



ENSP
ÉCOLE NATIONALE DE
LA SANTÉ PUBLIQUE

RENNES

Ingénieur du Génie Sanitaire

Promotion 2004

Rejet de Norovirus : Bilan des Connaissances et appréciation de son impact sur la zone côtière

Marie FIORI
Ingénieur Agronome de l'ENSAR

Référent professionnel : **Monique POMMEPUY,**
Ifremer de Brest

Référent pédagogique : **Jean LESNE**

Remerciements

Ces 4 mois de stage ont été riches d'enseignement et de rencontres. Aussi, je tiens à remercier vivement les personnes qui m'ont été précieuses dans la réalisation de ce travail. Un grand merci d'abord à Monique Pommepuy, Responsable du Laboratoire de Microbiologie de l'Ifremer, pour m'avoir accueillie au sein de sa structure en me proposant un sujet passionnant. J'ai eu ainsi la possibilité de découvrir différentes approches et outils d'analyse du milieu littoral.

Je suis également reconnaissante à Jean-Claude Le Saux pour sa disponibilité et sa capacité à prendre du recul qui m'a été utile. Je remercie toute l'équipe du laboratoire pour son accueil chaleureux.

Mes remerciements s'adressent aussi à Soizig Le Guyader qui a apporté à la rédaction de ce travail toute la richesse de sa connaissance et de son expérience.

Franck Dumas et Philippe Riou ont contribué à ce travail par leurs compétences techniques. Je les en remercie.

Merci à Jean Lesne pour son regard extérieur.

Enfin, un grand merci à Martin, Cécile, François, Benoît et Laure pour leur amitié.

Sommaire

Introduction.....	1
1 LES NOROVIRUS, AGENTS DU PLUS GRAND NOMBRE DE GASTRO-ENTERITES NON-BACTERIENNES	2
1.1 Présentation des norovirus (NoV).....	2
1.1.1 Aspects historiques de la découverte des norovirus	2
1.1.2 Classification.....	2
1.1.3 Eléments descriptifs des NoV	2
1.1.4 Réservoirs.....	3
1.1.5 Observations sur les propriétés physico-chimiques	3
1.2 Les méthodes de détection des NoV	3
1.2.1 Détection des virus par microscopie électronique	3
1.2.2 Détection des constituants anti-géniques du virus	3
1.2.3 Détection de génomes viraux (technique moléculaire)	3
1.2.4 Conclusions sur ces techniques.....	4
1.3 Pathologies associées aux NoV et caractéristiques liées aux infections.....	4
1.3.1 Dose infectieuse.....	4
1.3.2 Symptologie	4
1.3.3 Physiopathologie et émission.....	5
1.3.4 Distribution dans la population.....	5
1.3.5 Immunité	5
1.3.6 Saisonnalité	5
1.4 Voies de transmission	6
1.4.1 De personne à personne.....	6
1.4.2 Par l'eau de boisson.....	6
1.4.3 Par les aliments	6
1.5 Conclusions	7
2 TRANSFERTS DES VIRUS ENTERIQUES DANS LE BASSIN VERSANT.....	8
2.1 Les sources d'apport de virus.....	8
2.1.1 Les apports des stations d'épuration (STEP)	8
2.1.1.1 Les concentrations en virus entériques dans les eaux brutes	8
2.1.1.2 Les concentrations en virus entériques dans les eaux traitées	9
2.1.1.3 Rendement épuratoire	9

a)	Données de la littérature sur l'efficacité épuratoire des traitements	9
b)	Observations sur les données d'abattement	10
2.1.2	Les boues de station d'épuration.....	10
2.1.3	Le réseau d'assainissement	11
2.1.4	Les fosses septiques	11
2.1.5	Les apports des cours d'eau.....	11
2.1.6	Apports ponctuels de virus sur la zone littorale.....	11
2.1.6.1	Apports par les baigneurs	11
2.1.6.2	Apports par les bateaux de plaisance.....	12
2.2	Survie des virus entériques humains en rivière	12
2.2.1	Les conditions expérimentales	12
2.2.2	Appréciation de la survie avec la notion de T_{90}	12
2.2.3	Effet majeur de la lumière	13
2.2.4	Effet de la température	13
2.2.5	Effet de la présence de particules	14
2.2.6	Effet de la prédation	14
2.3	Conclusion.....	14
3	DEVENIR DES VIRUS ENTERIQUES DANS LES EAUX COTIERES	15
3.1	Les paramètres influençant la survie virale dans les eaux marines.....	15
3.1.1	Effet de la lumière	15
3.1.2	Effet de la température	15
3.1.3	Effet de la présence de sédiments	16
3.1.4	Effet de la présence de microorganismes.....	17
3.1.5	Effet d'autres paramètres.....	17
3.1.6	Synthèse sur les valeurs de T_{90} de la littérature	17
3.2	Contamination des coquillages	17
3.2.1	Physiologie des coquillages.....	18
3.2.2	Contamination virale	18
3.2.3	Ratios d'accumulation dans les coquillages	18
3.3	Conclusion.....	19
4	SIMULATIONS DE REJETS DE MICROORGANISMES ENTERIQUES DANS DEUX REGIONS CONCHYLICOLES FRANÇAISES PAR L'UTILISATION D'UN MODELE HYDRODYNAMIQUE	20
4.1	Présentation du modèle hydrodynamique utilisé, le modèle MARS-2D	20
4.2	Simulations de rejets de bactéries <i>E. coli</i> dans le secteur de St-Vaast-La-Hogue.....	22

4.2.1	Simulations du rejet de E. coli dans le modèle ECOT (Est Cotentin)	22
4.2.2	Simulations d'un épisode de crues	23
4.2.3	Résultats des simulations.....	23
4.2.3.1	Impact des rejets des 5 cours d'eau principaux	23
	a) Simulation de rejets continus pendant 11h	23
	b) Simulation de rejets continus pendant 22h	24
4.2.3.2	Impact du rejet du point pluvial halieutique	25
4.2.3.3	Conclusions sur les résultats de ces simulations en conditions exceptionnelles	27
	a) Eléments de comparaison avec une situation normale	27
	b) Effet des courants sur le déplacement des panaches.....	28
4.3	Simulations de rejets de virus entériques dans le Golfe du Morbihan	29
4.3.1	Les conditions prises en compte dans les simulations.....	29
4.3.1.1	Présentation du modèle du Golfe du Morbihan.....	29
4.3.1.2	Simulations d'une situation hivernale et d'une situation estivale	30
	a) Simulation d'une situation hivernale.....	30
	b) Simulation d'une situation estivale	30
4.3.1.3	Le calcul des flux hivernaux.....	30
	a) Les débits en sortie de stations	30
	b) Les concentrations en microorganismes.....	30
	c) Les flux calculés en situation hivernale	31
4.3.1.4	Le calcul des flux estivaux	31
	a) Les débits en sortie de stations	31
	b) Les concentrations en microorganismes.....	32
	c) Les flux calculés en situation estivale	32
4.3.1.5	Les valeurs de T_{90} intégrées au modèle.....	32
4.3.1.6	Durée des rejets.....	33
4.3.2	Résultats des simulations de rejets de virus entériques	33
4.3.2.1	Allure des courbes de simulation.....	33
	Résultats de la simulation hivernale pour les NoV	34
	a) La phase de croissance.....	34
	b) Les concentrations en NoV à l'équilibre	35
	c) La phase de décroissance.....	35
4.3.2.3	Discussion autour des résultats de la simulation de rejets de NoV en période hivernale	35
	a) Effet d'une variation des flux	35
	c) Possibilités d'accumulation des virus dans les coquillages	36
4.3.2.4	Contexte par rapport à un rejet en indicateur fécal et en phages ARN-F	36

a) Concentrations en E. coli dans les coquillages	37
b) Concentration en phages ARN-F dans les coquillages.....	37
4.3.2.5 Résultats de la simulation estivale pour les entérovirus.....	38
a) Allure des courbes de concentrations en entérovirus	38
b) Les concentrations à l'équilibre.....	38
4.3.2.6 Discussion autour des résultats de la simulation de rejets d'entérovirus en période estivale	39
a) Possibilité d'accumulation des entérovirus dans les coquillages	39
b) Comparaison des techniques RT-PCR et culture cellulaire	39
4.4 Conclusions.....	40
Conclusion Générale.....	41
Bibliographie	43
Annexes	

Liste des tableaux et des figures

Tableau 1. Caractéristiques générales des infections aux NoV.....	4
Tableau 2. Valeurs moyennes <i>in situ</i> de réduction de la charge en microorganismes entériques par types de traitement des stations d'épuration des eaux usées.....	9
Tableau 3. Valeurs de T_{90} (jours) en eau de rivière pour des microorganismes pathogènes.....	13
Tableau 4. Valeurs minimales et maximales de T_{90} en conditions de lumière, d'obscurité et de turbidité pour les <i>E. coli</i> , les phages ARN-F et les virus entériques.....	17
Tableau 5. Flux calculés pour les principaux points de rejet du secteur de St-Vaast-La-Hougue pour l'épisode de crue de la mi-janvier 2004.	23
Tableau 6. Débits moyen et maximum des rejets des 5 cours d'eau principaux.	27
Tableau 7. Flux de microorganismes entériques émis par les 3 stations d'épuration dans le cas d'une situation hivernale.	31
Tableau 8. Flux de microorganismes entériques émis par les 3 stations d'épuration dans le cas d'une situation estivale.	32
Tableau 9. Valeurs de T_{90} retenues pour les simulations de rejets de virus entériques, de phages ARN-F et de <i>E. coli</i> , en situation estivale et hivernale.	33
Tableau 10. Concentrations minimales et maximales en NoV à l'équilibre, aux points de suivi.....	35
Tableau 11. Concentrations en NoV obtenues dans les coquillages des sites de Rosvellec, Roguédas, Creizic et Lern, par application d'un ratio eau/coquillages.	36
Tableau 12. Concentrations minimales et maximales en <i>E. coli</i> et en phages ARN-F à l'équilibre, aux points de suivi, en situation hivernale.	36
Tableau 13. Concentrations minimales et maximales en <i>E. coli</i> dans les coquillages aux points de suivi, en situation hivernale.	37
Tableau 14. Concentrations minimales et maximales en phages ARN-F dans les coquillages aux points de suivi, en situation hivernale.	37
Tableau 15. Concentrations minimales et maximales en entérovirus aux points de suivi, en situation estivale.	39
Tableau 16. Concentrations minimales et maximales en entérovirus dans les coquillages, en situation estivale.	39
Tableau 17. Flux d'entérovirus infectieux émis dans le cas d'une situation estivale.	40
Tableau 18. Concentrations en entérovirus infectieux dans les coquillages dans le cas d'une situation estivale.....	40
Figure 1. Image de NoV en microscopie électronique à transmission.....	2
Figure 2. Structure tridimensionnelle d'une particule recombinante de NoV.....	2
Figure 3. Les voies de transmission des Calicivirus humains.....	6
Figure 4. Les voies possibles de transfert des virus entériques dans l'environnement jusqu'au milieu littoral.	8
Figure 5. Variations des valeurs de T_{90} (jours) pour les virus entériques et les phages ARN-F en fonction de la température de l'eau de surface.	13
Figure 6. Le secteur d'étude de St-Vaast, les points de suivis et les concessions ostréicoles.....	22
Figure 7. Panaches de dispersion au bout de 8h de rejets des 5 cours d'eau en situation de crue.....	24
Figure 8. Panaches de dispersion au bout de 22h de rejets des 5 cours d'eau en situation de crue.....	25
Figure 9. Panaches de dispersion au bout de 12h de rejets du pluvial halieutique en situation de crue.....	26

Figure 10. Panache de dispersion du rejet pluvial halieutique au bout de 22h de rejet.....	27
Figure 11. Simulations des trajectoires de particules conservatives rejetées ponctuellement en plusieurs points du secteur d'étude	28
Figure 12. Localisation du secteur d'étude, des points de rejets des stations d'épuration et des points de suivis dans les coquillages.....	29
Figure 13. Allure des simulations de rejets de microorganismes entériques à un point d'observation du secteur d'étude.....	33
Figure 14. Résultats de la simulation de rejets de NoV en situation hivernale, aux points de suivis.....	34
Figure 15. Résultats de la simulation de rejets d'entérovirus, en situation estivale, aux points de suivis.....	38

Liste des sigles utilisés

AESN : Agence de l'Eau Seine-Normandie
Agreste : Statistique agricole
ARN : Acide ribonucléique
CG 14 : Conseil Général du Calvados
CG 50 : Conseil Général de la Manche
CPER : Contrat de Plan Etat-Région
DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales
E. coli : *Escherichia coli*
ELISA : Enzyme linked immuno sorbent assay
EM : Electronic microscopy
Eq. Hab. : Equivalent-habitant
Ifremer : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer
INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale
InVS : Institut national de veille sanitaire
LERN : Laboratoire d'environnement et de ressource de Normandie
MES : Matières en suspension
NV : Noroviruses
NoV : Norovirus
NTU : Nephelometric Turbidity Unit
pH : Potentiel hydrogène
REMI : Réseau microbiologique
RIA : Radio immuno assay
RT-PCR : Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction
STEP : Station d'épuration
TIAC : Toxi-infection alimentaire collective
UFC : Unité formant colonie
UFP : Unité formant plaque
U.V. : Ultra-violets
V.H.A. : Virus de l'hépatite A

Introduction

Avec plus de 140 000 tonnes d'huîtres produites par an, l'ostréiculture française représente la quasi-totalité de la production ostréicole européenne (données Agreste, France). Le secteur de la conchyliculture est non négligeable dans l'économie nationale puisqu'il emploie plus de 20 000 personnes. Les huîtres produites sur nos côtes sont principalement destinées au marché national mais une part est également exportée en Europe. Aussi, nous pouvons considérer que l'ensemble des consommateurs européens est potentiellement concerné par la qualité de ce produit. La sécurité sanitaire des coquillages représente un enjeu majeur pour ce secteur économique.

