignent de nombreux travaux internationaux, la mise en évidence de particules virales dans des eaux de rivière et des eaux résiduaires constitue sur le plan épidémiologique un danger que l'on ne peut négliger au niveau du traitement des eaux destinées à la consommation. Dans cette optique le Ministère de l'Environnement et du Cadre de Vie nous a offert sa participation pour mener une étude commune avec le Laboratoire de la Faculté de Pharmacie et le Laboratoire d'Hygiène et de Santé Publique de la Ville de Nancy concernant la présence et le devenir des virus dans une station d'épuration.

Au cours de cette étude, chaque laboratoire, dans sa région et à partir de la station d'épuration de son choix, se propose par des méthodes et une technologie identiques d'apporter des éléments de réponse aux points suivants :

- Quelle est la charge virale moyenne de la station d'épuration ?
- Existe-t-il des fluctuations journalières de cette charge virale ?
- Et enfin quelle est l'efficacité du traitement utilisé pour l'élimination des virus ?

La réalisation de ce projet, d'une durée de 1 an, s'appuie sur l'utilisation de la technique de concentration des particules virales sur de la poudre de verre en lit fluidisé (B. Sarrette, C. Danglot, R. Vilaginès). La simplicité de cette méthode, sa capacité à analyser des eaux turbides sans colmater ainsi que son prix de revient modéré l'on fait unanimement adopter par les laboratoires responsables de cette étude. Cependant, avant que d'entreprendre le projet lui-même, une étude préalable sur le terrain s'avérait nécessaire pour définir les conditions optimales de fonctionnement liées à la méthodologie utilisée. Dans cette optique, chacun des laboratoires participant a étudié successivement sur la station d'épuration de son choix, la sensibilité de la méthode à partir d'échantillons de 20 litres (Nancy) et 500 l (Paris), la conservation de l'infectiosité du virus dans de l'eau résiduaire brute et épurée et dans un concentrat.

Les résultats enregistrés au cours de cette "étude préliminaire" constituent le présent rapport.

MATERIEL

1) CELLULES

Nous avons utilisé les cellules BGM cultivées en monocouche dans des boîtes de 75 cm² en matière plastique (Corning) renfermant 20 ml de milieu MEM de Eagle (EUROBIO) ajusté à une concentration finale de 7 % en sérum foetal de veau (EUROBIO).

2) VIRUS

Nous avons utilisé le virus Poliomyélitique type I LSc 2ab souche SABIN entretenu par passages successifs sur cellules BGM en monocouche. Les stocks sont préparés par 3 congélations - décongélations successives de $2,5 \cdot 10^7$ cellules infectées 24 h auparavant à raison de 10^{-3} U.F.P. (Unité. Formant. Plage) par cellule. Après élimination des débris cellulaires par centrifugation (2000 g ; 30 mn ; 4°C) le surnageant d'un titre moyen de $3 \cdot 10^8$ U.F.P./ml est réparti en ampoules de 1 ml et conservé à - 70°C.

3) SUSPENSIONS VIRALES

Les suspensions virales ont été effectuées par addition de 1 ml d'une dilution de virus stock dans du milieu de culture, à 1 l, 20 l ou 500 l d'eau résiduaire, ou d'eau résiduaire, épurée suivant la série d'expériences. Dans tous les cas le titre de l'inoculum a été déterminé directement, avec ou sans dilution, (en fonction de son titre), par la méthode des plages.

4) ECHANTILLONS D'EAU RESIDUAIRE

Les analyses ont été effectuées à partir de prélèvements homogènes de 1 l, 20 l, ou 500 l d'eau résiduaire effectués soit à l'entrée soit à la sortie de la station d'épuration de Colombes. (Région Parisienne).

CONCLUSIONS - PERSPECTIVES

Il nous est nécessaire ici de formuler plusieurs remarques d'ordre général destinées à nuancer et concrétiser l'interprétation statistique des résultats.

- L'abattement moyen du nombre de virus détectés après traitement de 52 %. est voisin de ceux que l'on peut trouver dans la littérature internationale pour le même type de traitement.

- La précision de la méthode de recherche des virus utilisée pour cette étude qui varie de $\pm 10\%$ à 30% permet d'affirmer, compte-tenu des écarts enregistrés (1 \longrightarrow 4 pour l'eau brute et 1 \longrightarrow 10 pour l'eau épurée) que les pics de pollution virales observés correspondent à des fluctuations effectives des quantités de virus transitant dans la station. Mais les coefficients de variation annuelle traduisent un caractère aléatoire dans l'apparition de ces pics. Ne pouvant apporter d'explication fondée à ce phénomène nous pouvons souligner cependant le fait que les eaux usées distribuées à la station de Colombes sont un mélange d'eaux brutes d'origines diverses collectées à l'usine de Clichy. Dans ces conditions et en se limitant volontairement au stade de l'hypothèse, on peut estimer que la dispersion géographique des populations "locales" mises en cause constituent éventuellement un paramètre non négligeable du caractère aléatoire dans l'apparition des pics de pollution virale.

- Dans nos conditions d'expériences et compte-tenu de l'ensemble de l'étude, les différents types de prélèvements effectués sont équivalents. Ce qui signifie que sur 15 H. les 6 prélèvements ponctuels ou les deux prélèvements séquentiels de 3 H. ou le prélèvement séquentiel de 15 H. donnent la même représentativité de la quantité de virus transitant à travers la station d'épuration.

Mais si l'on se réfère au tableau V on constate que la moyenne des écarts des échantillons séquentiels 3 H. est, dans le cas des eaux usées brutes et traitées, la plus faible par rapport à la moyenne totale des UFP détectées dans 19 litres (349/Eaux brutes 182/Eaux épurées). En conséquence et dans notre cas de figure, il semble préférable d'utiliser le type de prélèvement séquentiel 3 H. pour mesurer l'abattement en virus par la station en tenant compte bien entendu du temps de rétention de la station entre le prélèvement à l'entrée et à la sortie.

En conclusion et pour la station d'épuration considérée il ressort que :

- l'abattement en virus est de 52 % sur l'ensemble de l'année.
- les prélèvements séquentiels de 3 H. sont les mieux adaptés pour déterminer l'abattement en virus.
- la variabilité journalière et mensuelle est trop importante pour que l'on puisse appréhender les causes des fluctuations du nombre de particules virales transitant à travers la station. Seule une étude complémentaire permettrait de préciser la nature des facteurs de fluctuation.