En Europe, les zones conchylicoles sont classées selon la Directive 91/492/CEE, régissant la production et la mise sur le marché des mollusques bivalves vivants. La réglementation est basée sur l'indicateur de contamination fécale *Escherichia coli* (*E. coli*) (Annexe 1). Cependant, la validité de cet indicateur est remise en cause, car des coquillages respectant les critères microbiologiques sont parfois impliqués dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIACs), notamment d'origine virale (Zidane M. & Pommepuy M., Rapport interne Ifremer, 2003). Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, le rôle des virus entériques, et notamment des norovirus (NoV), dans des TIACs liées aux coquillages a été mis en évidence. En France, 20% des TIACs coquillières virales pour lesquelles l'agent est confirmé ou suspecté seraient causées par les NoV.

Par ailleurs, des études récentes ont mis en évidence dans la population le rôle des norovirus dans les infections hivernales caractérisées par des pics de gastro-entérites situés généralement entre les mois de janvier et mars (Mounts A.W. *et al.*, 2000 ; Chikhi-Brachet R. *et al.*, 2002). Pendant ces périodes, des quantités importantes de virus sont excrétées et dispersées dans l'environnement via les rivières et les rejets de stations d'épuration.

Dans ce contexte, il nous est apparu intéressant de faire le point sur les connaissances actuelles portant sur les norovirus, et ce aussi bien chez l'homme que dans l'environnement.

A partir de ce travail bibliographique, des simulations de l'impact de rejets de virus ont été réalisées sur deux zones d'élevage conchylicole grâce à des modèles de circulation et de dispersion des masses d'eau créés à l'Ifremer.

1 LES NOROVIRUS, AGENTS DU PLUS GRAND NOMBRE DE GASTRO-ENTERITES NON-BACTERIENNES

1.1 Présentation des norovirus (NoV)

1.1.1 Aspects historiques de la découverte des norovirus

Tout commence en 1968 : une épidémie de gastro-entérites touche 50 % des élèves et professeurs d'une école élémentaire de la petite ville de Norwalk (Ohio, Etats-Unis). Aucun agent bactériologique n'est identifié dans les selles récoltées. Des études successives sur volontaires humains permirent de déterminer certaines caractéristiques de l'agent infectieux, par exemple que sa taille est inférieure à 50 nm, mais pas de l'identifier. En 1972, des particules virales de 27 nm sont finalement observées par immuno-microscopie électronique (Kapikian A.Z., 2000). L'agent infectieux de l'épidémie de Norwalk est découvert, il est appelé virus de Norwalk.

Par la suite, d'autres virus impliqués dans des épidémies de gastro-entérites furent découverts. On leur attribua à chaque fois le nom du lieu de l'épidémie (par exemple Southampton, Hawaï) (Loisy F. *et al.*, 2004A).

1.1.2 Classification

Les études d'épidémiologie moléculaire ont permis de classer ces virus dans le genre norovirus (NoV) appartenant à la famille des *Caliciviridae*, car leur morphologie évoque la forme d'un calice (Annexe 2).

Une variabilité génétique existe au sein de la famille et au sein d'un génogroupe (Kholi E. & Pothier P., 2002).

1.1.3 Eléments descriptifs des NoV

Les NoV sont des virus nus, de diamètre compris entre 27 et 40 nm, à capsidie icosaédrique et formée d'une seule protéine (Loisy F. *et al.*, 2004A). Ce sont des virus à ARN monocaténaire, linéaire, et non segmenté. Les figures suivantes présentent la morphologie des NoV.

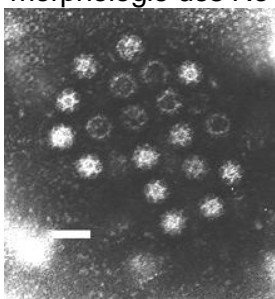


Figure 1. Image de NoV en microscopie électronique à transmission (coloration négative). Barre de 50 nm. (F.P. Williams, U.S. EPA, USA)

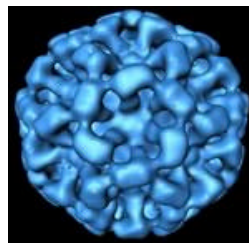


Figure 2. Structure tridimensionnelle d'une particule recombinante de NoV déterminée par cryomicroscopie électronique, diamètre environ 30 nm. (Pr. B.V. Prasad, Baylor College of Medicine, Houston, USA)

1.1.4 Réservoirs

Aujourd'hui, les seuls réservoirs de NoV humains connus sont les hommes. Les techniques moléculaires ont permis de détecter des NoV animaux (porc, bovins) présentant des homologies de séquences avec les NoV humains (Lopman B. *et al.*, 2002B). Une étude a mis en évidence presque 60% d'homologies entre les NoV et des séquences détectées dans les fèces de porcs (Sugieda M. *et al.*, 1998). A ce jour, on ignore si il existe des transmissions de NoV de l'animal à l'homme.

Par ailleurs, les NoV sont, comme les autres virus entériques humains, incapables de se multiplier dans l'environnement, car ils n'y trouvent pas de cellules susceptibles d'assurer leur réplication.

1.1.5 Observations sur les propriétés physico-chimiques

Les NoV sont très résistants. Les premières expériences ont montré qu'ils étaient relativement stables au contact d'acides, d'éther et lorsque soumis à une chaleur modérée (Kapikian A.Z., 2000). Ils sont capables de résister 30 minutes à une température de 60°C, et à des pH entre 5 et 10 (Koopmans M. & Duizer E., 2004). L'utilisation de chlore ou de rayonnements U.V., par exemple dans les traitements pour potabiliser l'eau, ne permet pas toujours une élimination totale de ces virus (Shin G-A. *et al.*, 2003).

1.2 Les méthodes de détection des NoV

1.2.1 Détection des virus par microscopie électronique

La première identification des NoV a été réalisée grâce à la technique d'immunomicroscopie électronique. Des agrégats d'anticorps et de particules virales non enveloppées furent ainsi visualisées. La microscopie électronique (EM) à coloration négative peut également être utilisée. La détection par ces techniques requière une quantité minimale de particules virales (environ 10^6 à 10^7 particules virales /mL de selles d'après Huffman D.E. *et al.*, 2003).

1.2.2 Détection des constituants anti-géniques du virus

Vers la fin des années 70, des essais immunologiques ont commencé à être utilisés pour détecter les NoV. Leur principe repose sur la détection d'antigènes des virus recherchés. Ces méthodes sont relativement simples et rapides à mettre en œuvre. Mais elles manquent de sensibilité et sont surtout utilisées sur échantillons cliniques (Kholi E. & Pothier P., 2002). L'éventail d'antigènes des NoV disponible est encore insuffisant pour permettre la détection de tous les types antigéniques rencontrés. Ceci constitue une limite quant à la spécificité de ces méthodes (Hutson A.M. *et al.*, 2004).

1.2.3 Détection de génomes viraux (technique moléculaire)

Le séquençage du génome des NoV, au début des années 90, a rendu possible sa détection par la recherche de fragments spécifiques du génome. Les techniques d'hybridation des acides nucléiques et de RT-PCR (Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction ; reverse transcription et réaction de polymérisation en chaîne) permettent

de détecter du génome de NoV pour des concentrations minimales comprises entre 10^2 et 10^4 /mL d'échantillon -selles, eaux ou aliments- (Huffman D.E. *et al.*, 2003).

La spécificité de la détection par RT-PCR dépend des amorces utilisées (Kojima S. *et al.*, 2002). En RT-PCR, un signal positif indique la présence d'un segment d'ARN génomique viral (Koopmans M. & Duizer E., 2004). Mais, on ignore si la séquence détectée appartient à un virus infectieux ou non.

La mise au point récente de la technique RT-PCR en temps réel permet de détecter des virus autrefois non-détectables avec une bonne sensibilité (Loisy F. *et al.*, 2004A). En utilisant cette méthode, des concentration variant de $1,4 \cdot 10^2$ à $7,5 \cdot 10^3$ copies de génome par huître ont été détectées au Japon (Nishida T. *et al.* 2003).

1.2.4 Conclusions sur ces techniques

A ce jour, aucune lignée cellulaire n'a permis la réplication des NoV (Kholi E. & Pothier P., 2002). La mise au point de la technique RT-PCR a montré la grande diversité génomique des NoV et le rôle majeur de ces virus comme agents de gastro-entérites. Si l'on peut désormais quantifier des particules de NoV dans les échantillons cliniques et de l'environnement, la part de virus infectieux reste inconnue.

1.3 Pathologies associées aux NoV et caractéristiques liées aux infections

1.3.1 Dose infectieuse

Moins de 10 particules virales de NoV seraient suffisantes pour infecter un adulte en bonne santé (Hutson A.M. *et al.*, 2004).

1.3.2 Symptologie

Les caractéristiques cliniques des infections aux NoV sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques générales des infections aux NoV (Kapikian A.Z., 2000 ; Butt A.A. *et al.*, 2004).

Période d'incubation	Durée des symptômes	Symptômes	Symptômes supplémentaires	Guérison
12 à 48 heures	12 à 60 heures	Nausées, vomissements, crampes abdominales, et diarrhées	Céphalées, fièvres, refroidissements, myalgies	Affection spontanément résolutive

Les pathologies associées à ces virus sont généralement de courte durée et de gravité limitée. Les cas sévères de déshydratation se manifestent majoritairement chez les enfants et les personnes âgées, et en particulier dans les pays en voie de développement (Hutson A.M. *et al.*, 2004).

Les situations de fort stress ou d'immuno-dépression pourraient contribuer au développement de pathologies graves.

Les infections aux NoV se distinguent de celles causées par des pathogènes bactériens (*Salmonella*, *Shigella*) du fait du caractère typique des projections des vomissements (Huffman D.E. *et al.*, 2003).

1.3.3 Physiopathologie et émission

La physiopathologie de ces virus est connue grâce à des essais sur volontaires. Ces études ont montré que la réplication des NoV est intra-cytoplasmique au niveau de l'intestin grêle (Nanji S.S., 2004).

Chez la personne infectée, l'excrétion virale varie de 15 heures à 3 semaines (Huffman D.E. *et al.*, 2003 ; Koopmans M. *et al.*, 2003) (Annexe 3). Dans les selles de malades, ont été détectées 10^7 à 10^{10} particules de génome de NoV par gramme (Atmar R.L. *et al.*, 1995 ; Kageyama T. *et al.*, 2003). (Annexe 3).

Des cas d'excrétion de NoV chez des individus asymptomatiques ont plusieurs fois été rapportés, et ce pour des périodes pouvant aller jusqu'à deux semaines (Glass R.I. *et al.*, 2000). Ce portage serait, pour certains, relativement faible. Ainsi, Marshall J.A. *et al.* (2004) ont recherché sans succès par RT-PCR des particules de génome de NoV dans les selles de 399 individus asymptomatiques.

Le virus peut également être émis via les vomissements. D'après Nanji S.S. (2004), environ $3 \cdot 10^7$ particules virales seraient alors libérées.

1.3.4 Distribution dans la population

La forte prévalence des gastro-entérites aux NoV est rapportée dans de nombreux pays. Aux Etats-Unis, les NoV causeraient 96 % des gastro-entérites non-bactériennes (Huffman D.E. *et al.*, 2003). De plus, une étude européenne estime que la séroprévalence aux NoV, tout âge confondu, serait d'au moins 70 % (Lopman B. *et al.*, 2002A).

Des infections aux NoV ont été rapportées sans réelle distinction d'âge, ni de lieu (Hutson A.M. *et al.*, 2004).

1.3.5 Immunité

Il n'existe à ce jour aucun vaccin. Des études sur volontaires ont montré qu'une infection aux NoV peut conférer une immunité à court terme selon les souches et les personnes (de 6 à 14 semaines). Une immunité à long terme n'a pas été mise en évidence (Loisy F. *et al.*, 2004A).

1.3.6 Saisonnalité

Les infections aux NoV ont généralement lieu en hiver et au début du printemps (Annexe 4). Des pics infectieux sont souvent observés entre janvier et mars (Hedlund K.O. *et al.*, 2000 ; Lopman B.A. *et al.*, 2003). Cependant, des cas de gastro-entérites aux NoV apparaissent parfois observés en été (CDC, 2001).

1.4 Voies de transmission

Les virus entériques se transmettent par voie fécale-orale et principalement par contact entre personnes. Des transferts par des vecteurs tels que l'eau ou les aliments sont possibles (Figure 3).

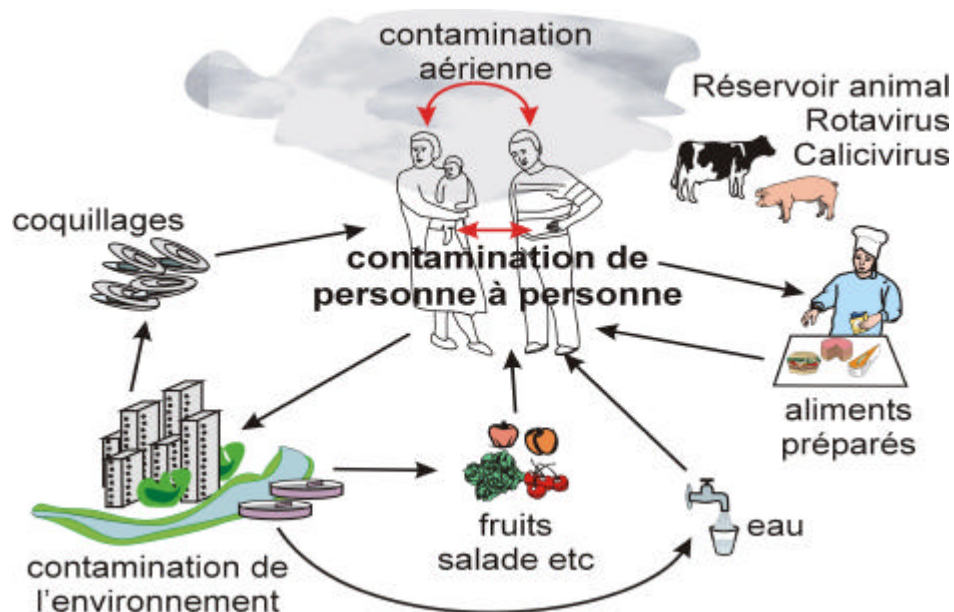


Figure 3. Les voies de transmission des Calicivirus humains (P. Pothier, CHU Dijon).

1.4.1 De personne à personne

L'individu porteur présente des symptômes, ou en a présenté, ou encore est asymptomatique. Un simple contact entre une main contaminée et la bouche suffit pour une contamination. La transmission de NoV via les aérosols émis par un malade vomissant a été plusieurs fois observée (Marks P.J. *et al.*, 2003).

1.4.2 Par l'eau de boisson

Des infections aux NoV peuvent être transmises par l'eau potable (Kukkula M. *et al.*, 1999), provenant de nappes d'eau souterraines ou de cours d'eau contaminés et utilisés pour la potabilisation. Des NoV ont été détectés dans ces deux milieux (Borchardt M.A. *et al.*, 2003 ; Kukkula M. *et al.*, 1997).

1.4.3 Par les aliments

Les aliments sont souvent mis en cause lors d'épidémies aux NoV. Leur contamination peut se faire par différentes voies au cours de leur production ou de leur préparation (Daniels N.A. *et al.*, 2000). Ce sont surtout des aliments consommés crus ou peu cuits (Lopman B.A. *et al.*, 2002A). Parmi les aliments rapportés, on peut citer des framboises (Le Guyader S. *et al.*, 2004), des sandwiches (Daniels N.A. *et al.*, 2000), des coquillages (Godoy P. *et al.*, 2000 ; Kingsley D.H. *et al.*, 2001 ; Le Guyader S. *et al.*, 2003).

Pour les coquillages, les relations dose-réponse observées dans des cas de TIAC impliquant des huîtres sont présentées à l'Annexe 5. Les taux d'attaque sont supérieurs à 40% chez les individus ayant consommé une à cinq huîtres, et passent à environ 70 % chez les personnes qui en ont consommées plus (Kohn M.A. *et al.*, 1995 ; Dowell S.F. *et al.*, 1995).

Des études épidémiologiques montrent que des transmissions de NoV par les aliments peuvent se produire à des échelles variables d'espace et de temps. Ainsi, une épidémie de gastro-entérites s'est propagée dans plusieurs pays européens et jusqu'au Canada via des framboises congelées provenant de Slovénie (Lopman B.A. *et al.*, 2002B). En Australie, un même lot d'huîtres a provoqué des gastro-entérites à 6 mois d'intervalle suite à la congélation d'une partie du lot et à sa consommation ultérieure (Dowell S.F. *et al.*, 1995).

1.5 Conclusions

Les techniques de biologie moléculaire ont permis de mettre en évidence le rôle des NoV comme principal agent de gastro-entérites non-bactériennes à travers le monde. Excrétés en grande quantité par les malades, les NoV vont être libérés dans l'environnement.

2 TRANSFERTS DES VIRUS ENTERIQUES DANS LE BASSIN VERSANT

Peu de données existent sur les NoV dans l'environnement. Aussi, pour compléter l'information sur la dispersion des virus entériques, ont été rassemblés des éléments sur d'autres virus entériques. De plus, des références sont ajoutées concernant l'indicateur de contamination fécale *E. coli*¹, ainsi que sur le phage ARN-F proposé comme indicateur viral (IAWPRC study Group on Health Related Water Microbiology, 1991 ; Lees D., 2000).

2.1 Les sources d'apport de virus

Les principales sources d'apport de virus entériques dans les eaux côtières sont les cours d'eau et les rejets directs des stations d'épuration d'eaux usées.

La Figure 4 résume les voies majeures de circulation des virus entériques jusqu'à la zone côtière.

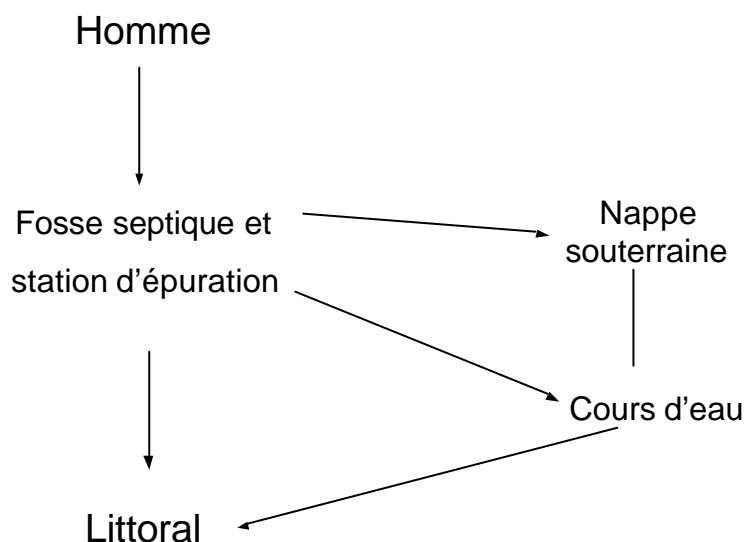


Figure 4. Les principales voies de transfert des virus entériques dans l'environnement au littoral.

2.1.1 Les apports des stations d'épuration (STEP)

2.1.1.1 Les concentrations en virus entériques dans les eaux brutes

Dans les eaux d'entrée de STEP, des concentrations très variables en virus entériques sont détectées (Annexe 6). Pour les NoV, les deux études disponibles donnent des concentrations maximales dans les eaux brutes de 10^6 et de $1,8 \cdot 10^6$ séquences de génome par 100 mL (Lodder W.J. *et al.*, 1999 ; Laverick M.A. *et al.*, 2004).

¹ *E. coli* est l'indicateur de contamination fécale utilisée actuellement mais les données les plus anciennes s'appuient généralement sur les coliformes fécaux. Dans ce travail, nous emploierons abusivement l'appellation *E. coli* dans ce dernier cas.

Concernant les entérovirus et les astrovirus, des concentrations moyennes respectivement de l'ordre de 10^6 et de 10^7 particules de génome par 100 mL d'eaux brutes ont été observées (Le Cann P. *et al.*, 2004 ; Schoever E. *et al.*, 2001).

Par ailleurs, pour les entérovirus et les rotavirus, les concentrations en virus infectieux obtenues par culture cellulaire atteignent les valeurs respectives de 10^2 et 10^3 par 100 mL d'eaux brutes (Tree J.A. *et al.*, 2003 ; Gerba C.P. *et al.*, 1996).

2.1.1.2 Les concentrations en virus entériques dans les eaux traitées

La seule information disponible sur les quantités de NoV présentes dans les eaux traitées est récente (Laverick M.A. *et al.*, 2004). Elle montre que l'application d'un traitement secondaire entraîne des diminutions variables des teneurs en NoV dans les eaux traitées. La concentration maximale relevée est de $1,7 \cdot 10^4$ séquences de génome de NoV par 100 mL.

Pour les autres virus entériques, peu d'études existent (Annexe 7). Par ailleurs, il n'est pas évident de comparer les résultats publiés, car les types de traitement des stations d'épuration diffèrent d'une étude à l'autre. Ainsi, dans les eaux traitées d'une station d'épuration de Bordeaux, Schoever E. *et al.* (2001) ont détecté environ $5,5 \cdot 10^6$ particules de génome d'entérovirus par 100 mL, et ce après traitement tertiaire ; cela représente un abattement d'environ une unité Log_{10} . Pour une station d'épuration à Nantes fonctionnant par traitement secondaire, les concentrations en astrovirus mesurées dans les eaux traitées sont comprises entre 10^2 et 10^4 particules de génome par 100 mL (Le Cann P. *et al.*, 2004).

Si l'on considère les données obtenues par culture cellulaire, les concentrations maximales en virus infectieux des eaux traitées après traitement secondaire sont de 1 par 100 mL pour les entérovirus (Gantzer C. *et al.*, 1998B), et de $3,2 \cdot 10^2$ /100 mL pour les rotavirus (Rao V.C. *et al.*, 1988).

2.1.1.3 Rendement épuratoire

a) Données de la littérature sur l'efficacité épuratoire des traitements

Des rendements épuratoires mesurés en STEP sont présentés dans le Tableau 2.

Tableau 2. Valeurs moyennes *in situ* de la réduction en microorganismes entériques par types de traitement des stations d'épuration des eaux usées.

(unités Log_{10})		Primaire	Secondaire	Tertiaire : UV	Tertiaire	Lagunage
<i>E. coli</i>		< 1 ^a	1 à 2 ^b	2,5 ^c	2 ^d	0,5 à 4 ^e
Entérocoques et Streptocoques		< 1 ^a	ND	2,8 ^c	2 ^d	0 à 3 ^e
Phages à ARN		ND	1 à 3 ^b	1,6 ^c	2 à 3 ^d	0 à 3 ^e
Virus entériques	Culture cellulaire	ND	ND	1 ^f – 2 ⁱ	UF : totale ⁱ ; MF: 0 à 3 ⁱ ; Chlore : 1 ^j	ND
	RT-PCR	ND	1 à 3 ^h	1 ^g	ND	ND

ND : Non déterminé ; UF : ultrafiltration ; MF : microfiltration ; Chlore : 30 min dans une solution à 16 mg/L de chlore.

(^a Payment P. *et al.*, 2001 ; ^b Le Comte A., 2000 ; ^c Jacangelo J.G. *et al.*, 2003 ; ^d Skraber S. *et al.*, 2002 ; ^e Barrett E.C. *et al.*, 2001 ; ^f Rose J.B. *et al.*, 1996 ; ^g Schvoerer E. *et al.*, 2001 ; ^h Laverick M.A. *et al.*, 2004 ; ⁱ Lazarova V. *et al.*, 1999 ; ^j Tree J.A. *et al.*, 2003).

Les valeurs d'abattement en particules de génome de NoV obtenus par traitement secondaire montrent une efficacité épuratoire aléatoire variant de 1 à 3 unités Log₁₀ (Laverick M.A. *et al.*, 2004).

Pour les entérovirus, l'ajout d'un traitement tertiaire de type U.V. ne montre pas de réduction importante du nombre de séquences de génome entre les eaux brutes et les eaux traitées : une unité Log₁₀ (Schoever E. *et al.*, 2001).

Les abattements observés sur virus infectieux par les différents types de traitements tertiaires sont également très variables (Rose J.B. *et al.*, 1996 ; Lazarova V. *et al.*, 1999 ; Tree J.A. *et al.*, 2003).

Aucune donnée d'abattement en virus après traitement primaire ou lagunage n'a été signalée. Davantage d'informations existent sur les performances des traitements épuratoires en bactéries et phages. Les valeurs trouvées montrent qu'il existe également de grandes variations d'un traitement à l'autre ou pour un même traitement. Ceci est particulièrement le cas pour le traitement par lagunage, dont l'efficacité est fortement influencée par les conditions climatiques. La période estivale favorise le développement des organismes épurateurs qui permettent une décroissance des bactéries et des phages.

b) Observations sur les données d'abattement

Les valeurs d'abattement rassemblées dans la littérature donnent des ordres de grandeur des capacités épuratoires *in situ*. D'autres éléments pouvant modifier les performances des stations d'épuration sont également à prendre en considération, comme l'âge du système, le temps de séjour des eaux dans la station. En effet, les quantités et la qualité des eaux d'entrée peuvent varier d'un jour à l'autre et au cours de la journée. Ainsi, dans des eaux épurées par traitement secondaire, des différences d'abattement en phages ARN-F de l'ordre de une unité Log₁₀ ont été mesurées au cours d'une même journée (Le Comte A., 2000).

2.1.2 Les boues de station d'épuration

L'éventuel épandage des boues de station d'épuration en bordure littorale peut être une source de contamination virale des eaux côtières.

L'abattement obtenu en station résulte en partie de l'adsorption des microorganismes sur des particules (flocs, etc.) qui décantent dans les boues et ainsi peut-on parler d'un transfert de pollution des eaux brutes vers les boues.

Des traitements d'hygiénisation peuvent être appliqués sur les boues de STEP. Une diminution du nombre de virus est observée entre les boues primaires et celles pour lesquelles des traitements ont été appliqués (par exemple, déshydratation) (Monpoeho S. *et al.*, 2001). L'inactivation de plusieurs pathogènes présents dans des boues d'épuration a été étudiée pendant 7 mois (Nelson K.L. *et al.*, 2004). Les coliphages pris comme modèle viral montrent une inactivation relativement lente (de l'ordre de 0,01 à 0,001 jour⁻¹).

2.1.3 Le réseau d'assainissement

Une contamination microbiologique des eaux littorales peut également résulter de défaillances techniques du réseau (ex : rupture de canalisation, obstruction du réseau) et/ou de débordements lors notamment de forts épisodes pluvieux (ex : pannes de poste de relèvement ou de refoulement). Aussi, une attention particulière doit être portée à ces installations en hiver, période où se conjuguent les pics d'épidémie de gastro-entérites à NoV et les fortes pluies.

2.1.4 Les fosses septiques

Ce type d'assainissement, souvent associé à un habitat dispersé, peut être particulièrement présent en zone littorale (Derolez V., 2003). Peu d'études se sont penchées sur l'efficacité de ces installations. Des abattements de 1 à 2 unités \log_{10} des concentrations en phages ont été observés (Nicosia L.A. *et al.*, 2001).

Il est difficile de comparer l'assainissement collectif et l'assainissement autonome car les ordres de grandeur des charges virales en entrée sont très éloignés. Les rejets de fosses septiques pourront subir une épuration supplémentaire dans le sol. Cependant, ce type d'assainissement constitue la cause la plus fréquemment rapportée aux Etats-Unis de contamination des nappes d'eau souterraines (Nicosia L.A. *et al.*, 2001). Pour le littoral, les risques de transfert par ces structures de traitement sont particulièrement à prendre en considération en fonction de leur distance au littoral et de la pédologie de la zone.

2.1.5 Les apports des cours d'eau

Les NoV étant a priori uniquement portés par l'homme, leur présence dans les cours d'eau provient essentiellement des rejets de stations d'épuration.

Peu de données existent sur les concentrations en virus entériques humains dans les eaux de rivière (Annexe 8). Pour les NoV, une concentration de l'ordre de $6,4 \cdot 10^3$ séquences de génome par 100 mL a été mesurée dans un cours d'eau, en aval du rejet d'une station d'épuration (Laverick M.A. *et al.*, 2004).

Les valeurs détectées par culture cellulaire sont comprises entre 10^{-3} et $3,0 \cdot 10^1$ unités infectieuses pour les entérovirus et les rotavirus respectivement. Il est intéressant de noter les différences de concentrations obtenues entre les techniques moléculaires et la technique de culture cellulaire.

Des variations saisonnières de la présence des NoV dans les cours d'eau sont également observées. Dans la rivière Moselle (France), du génome de NoV a été mis en évidence principalement en hiver, et lorsque les températures de l'eau étaient inférieures à 7°C (Skraber S. *et al.*, 2004). Dans une étude réalisée sur des lacs et rivières de Finlande, la présence des NoV n'a pas permis de mettre en évidence une saisonnalité dans les eaux de surface (Hörman A.L. *et al.*, 2004).

2.1.6 Apports ponctuels de virus sur la zone littorale

2.1.6.1 Apports par les baigneurs

Durant la baignade (en mer, rivière, etc.), des virus entériques peuvent être rejetés par les baigneurs : rejet direct ou par contact eau-peau contaminée. On estime que 10 à 35 % de la population des baigneurs excrètent des pathogènes, surtout durant les 15 à 30 premières minutes de contact (Gerba C.P., 2000). Cet auteur a calculé qu'une personne infectée rejette en moyenne $1,4 \cdot 10^7$ virus entériques par baignade.

2.1.6.2 Apports par les bateaux de plaisance

Ces apports sont négligeables comparativement à ceux des STEP. Cependant, dans les ports de plaisance, l'impact d'une telle contamination fécale peut être important. Dans une étude, il a été observé que les niveaux de concentration en *E. coli* des eaux littorales étaient corrélés avec le nombre de bateaux de plaisance et d'occupants (Sobsey M.D. *et al.*, 2003). Ces bateaux peuvent constituer une source d'apport de virus dans les eaux côtières. Dowell *et al.* (1995) ont montré qu'un professionnel malade sur un bateau avait pu contaminer les eaux et les coquillages de tout un secteur.

2.2 Survie des virus entériques humains en rivière

A l'extérieur de leur hôte, les virus constituent des particules inertes. Leur résistance dépend de facteurs intrinsèques: des différences sont observées selon par exemple la famille, le genre, le sérotype. Les virus nus sont moins résistants que les particules virales enveloppées (Schvoerer E. *et al.*, 2001).

Des facteurs extrinsèques vont influencer la survie et le transfert. Il s'agit de paramètres physiques, chimiques et/ou biologiques. Ces facteurs participent à "l'auto-épuration" du milieu hydrique.

2.2.1 Les conditions expérimentales

La majorité des données rassemblées provient d'expériences réalisées en incubateur. La méthode de détection principalement utilisée est la culture cellulaire. Aussi, les valeurs de T_{90} correspondent à des temps de survie de virus infectieux. Par ailleurs, les virus entériques utilisés dans ces études sont issus de souches de collection. Concernant les bactéries *E. coli* et les phages, ils sont souvent prélevés dans des échantillons naturels (effluents).

2.2.2 Appréciation de la survie avec la notion de T_{90}

Des études expérimentales sur la survie microbienne ont montré que les phénomènes pouvaient être modélisés par des équations de régression du type suivant :

$$\text{Log } N_t = a.t + \text{Log } N_0 \quad (N_t \text{ titre viral au temps } t, N_0 \text{ titre viral initial et } a \text{ pente})$$

A partir de cette équation, le temps nécessaire à la disparition de 90% de la population initialement présente ou T_{90} peut être calculé. Il est égal à $2,303/k$, k étant la pente de la droite de régression.

Peu de données ont été trouvées dans la littérature sur la survie des virus entériques dans les rivières (Annexe 9). Les valeurs de T_{90} disponibles varient de 0,15 jour pour des poliovirus inoculés dans des eaux de surface et souterraines, à 16 jours pour des rotavirus inoculés dans une rivière à 4°C (Rzezuka A. *et al.*, 2004 ; Pancorbo O.C. *et al.*, 1987 ; Raphael R.A. *et al.*, 1985).

Davantage d'expériences ont été menées sur les phages et surtout sur les bactéries indicatrices de contamination fécale (Annexe 9). La comparaison des données de survie de ces microorganismes avec celles obtenues pour les virus entériques est difficile du fait de conditions expérimentales différentes. Cependant, les bactéries *E. coli* ont

généralement des temps de survie plus courts que les virus. La persistance des phages ARN-F dans les eaux de surface semble être du même ordre de grandeur que celle des virus.

2.2.3 Effet majeur de la lumière

Les conséquences des rayonnements solaires sur la survie microbienne ont été de nombreuses fois observées en milieu hydrique, mais peu de données existent en rivière. Des études réalisées sur les phages ARN-F montrent que la résistance des phages est inversement corrélée à l'intensité lumineuse (Noble R.T. *et al.*, 2004). Les différences d'intensité lumineuse entre l'hiver et l'été font varier le T_{90} de ces phages respectivement de 4 à 2 jours.

Le Tableau 3 rassemble des valeurs de T_{90} à la lumière et à l'obscurité pour les bactéries indicatrices de contamination fécale et les phages ARN-F.

Tableau 3. Valeurs de T_{90} (jours) en eau de rivière pour des microorganismes entériques.

T_{90} (jours)	Lumière		Obscurité
	Minima	Maxima	
<i>E. coli</i>	0,15 ^a	6 ^b	7 ^a
Phages ARN-F	0,6 ^a	14 ^c	7 ^a

(^a Sinton L.W. *et al.*, 2002 ; ^b Corre S. *et al.*, 1999 ; ^c Duran A.E. *et al.*, 2002).

2.2.4 Effet de la température

Plusieurs expériences ont observé un accroissement de l'inactivation des virus et des phages avec la température, comme le montre la Figure 5. La survie virale est nettement augmentée quand la température de l'eau est inférieure à 10°C.

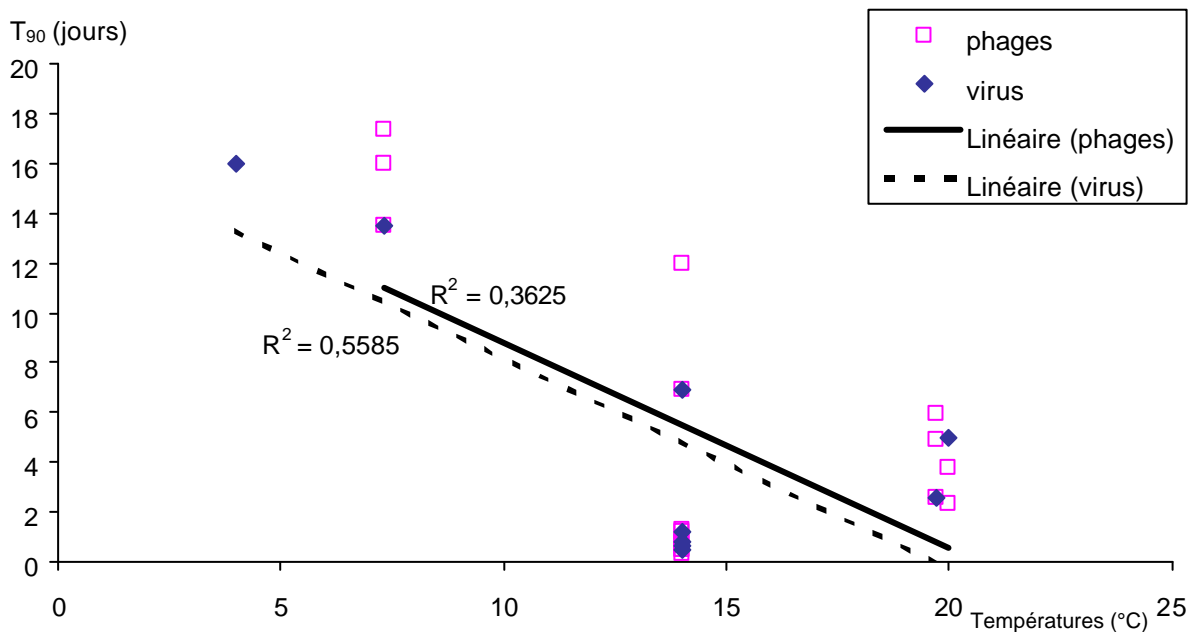


Figure 5. Variations des valeurs de T_{90} (jours) pour les virus entériques et les phages ARN-F en fonction de la température de l'eau douce.

Concernant l'effet des très basses températures, une étude épidémiologique finlandaise a mis en cause des NoV provenant d'une rivière gelée et contaminée 4 mois auparavant (Kukkula M. *et al.*, 1999).

Les températures élevées conduisent à la dégradation de la capsid, qui résulte en la libération d'ARN viral (Nasser A.M. & Oman S.D., 1999). Par ailleurs, l'augmentation de la température accélère la perte d'infectiosité (Gassiloud B. *et al.*, 2003).

2.2.5 Effet de la présence de particules

Les virus vont avoir tendance à s'adsorber aux particules présentes dans la rivière. Ces agglomérats sont véhiculés par le cours d'eau, ou sédimentent (avec remise en suspension possible). Ceci est fonction de paramètres tels que le débit et la taille de la particule. Une corrélation positive entre la détection de virus dans l'eau et une turbidité supérieure à 10 NTU (Nephelometric turbidity units) est rapportée (Rose J.B *et al.*, 1987).

Cependant, aucune valeur de T_{90} de virus associée à ce facteur n'a été collectée. Des expériences montrent que les particules en suspension, les boues et les sédiments protègent les virus des agents inactivateurs (par exemple les rayonnements U.V., la chaleur).

Différents facteurs, comme la présence d'aspérités en surface du support, vont favoriser le phénomène d'adsorption des NoV (Gassiloud B. *et al.*, 2003).

2.2.6 Effet de la prédation

La prédation des virus par les protozoaires a été observée en milieu hydrique (Benyahya M. *et al.*, 1998). Des études de laboratoire mettant en présence des organismes procaryotes et eucaryotes, et des particules virales ont montré qu'une adsorption pouvait se produire (Benyahya M. *et al.*, 1998).

2.3 Conclusion

Les facteurs environnementaux et les traitements épuratoires vont éliminer une partie des virus entériques. Cependant, ces virus peuvent survivre pendant des périodes de plusieurs jours à plusieurs semaines dans le milieu naturel. Leur adsorption à des particules sédimentaires va accroître leur persistance et faciliter leur transfert jusqu'à la zone littorale.

3 DEVENIR DES VIRUS ENTERIQUES DANS LES EAUX COTIERES

Comme pour les eaux douces, les paramètres environnementaux du milieu marin vont influencer la survie des microorganismes entériques. Néanmoins, l'implication de virus dans des infections faisant suite à la consommation de coquillages contaminés témoigne de leur persistance dans les eaux côtières (Lees D., 2000 ; Le Guyader S. *et al.*, 2003). Les enjeux sanitaires ont motivé des études sur la présence et le devenir des virus entériques humains dans les eaux littorales.

Quelques données de concentration en microorganismes entériques dans les eaux littorales sont présentées à l'Annexe 10. Des NoV ont été quantifiés dans l'eau de mer: les concentrations mesurées sont en moyenne de $7,0.10^2$ séquences de génome par 100 mL (Laverick M.A. *et al.*, 2004). Dans les eaux côtières japonaises, des NoV ont été détectés en période hivernale, mais pas en été (Katayama H. *et al.*, 2002).

Des concentrations de l'ordre de 10^2 particules de génome ont été mesurées pour les adénovirus humains (Jiang S. *et al.*, 2001). Pour les entérovirus, par contre, les concentrations sont comprises entre $4,0.10^4$ et $7,0.10^6$ unités RT-PCR (Schvoerer E. *et al.*, 2001).

Des études au laboratoire ou *in situ* se sont intéressées à l'influence des paramètres du milieu marin sur la survie virale. Aucune donnée n'existe sur les NoV. Aussi, nous nous reporterons aux données existantes pour d'autres virus entériques et pour des phages.

3.1 Les paramètres influençant la survie virale dans les eaux marines

3.1.1 Effet de la lumière

Les rayonnements UV sont reconnus depuis les années 60 comme le principal agent d'inactivation des microorganismes, quelques soient les conditions environnementales. En mer, l'intensité lumineuse diminue avec la présence de matières en suspension et la profondeur (Pommepuy M. *et al.*, 1992).

Les données de la littérature sur les virus entériques proviennent principalement d'expériences réalisées en incubateur au laboratoire, donc à l'obscurité. Les quelques expériences menées *in situ*, dans des sacs plastiques placés en surface, donnent des valeurs de T_{90} d'environ 2 jours pour les poliovirus (Girones R. *et al.*, 1989). La valeur de T_{90} atteint 7 jours pour des mesures faites aux profondeurs de - 3 m et - 10 m, donc à l'abri de la lumière (Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001). Le suivi saisonnier de poliovirus incubés en chambres de diffusion *in situ* a montré des valeurs de T_{90} inférieures en été à celles de la période hivernale (Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001). La concentration en phages ARN-F est réduite de 3 unités Log_{10} lorsque ces microorganismes sont exposés à une intensité lumineuse croissante pour atteindre des conditions estivales (Sinton L.W. *et al.*, 2002).

3.1.2 Effet de la température

Plusieurs études se sont intéressées à ce paramètre. Cependant, les avis divergent quant à l'existence de son influence sur la survie microbienne (Noble R.T. *et al.*, 2004).

Dans le cas des virus et des phages ARN-F, les variations de T_{90} avec la température sont présentées à la Figure 6.

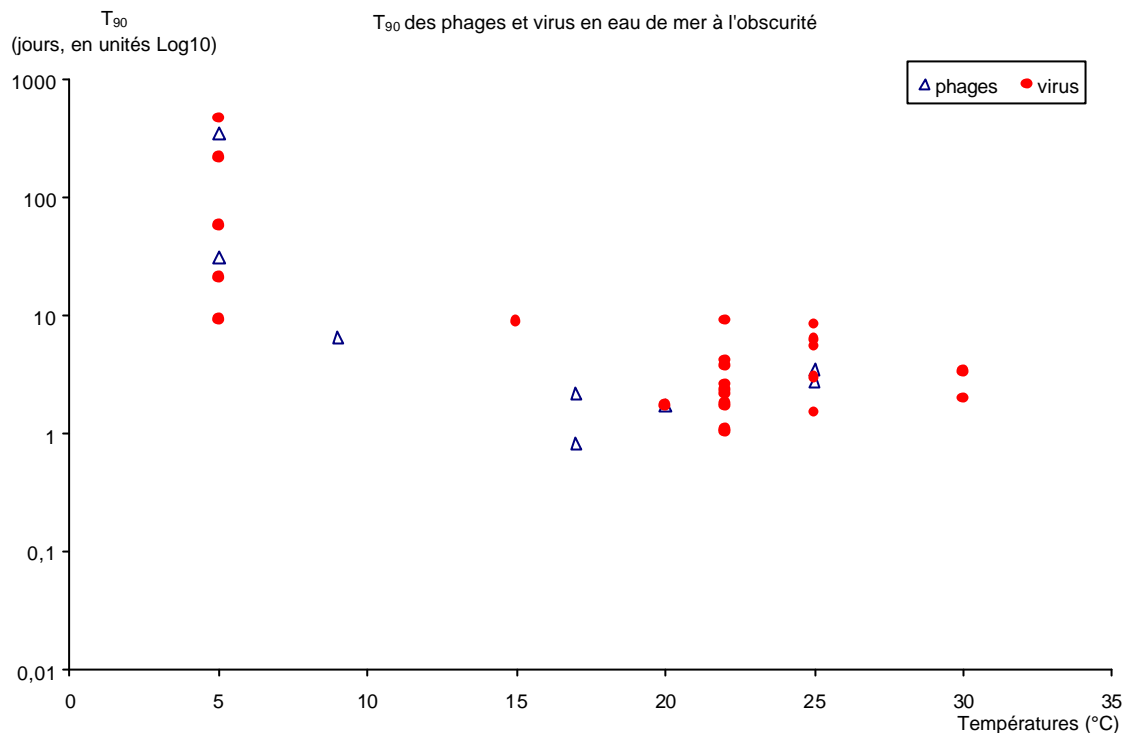


Figure 6. Variations des valeurs de T_{90} (jours) pour les virus entériques et les phages ARN-F en fonction de la température de l'eau de mer.

La survie virale est favorisée aux basses températures. Les poliovirus et les rotavirus peuvent persister d'une dizaine à plusieurs centaines de jours lorsque la température avoisine les 5°C (Annexe 11). Entre 10 et 25°C, les T_{90} sont inférieurs et varient entre 1 et 10 jours. A ces températures, des valeurs comparables de T_{90} sont trouvées pour les virus et les phages ARN-F.

3.1.3 Effet de la présence de sédiments

En mer, les virus sont à l'état libre ou adsorbés à des particules. L'adsorption des virus n'est pas un phénomène systématique. Dans l'eau de mer artificielle, des variations ont pu être observées suivant notamment le virus étudié ou le type de sédiments impliqués (Gantzer C. et al., 1998A).

Les données de la littérature montrent que la présence de sédiments a tendance à accroître la survie des virus (Annexe 11). Par exemple, pour le poliovirus 1, les valeurs de T_{90} mesuré varient fortement avec et sans sédiment, et sont respectivement de 475 et 9,5 jours, en eau de mer à 5°C (Chung H. & Sobsey M.D., 1993). Des études réalisées sur les rotavirus et les VHA mettent également en évidence l'effet protecteur des particules.

Un nombre plus important de virus est parfois trouvé dans les sédiments par rapport aux eaux environnantes (Labelle R.L. et al., 1980). Pour certains auteurs, les sédiments jouent le rôle de réservoirs de virus qu'ils peuvent relarguer au gré des conditions environnantes. Ainsi, des entérovirus adsorbés à des sédiments marins ont été trouvés en mer jusqu'à une profondeur de - 80 m et à une distance de 5 Km des côtes (Bosch A. et al., 1988).

3.1.4 Effet de la présence de microorganismes

Peu de données existent sur l'influence que peuvent avoir des microorganismes sur la survie virale.

Des expériences ont montré une rapide inactivation du poliovirus 1 lorsqu'il est inoculé dans de l'eau de mer non filtrée ou filtrée à 2,0 µm (Girones R. *et al.*, 1989). Son inactivation est partielle dans une eau filtrée à 0,45 µm. Et, dans une eau filtrée à 0,22 µm, il persiste toute la durée de l'expérience (7 jours). Pour Girones R. *et al.* (1989), ces résultats suggèrent l'existence de particules à activité antivirale dans les eaux de mer polluées par des eaux usées. Ces auteurs ajoutent que des expériences anciennes ont montré une plus grande persistance des virus dans une eau de mer autoclavée ou ayant subi des traitements aux antibiotiques, que dans de l'eau non-traitée.

Cependant, l'importance des facteurs biologiques dans la décroissance virale n'est pas unanimement partagée (Wetz J.J. *et al.*, 2004).

3.1.5 Effet d'autres paramètres

Le pH est un paramètre du milieu marin qui a fait l'objet d'études sur son rôle éventuel dans la survie virale. Le nombre de virus tend à augmenter dans une gamme de pH comprise entre 7,8 et 8,4 (Labelle R.L. *et al.*, 1980).

La salinité ne semble pas avoir d'influence sur le pouvoir infectieux du poliovirus: les temps de survie sont semblables pour des salinités de 14, 24 et 33 g.L⁻¹ (Gantzer C. *et al.*, 1998A).

3.1.6 Synthèse sur les valeurs de T₉₀ de la littérature

Les données de la littérature fournissent des valeurs de T₉₀ en mer pour les 3 types de microorganismes étudiés : virus entériques, phages ARN-F et *E.coli*. Afin de synthétiser cet ensemble de données, des valeurs minimales et maximales de T₉₀ ont été rassemblées dans le Tableau 4 sous conditions de lumière, d'obscurité ou de forte turbidité. Pour le choix des valeurs présentées dans le tableau, les conditions suivantes ont été privilégiées: essais sur souches naturelles, expériences *in situ*, températures de la gamme de celles des eaux côtières françaises.

Tableau 4. Valeurs minimales et maximales de T₉₀ en conditions de lumière, d'obscurité et de turbidité pour les *E. coli*, les phages ARN-F et les virus entériques.

	Lumière		Obscurité		Turbidité
	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	
<i>E. coli</i>	0,03	3	0,1	4,5	7
Phages ARN-F	0,2	4	0,5	30	348
Virus entériques	1,5	7	4	40	450

3.2 Contamination des coquillages

3.2.1 Physiologie des coquillages

Pour se nourrir et respirer, la plupart des coquillages filtrent par leurs branchies de grandes quantités d'eau (Jamet J., 1992). Ainsi, une huître peut filtrer jusqu'à 5 litres d'eau par heure (Le Saux J.C. *et al.*, 2003). Sont prélevés dans l'eau filtrée, oxygène dissous et particules en suspension. Cependant, la sélection des éléments filtrés se fait selon leur taille et non leur nature. Aussi, les microorganismes pathogènes vont être adsorbés de façon passive par le coquillage.

La température de l'eau joue un rôle important sur la physiologie des coquillages, et de ce fait dans son efficacité à concentrer les virus (Metcalf T.G., 1978). Pour des températures supérieures à 20°C, la physiologie du coquillage est fortement activée d'où une auto-épuration du bivalve filtreur efficace. A l'inverse, lorsque les températures sont inférieures à 10°C, le coquillage a une physiologie ralentie et une capacité auto-épuration amoindrie, d'où une plus longue persistance des virus dans les coquillages (Le Saux J.C. *et al.*, 2003).

3.2.2 Contamination virale

Plusieurs études ont montré l'existence d'une contamination virale des coquillages, notamment par les NoV (Hernroth B.E. *et al.*, 2002 ; Le Guyader S. *et al.*, 2000 ; Romalde J.L. *et al.*, 2002 ; Formiga-Cruz M. *et al.*, 2002).

Par contre, il existe peu d'études dans lesquelles les NoV présents dans les coquillages sont quantifiés. Une estimation réalisée sur des huîtres japonaises donne des concentrations par huître supérieures à 10² séquences de génome de NoV (Nishida T. *et al.*, 2003).

Pour les huîtres, il a été montré que les coquillages accumulent plus facilement les virus associés à des particules que les virus nus (Hoff J.C. & Becker R.C., 1969).

Pendant la période la plus froide de l'année, la combinaison des facteurs suivants :

- ralentissement de la physiologie du coquillage,
- quantités plus importantes de NoV excrétées par les populations (épidémies),
- plus grande persistance virale aux basses températures,

pourra entraîner une contamination des coquillages (Griffin D.W. *et al.*, 2003).

3.2.3 Ratios d'accumulation dans les coquillages

Les coquillages ont des capacités de concentration en virus très élevées. Ainsi, des huîtres placées dans une eau dans laquelle des poliovirus ont été inoculés sont capables de concentrer 60 fois ces virus (Mitchell J.R. *et al.*, 1966).

Les mesures simultanées des concentrations en microorganismes entériques dans les coquillages et les eaux environnantes permettent de calculer un ratio d'accumulation. Aucune donnée de ratio d'accumulation n'a été trouvée dans la littérature pour les virus entériques. Par contre, des facteurs d'accumulation en bactéries *E. coli* et coliphages sont présentés à l'Annexe 12. Les valeurs obtenues mettent en évidence :

- le fort pouvoir concentrateur des coquillages : des concentrations maximales 150 fois supérieures en *E. coli* à celles des eaux et 222 fois en coliphages sont mesurées (Shieh Y.C. *et al.*, 2003),
- l'existence de fortes variations des valeurs de ratio pour un même lot et des conditions expérimentales identiques : les valeurs fluctuent de 2 à 146 pour les *E. coli*, et de 0,2 à 130 pour les coliphages (Shieh Y.C. *et al.*, 2003),

- une accumulation préférentielle en coliphages F+ entre fin-novembre et janvier, et de façon générale pour les *E. coli* et coliphages une amplitude des ratios corrélée avec la température de l'eau (Burkhardt W. III & Calci K.R, 2000).

3.3 Conclusion

Les virus entériques peuvent persister plusieurs jours dans les eaux côtières, surtout si ils sont adsorbés à des particules de sédiments.

Leur présence dans les eaux conchylicoles constitue un danger potentiel pour les consommateurs, du fait des possibilités d'accumulation dans les coquillages.

4 SIMULATIONS DE REJETS DE MICROORGANISMES ENTERIQUES DANS DEUX REGIONS CONCHYLICOLES FRANÇAISES PAR L'UTILISATION D'UN MODELE HYDRODYNAMIQUE

Afin de comprendre la dynamique des microorganismes entériques rejetés en zone littorale et d'évaluer les possibilités de contamination des eaux côtières et plus particulièrement celles qui concernent les zones conchylicoles, nous avons décidé d'utiliser un modèle hydrodynamique (advection et dispersion) et qui a donné des résultats intéressants lors de précédentes simulations.

Différents scénarii de rejets de microorganismes entériques ont été réalisés dans deux régions conchylicoles : le secteur de St-Vaast-La-Hougue dans le nord est Cotentin (Figure 1, Annexe 12) et le Golfe du Morbihan (Figure 2, Annexe 12). Dans ces deux zones, ont été effectués de façon régulière et récente, des suivis de la qualité microbiologique des apports des stations d'épuration et des cours d'eau à la zone littorale. Ces données ont été utilisées pour apprécier les flux de virus entériques, et calculer des flux de bactéries *E. coli* et de phages ARN-F rejetés dans ces secteurs.

De nombreuses imprécisions entrent en jeu dans une telle démarche. Cependant, le modèle peut fournir des indications sur la dispersion (évolutions spatiale et temporelle des panaches) des microorganismes émis dans la zone littorale.

4.1 Présentation du modèle hydrodynamique utilisé, le modèle MARS-2D

Le modèle hydrodynamique MARS effectue le calcul des courants, des hauteurs d'eau et des concentrations en substances dissoutes dans un écoulement liquide plan, quasi-horizontale.

Dans les zones marines peu profondes, les processus 3D (stratification thermique, stratification haline, courants verticaux, etc.) sont peu prononcés. Les processus dynamiques majeurs sont les marées. Les courants générés vont avoir tendance à uniformiser la colonne d'eau. Deux hypothèses de calcul sont prises en compte dans le modèle 2D : une faible variation de la composante horizontale du courant sur la hauteur d'eau (on prend la moyenne sur la verticale) et des vitesses verticales faibles.

Compte tenu de la bathymétrie des zones d'étude, le Golfe du Morbihan et le secteur de St-Vaast, un modèle en 2 dimensions suffit pour modéliser les processus hydrodynamiques. Par ailleurs, cette hypothèse d'absence de stratification de la colonne d'eau a été confirmée dans la région de St-Vaast par des suivis de salinité en point fixe et sur des cycles Mortes-Eaux/Vives-Eaux qui ont mis en évidence l'existence de très faibles variations avec la profondeur (Durand A., 2003).

Le modèle MARS-2D résout les équations mathématiques de St-Venant. Trois types d'informations lui sont fournis : la topographie du domaine, les conditions aux limites sur les frontières ouvertes du domaine et les flux d'eau et de particules en suspension et dissoutes au niveau des rejets et rivières à l'intérieur du domaine.

La simulation de rejets de microorganismes dans un secteur littoral donne des valeurs de concentrations en chaque maille du modèle sur la durée de la simulation.

Afin de représenter le plus précisément possible la réalité, le modèle MARS utilise une technique d'emboîtement de modèles d'emprise de moins en moins large, mais de résolution de plus en plus fine. Le modèle de plus grande emprise permet de forcer avec les ondes de marée les autres modèles.

4.2 Simulations de rejets de bactéries *E. coli* dans le secteur de St-Vaast-La-Hougue

4.2.1 Simulations du rejet de *E. coli* dans le modèle ECOT² (Est Cotentin)

Le modèle hydrodynamique centré sur la partie est Cotentin a été développé par SEAMER dans le cadre du Contrat de Plan Etat-Région (Région Basse Normandie, AESN, CG50 et CG14). Il est mis en œuvre par le Laboratoire côtier de l'Ifremer à Port-en-Bessin (LERN). Ce modèle est de faible emprise géographique, de résolution de 75 m (taille de la maille), et convient à la reproduction d'événements courts aux échelles spatiale et temporelle (Figure 6). Aussi, il se prête mal à des simulations sur des particules ayant des temps de survie prolongés, comme les virus pour lesquels les valeurs de T_{90} trouvées dans la littérature varient de plusieurs jours à plusieurs semaines en mer, et ce contrairement aux *E. coli* dont la survie est plus courte (Cf. Chapitre 3). Pour ces raisons, seuls les flux de bactéries *E. coli* sont simulés dans ce modèle, avec un T_{90} de 1 jour.

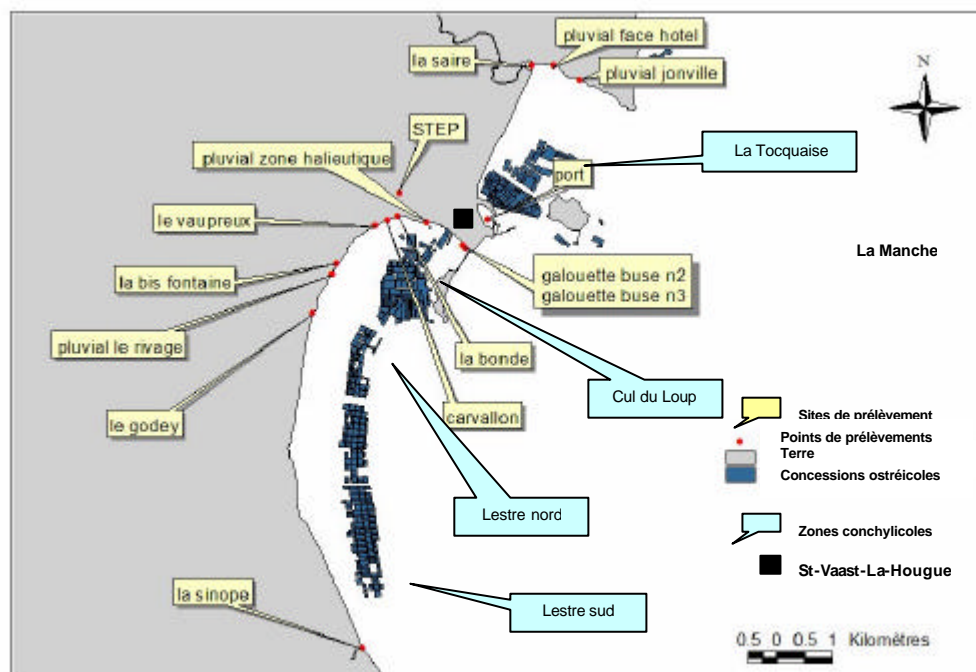


Figure 6. Le secteur d'étude de St-Vaast, les points de suivis et les concessions ostréicoles.

Dans le secteur d'étude, les seules sources d'apport de microorganismes sont les rivières, les ruisseaux temporaires, les réseaux de collecte des eaux de pluies. Les eaux traitées de la station d'épuration de St-Vaast sont rejetées dans le port qui sert de lagunage (port à écluses). Les apports majeurs proviennent de cinq cours d'eau: la Saire, la Sinope, le Vaupreux, le Godey, et la Bonde (Figure 6). Un suivi régulier de la qualité des principaux rejets est effectué par la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales de la Manche.

² Modèle ECOT développé dans le cadre du CPER (Région Basse Normandie, AESN, CG14 et CG50).

Par ailleurs, la qualité des coquillages du secteur est suivie dans le cadre du classement des zones conchylicoles (Réseau REMI, Ifremer). Ces sites sont majoritairement classés en A.

4.2.2 Simulations d'un épisode de crues

Il est intéressant d'utiliser le modèle pour simuler l'impact d'un épisode de crue, donc d'apports importants de microorganismes entériques, sur la zone d'élevage conchylicole.

Lors d'un épisode de crue survenu dans la région à la mi-janvier 2004, des mesures de débit et de concentration en *E. coli* ont été effectuées aux points de rejet des 5 cours d'eau précédemment cités, ainsi que pour d'autres rejets de la zone (ruisseaux, points de rejet des eaux pluviales) (Figure 6). A partir des valeurs de débits et de concentrations mesurées lors de cette opération, des flux d'*E. coli* ont été calculés (Tableau 5).

Tableau 5. Flux calculés pour les principaux points de rejet du secteur de St-Vaast-La-Hougue pour l'épisode de crue de la mi-janvier 2004.

	Saire	Sinope	Vaupreux	Bonde	Godey	pluvial halieutique
Débit ($m^3 \cdot s^{-1}$)	10,95	6,0	0,198	0,399	0,309	0,006
Concentration en <i>E. coli</i> (UFC.100 mL ⁻¹)	$2,4 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^4$	$8,1 \cdot 10^4$	$7,6 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^6$
Flux de <i>E. coli</i> (UFC. Jour ⁻¹)	$2,3 \cdot 10^{14}$	$1,2 \cdot 10^{14}$	$1,4 \cdot 10^{13}$	$2,6 \cdot 10^{12}$	$8,2 \cdot 10^{11}$	$1,6 \cdot 10^{13}$

Lors de cette crue, les 5 cours d'eau principaux du secteur ont émis des flux compris entre 10^{11} et 10^{14} *E. coli* par jour. La simulation des rejets de ces 5 points lors de cet épisode pluvieux a pu permettre de visualiser les conséquences que peuvent avoir de tels rejets sur le secteur conchylicole.

Par ailleurs, lors de cette opération de prélèvements, les résultats ont montré que le point de rejet ponctuel pluvial halieutique était très chargé (zone urbaine non raccordée) (Tableau 5). Le calcul du flux émis par ce rejet pendant la crue donne une valeur de $1,6 \cdot 10^{13}$ *E. coli* par jour. Cette valeur est du même ordre de grandeur que celles des flux calculés pour les cours d'eaux principaux. Aussi, nous avons décidé de simuler ce rejet pour voir s'il pouvait raisonnablement avoir un impact sur la qualité des eaux du secteur conchylicole du Cul de Loup.

4.2.3 Résultats des simulations

4.2.3.1 Impact des rejets des 5 cours d'eau principaux

a) Simulation de rejets continus pendant 11h

Les panaches de dispersion des 5 rejets après 11h d'émission sont présentés Figure 7. Les zones les plus contaminées sont à proximité des rivières de la Saire et de la Sinope avec des concentrations maximales à la sortie du rejet de l'ordre de 10^6 *E. coli*/100 mL. Les panaches émis au niveau de la Bonde et du Vaupreux commencent à atteindre les concessions ostréicoles situés à proximité, dans le secteur du Cul de Loup, avec des concentrations allant jusqu'à 10 *E. coli*/100 mL. Les autres sites ostréicoles ne sont pas contaminés.

Il faut 11 h d'émission pour que les premiers panaches soient visibles pour l'ensemble des rejets. Autrement dit, il faut au minimum une demi-journée d'émission en continu de rejets très chargés en *E. coli* pour observer une contamination du secteur. Or les épisodes de crue ne durent généralement que quelques heures. Ainsi, les rejets des 5 cours d'eau principaux ne constituent pas en période normale une menace pour la qualité bactériologique des eaux conchylicoles.

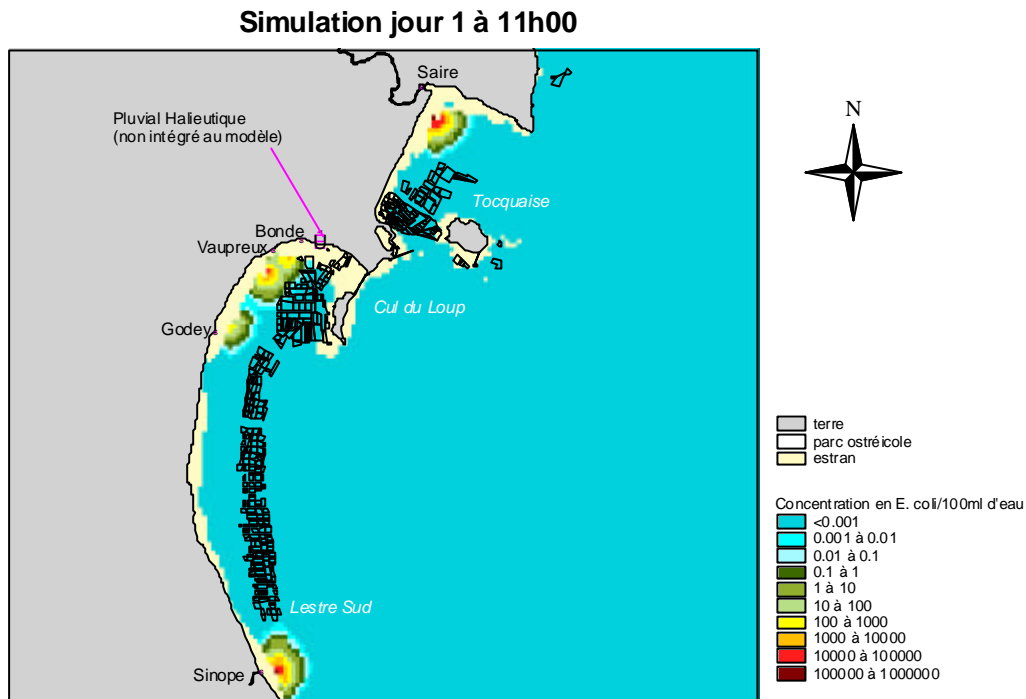


Figure 7. Panaches de dispersion au bout de 8h de rejets des 5 cours d'eau en situation de crue².

b) Simulation de rejets continus pendant 22h

La situation après 22h de rejets est exposée Figure 8. Au bout d'une journée de rejets continus, une grande partie de la zone conchylicole de St-Vaast est contaminée. Tout le secteur sauf Lestre nord est contaminé. On remarque que, à part celui de la Saire, les panaches ont plutôt tendance à s'étaler le long des côtes plutôt qu'à se disperser vers le large.

**Simulation avec les rejets des 5 cours d'eau
jour 1 à 22h00
(coefficient 76)**

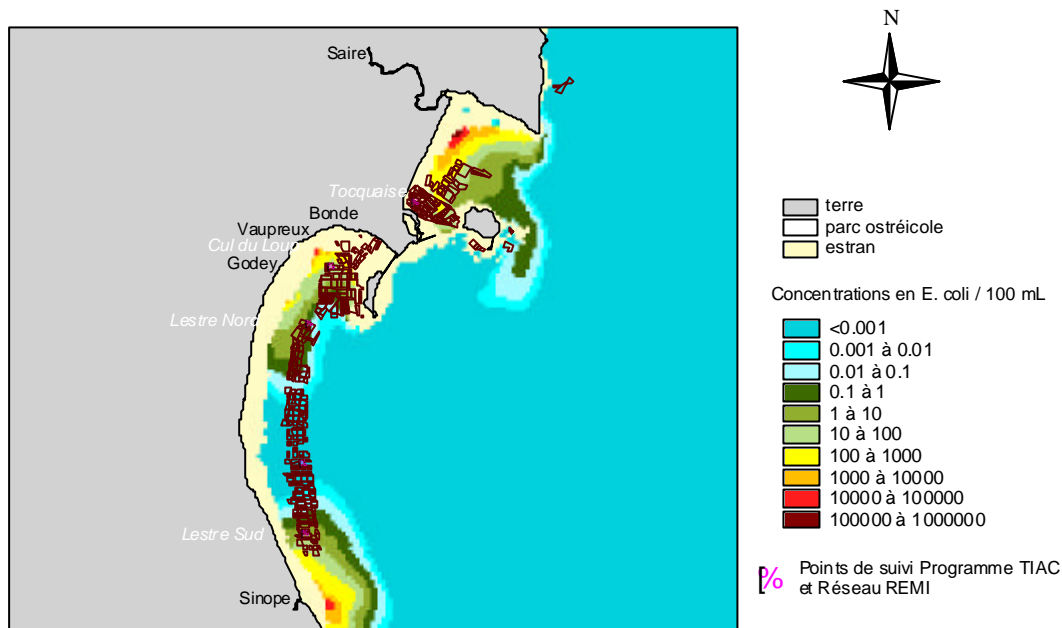


Figure 8. Panaches de dispersion au bout de 22h de rejets des 5 cours d'eau en situation de crue².

Concernant les concentrations obtenues, les valeurs maximales atteintes au niveau des concessions ostréicoles sont de l'ordre de 10^4 *E. coli* /100 mL. En appliquant un ratio eau/coquillages moyen en *E. coli* de 1/30, des valeurs allant jusqu'à 3.10^5 *E. coli* /100 mL seraient obtenues dans les coquillages. La zone serait classée très largement en D (Annexe 1).

Cette situation extrême d'un rejet très pollué pendant 22h ne reflète pas la réalité puisque les crues sont des phénomènes exceptionnels de quelques heures. Les résultats de cette simulation sont présentés ici à titre d'exemple, dans la réalité le site de St-Vaast est classé en A, et a fait l'objet de déclassements temporaires en B ces dernières années (Cf. données REMI).

4.2.3.2 Impact du rejet du point pluvial halieutique

Si l'on considère un rejet accidentel de 12h du point pluvial halieutique, l'impact sur le secteur est modéré (Figure 9).

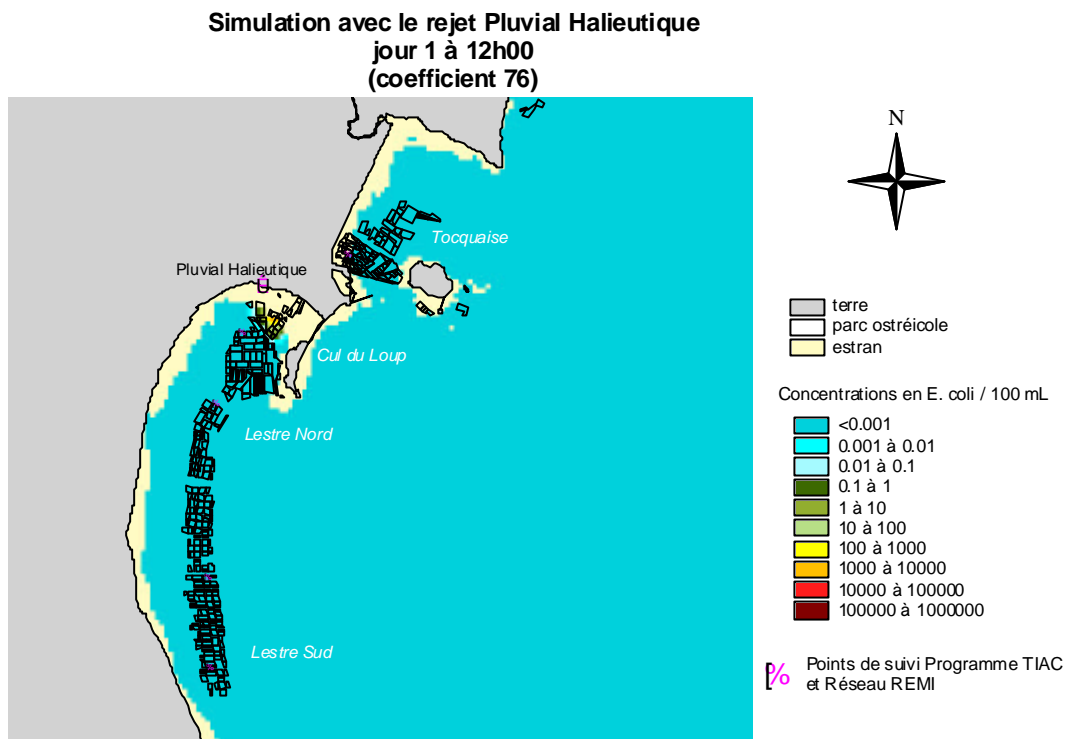


Figure 9. Panache de dispersion au bout de 12h de rejets du pluvial halieutique en situation de crue².

Au bout de 12h de rejet du pluvial halieutique, une petite partie nord du secteur du Cul de Loup est contaminé, avec des concentrations pouvant atteindre 10^4 *E. coli*/100 mL. Ceci montre l'impact de ce pluvial déversant les eaux d'un réseau non raccordé sur la qualité du secteur.

Comme dans le cas précédent, un flux exceptionnel a été simulé de façon prolongée pour visualiser le rejet pluvial halieutique. Nous avons laissé tourner le modèle pendant 22h avec cet apport exceptionnel (Figure 10).

Simulation avec le seul rejet de Pluvial Halieutique
 jour 1 à 22h00
 (coefficient 76)

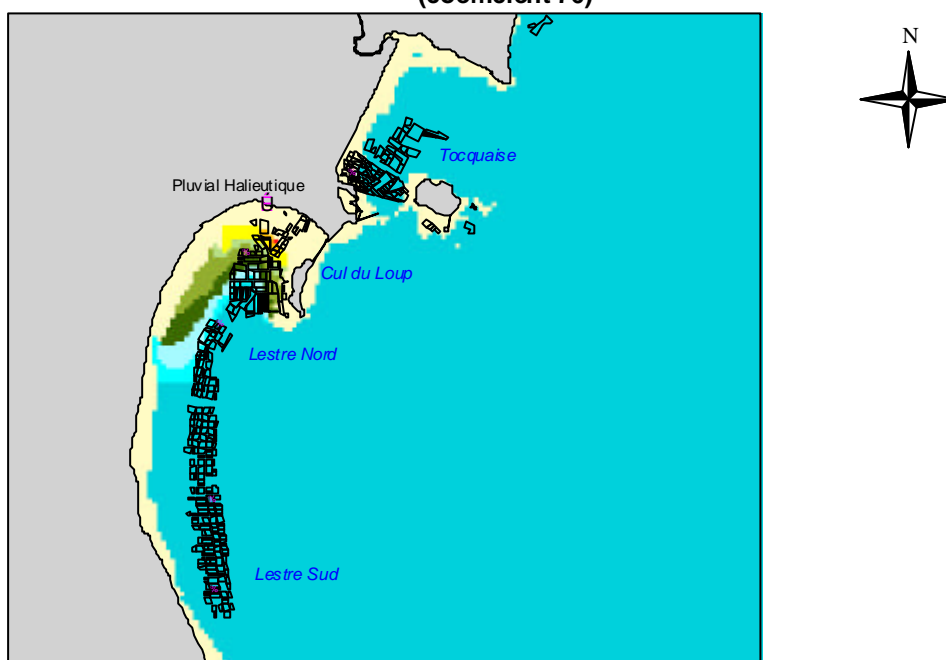


Figure 10. Panache de dispersion du rejet pluvial halieutique au bout de 22h de rejet² (échelle arbitraire).

On observe la dispersion du panache sur tout le secteur du Cul de Loup.

4.2.3.3 Conclusions sur les résultats de ces simulations en conditions exceptionnelles

a) *Eléments de comparaison avec une situation normale*

Ces résultats concernent des conditions exceptionnelles qui ont entraîné la vidange d'eaux très chargées (cours d'eau et pluvial halieutique). Nous avons observé, après plusieurs heures de rejets continus, l'impact que pouvait avoir de tels apports sur la qualité de la zone. Les rejets de proximité ont un impact très important sur la qualité du site.

Notons cependant que dans des situations normales, certains flux sont inexistant (pluvial halieutique) ou très réduits. La comparaison des débits de crue et des débits moyens montrent que les 5 cours d'eau réagissent différemment aux fortes pluies (Tableau 6).

Tableau 6. Débits moyen et maximum des rejets des 5 cours d'eau principaux.

(m ³ .s ⁻¹)	Saire	Sinope	Vaupreux	Bonde	Godey
Débit moyen	2,2	1,3	0,13	0,05	0,07
Débit de crue	10,95	6	0,198	0,399	0,309
Facteur multiplicatif : débit de crue/débit moyen	5	4,6	1,5	8	4,4

On remarque que le débit de la Bonde augmente fortement lorsque les pluies sont importantes: il est 8 fois supérieur en période de crue comparativement à sa valeur moyenne. Pour les rivières de la Saire, de la Sinope et du Godey, le débit de crue est environ 5 fois plus grand que le débit moyen. Par contre, le débit du Vaupreux varie peu avec les conditions de précipitations.

b) Effet des courants sur le déplacement des panaches

Des simulations de rejets ponctuels de particules conservatives ont été réalisées (LERN, Ifremer Port-en-Bessin) (Figure 11).

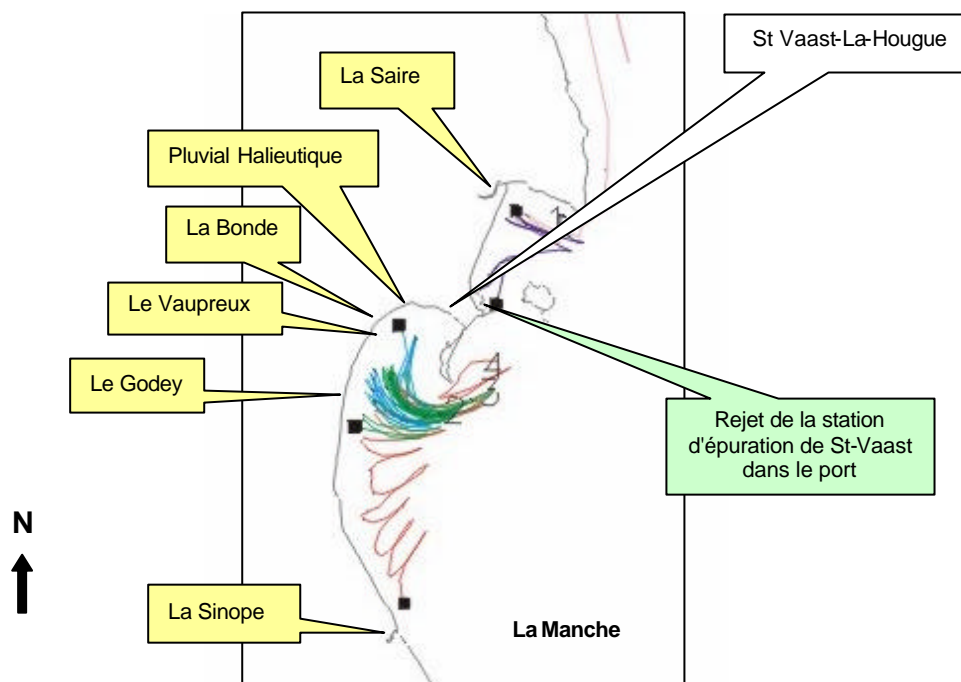


Figure 11. Simulations des trajectoires de particules conservatives rejetées ponctuellement en plusieurs points du secteur d'étude².

L'observation des trajectoires montre que les particules suivent dans le secteur des mouvements de va-et-vient liés à la marée. Il existe un déplacement résiduel vers le nord (exemple: Sinope). Au niveau des rejets de la Bonde, du Vaupreux et du pluvial halieutique, le mouvement de va-et-vient sans déplacement résiduel est particulièrement important et les particules ont tendance à stagner dans la zone du Cul de Loup. Pour le rejet de la Sinope, les particules remontent vers la côte nord et les concessions ostréicoles de Lestre. Vers la Saire, les rejets semblent plus rapidement évacués, mais peuvent contaminer néanmoins le site ostréicole de la Tocquaise.

Les courants de marée sont très faibles dans ce secteur abrité et ne permettent pas la dispersion des particules vers le large. Cette dynamique retarde l'évacuation des rejets de la zone.

Or, si on se place dans le cas de virus entériques dont les temps de survie peuvent atteindre plusieurs semaines, cette dynamique locale peut avoir des répercussions importantes en terme de contamination virale des coquillages.

4.3 Simulations de rejets de virus entériques dans le Golfe du Morbihan

Le secteur d'étude concerne particulièrement la partie est du Golfe du Morbihan (Figure 12).

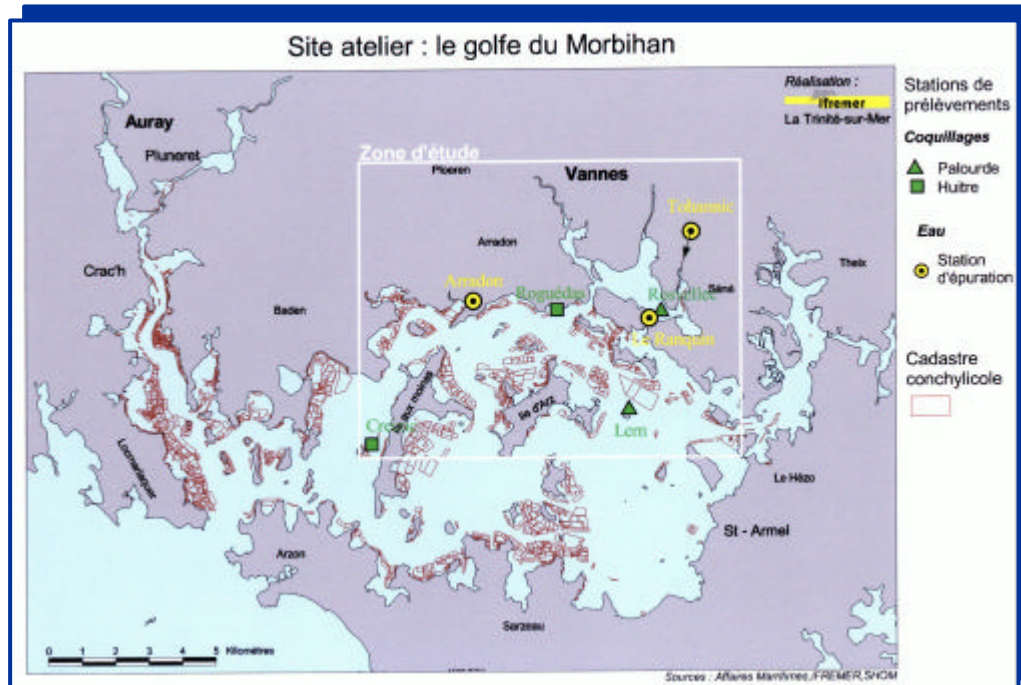


Figure 12. Localisation du secteur d'étude, des points de rejet des stations d'épuration et des points de suivi dans les coquillages.

4.3.1 Les conditions prises en compte dans les simulations

4.3.1.1 Présentation du modèle du Golfe du Morbihan

Le modèle utilisé a été élaboré et mis en œuvre par l'Ifremer de Brest (DEL/AO). Il s'agit d'un modèle de petite maille (80 m), dans lequel peuvent être reproduits les rejets de particules ayant des temps de survie de plusieurs jours. Aussi, des apports de virus entériques seront simulés. Par référence, des rejets de bactéries *E. coli* et de phages ARN-F seront également modélisés.

Les sources majeures de microorganismes entériques dans le secteur d'étude sont les rejets directs des stations d'épuration suivantes (Figure 12) :

- la station d'Arradon (7 000 Eq./hab., traitement par boues activées faible charge),
- la station de Vannes-Tohannic (60 000 Eq./hab., traitement par boues activées faible charge),
- la station de Séné-Le Ranquin (1 500 Eq./hab., traitement par boues activées faible charge).

L'impact des rejets des 3 stations a été simulé au niveau de 4 sites de production conchylicole où un suivi de la qualité microbiologique des coquillages (concentrations en

E. coli, phages ARN-F, et détection de la présence de virus entériques) avait été réalisé entre octobre 1999 et mai 2001³ (Figure 12) :

- station de Rosvellec: gisement naturel de palourdes (*Ruditapes philippinarum*), zone classée D,
- station de Roguédas, zone d'élevage d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*), zone classée B,
- station de Creizic, zone d'élevage d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*), zone classée A,
- station de Lern, gisement naturel de palourdes (*Ruditapes philippinarum*), zone classée A. Le modèle actuel ne prend pas en compte les apports de la rivière Noyal (bathymétrie incomplète). Les résultats de simulations pour ce point ne sont présentés qu'à titre indicatif.

4.3.1.2 Simulations d'une situation hivernale et d'une situation estivale

Ces deux simulations sont deux situations ponctuellement rencontrées sur le site d'étude.

a) Simulation d'une situation hivernale

En Bretagne (comme sur le territoire national), l'incidence des gastro-entérites est élevée en hiver (Données du Réseau Sentinelles, Figure 1, Annexe 14). Les NoV sont souvent mis en cause dans les infections hivernales.

Or, des NoV ont été détectés en période hivernale dans les coquillages de ce secteur³. La simulation de rejets de NoV dans les conditions hivernales peut permettre d'apprécier l'impact d'une période de gastro-entérites sur la qualité des coquillages de cette zone.

b) Simulation d'une situation estivale

Des pics plus faibles de gastro-entérites sont parfois également observés en été (Figure 2, Annexe 14). On estime que les entérovirus peuvent être impliqués dans ces infections virales estivales. Ainsi, en l'an 2000, une forte épidémie d'entérovirus a touché le territoire national. Ces virus ont été détectés pendant cette période dans les coquillages provenant du Golfe du Morbihan³.

La simulation d'une épidémie estivale peut apporter des éléments de réponse sur les possibilités de contamination des coquillages présents dans les eaux littorales.

Pour ces deux configurations, des flux spécifiques sont calculés pour chaque point de rejet.

4.3.1.3 Le calcul des flux hivernaux

a) Les débits en sortie de stations

Les débits en sortie ont été suivis pour les 3 stations entre octobre 1999 et mai 2001³. Au vue des résultats, un débit moyen représentatif d'une situation hivernale a été intégré dans le calcul des flux hivernaux.

b) Les concentrations en microorganismes

³ Rapport LITEAU, IFREMER, diffusion restreinte.

Des suivis de la qualité microbiologique des eaux de sortie ont été réalisés pour les 3 stations sur la même période que les débits³, et des concentrations en *E. coli* et en phages ARN-F ont été mesurées.

Le calcul des flux hivernaux prend en compte les concentrations maximales mesurées pour ces microorganismes.

En l'absence de valeurs de concentration en virus entériques dans les eaux rejetées par les 3 stations, des valeurs ont été recherchées dans la littérature. La seule donnée disponible pour les NoV a été mesurée dans des eaux ayant subi un traitement secondaire (Laverick C.K. *et al.*, 2004). La concentration maximale qui a été trouvée est de $1,7 \cdot 10^4$ copies de génome de NoV par 100 mL. Aussi, dans notre simulation, on retiendra une concentration de 10^4 copies de génome de NoV par 100 mL d'eaux traitées.

c) Les flux calculés en situation hivernale

Les flux de NoV, d'*E. coli* et de phages ARN-F émis par les 3 stations en situation hivernale sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7. Flux de microorganismes entériques émis par les 3 stations d'épuration dans le cas d'une situation hivernale.

Station d'épuration	Vannes-Tohannic	Arradon	Séné-Le Ranquin
Débit Moyen (m ³ .jour ⁻¹)	10 000	1 200	200
Concentration maximale en <i>E. coli</i> (UFC.100 mL ⁻¹)	$8,0 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^6$
Flux hivernaux de <i>E. coli</i> (UFC.jour ⁻¹)	$8,0 \cdot 10^{13}$	$6,5 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{12}$
Concentration maximale en Phages ARN-F (UFP.100 mL ⁻¹)	$1,0 \cdot 10^4$	$8,3 \cdot 10^5$	$2,4 \cdot 10^4$
Flux hivernaux de Phages ARN-F (UFP.jour ⁻¹)	$1,0 \cdot 10^{12}$	$1,0 \cdot 10^{13}$	$4,8 \cdot 10^{10}$
Concentration en NoV (séquences de génome.100 mL ⁻¹)	10^4	10^4	10^4
Flux hivernaux de NoV (séquences de génome. jour ⁻¹)	$1,0 \cdot 10^{12}$	$1,2 \cdot 10^{11}$	$2,0 \cdot 10^{10}$

4.3.1.4 Le calcul des flux estivaux

a) Les débits en sortie de stations

Pour le principal apport, la STEP de Vannes-Tohannic, les débits varient très peu d'une saison à l'autre, la ville étant une zone de transit touristique (Communication personnelle B. Perrot, Mairie de Vannes). De ce fait, le même débit qu'en période hivernale est retenu (débit moyen mesuré entre octobre 1999 et mai 2001³).

b) Les concentrations en microorganismes

Pour la situation estivale, les concentrations moyennes obtenues lors du suivi³ des stations d'épuration entre 1999 et 2001 sont utilisées pour le calcul des flux de *E. coli* et de phages.

Concernant les concentrations en entérovirus dans les eaux traitées, la seule donnée obtenue par RT-PCR dont nous disposons est de $5,4 \cdot 10^6$ copies de génome par 100 mL (Schoeverer E. *et al.*, 2001). Elle a été mesurée en période estivale sur la station d'épuration de Bordeaux. Dans cette station d'épuration, malgré l'existence d'un traitement par U.V., l'abattement en entérovirus était faible. Aussi, nous retiendrons dans la situation estivale une concentration en entérovirus des eaux traitées de $5 \cdot 10^6$ copies de génome par 100 mL.

c) Les flux calculés en situation estivale

A partir des données de débit et de concentration en période estivale, des flux d'émission d'entérovirus, d'*E. coli* et de phages ARN-F ont été calculés pour les 3 stations d'épuration et sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8. Flux de microorganismes entériques émis par les 3 stations d'épuration dans le cas d'une situation estivale.

Station d'épuration	Vannes-Tohannic	Arradon	Séné-Le Ranquin
Débit Moyen (m ³ .jour ⁻¹)	10 000	1 200	200
Concentration moyenne en <i>E. coli</i> (UFC.100 mL ⁻¹)	$1,9 \cdot 10^5$	$8,4 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^5$
Flux estivaux de <i>E. coli</i> (UFC.jour ⁻¹)	$1,9 \cdot 10^{13}$	$1,0 \cdot 10^{12}$	$1,6 \cdot 10^{12}$
Concentration moyenne en Phages ARN-F (UFP.100 mL ⁻¹)	$2,8 \cdot 10^3$	$6,8 \cdot 10^3$	$5,4 \cdot 10^3$
Flux estivaux de Phages ARN-F (UFP.jour ⁻¹)	$2,8 \cdot 10^{11}$	$8,2 \cdot 10^{10}$	$1,1 \cdot 10^{10}$
Concentration en entérovirus (séquences de génome.100 mL ⁻¹)	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$
Flux estivaux d'entérovirus (séquences de génome.jour ⁻¹)	$5,0 \cdot 10^{14}$	$6,0 \cdot 10^{13}$	$1,0 \cdot 10^{13}$

4.3.1.5 Les valeurs de T₉₀ intégrées au modèle

A partir des données de la bibliographie, des valeurs minimales et maximales de T₉₀ ont été déterminées pour les virus entériques, les *E. coli* et les phages ARN-F, et ce en conditions de lumière et d'obscurité (Cf. Chapitre 3).

Afin de tenir compte de la situation locale, c'est-à-dire de l'effet jour-nuit, des variations d'ensoleillement entre l'été et l'hiver (en intensité et durée) et de l'existence d'une

couverture nuageuse, les valeurs de T_{90} ont été pondérées pour des situations estivale et hivernale (Tableau 9).

Tableau 9. Valeurs de T_{90} retenues pour les simulations de rejets de virus entériques, de phages ARN-F et de *E. coli*, en situation estivale et hivernale.

T_{90} (jours)	Situation estivale	Situation hivernale
<i>E. coli</i>	0,5	1
Phages	3	7
Virus	4	30

4.3.1.6 Durée des rejets

Afin d'allier les informations sur les durées d'excrétion des NoV et des entérovirus, aux capacités de calculs du modèle, le temps d'émission des rejets sur le secteur a été fixé à 17 jours, et ce pour les 2 situations.

4.3.2 Résultats des simulations de rejets de virus entériques

4.3.2.1 Allure des courbes de simulation

Les simulations, obtenues aux points "Coquillages" Rosvellec, Roguédas, Creizic et Lern, présentent toute la même allure, pouvant être divisée en 3 phases (Figure 13).

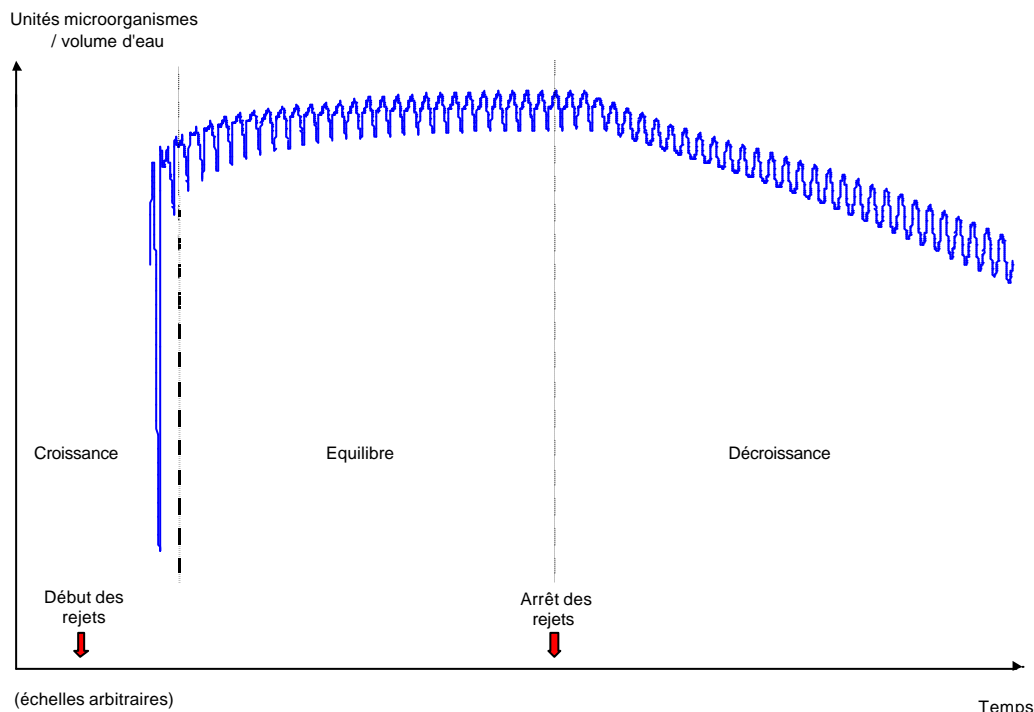


Figure 13. Allure des simulations de rejets de microorganismes entériques à un point d'observation du secteur d'étude.

Au départ, la concentration en virus est nulle dans tout le secteur. Lorsque les rejets débutent, des panaches de dispersion vont se propager et atteindre les points d'observation. Ainsi, la concentration en virus augmente en chaque site. C'est la phase dite de croissance.

Au fur et à mesure que les rejets sont émis, la combinaison de flux entrant, de flux sortant et d'une inactivation d'une partie des virus (T_{90}) conduit à un état d'équilibre de la concentration en virus. Durant cette phase, le site reçoit des apports continus de virus. Aussi, plus cette période de rejets durera, plus les possibilités de contamination des coquillages en NoV seront accrues.

Quand les rejets s'arrêtent, la concentration en virus au point va progressivement diminuer : une phase de décroissance s'amorce ; elle sera d'autant plus rapide que le T_{90} sera faible.

Sous l'effet des marées, les valeurs de concentration en virus présentent des fluctuations sinusoidales. Ainsi, pendant la phase d'équilibre, on observe un plateau de valeurs minimales et un plateau de valeurs maximales entre lesquels les concentrations oscillent.

4.3.2.2 Résultats de la simulation hivernale pour les NoV

Les résultats de la simulation de rejets de NoV en situation hivernale aux points de suivi sont présentés à la Figure 14.

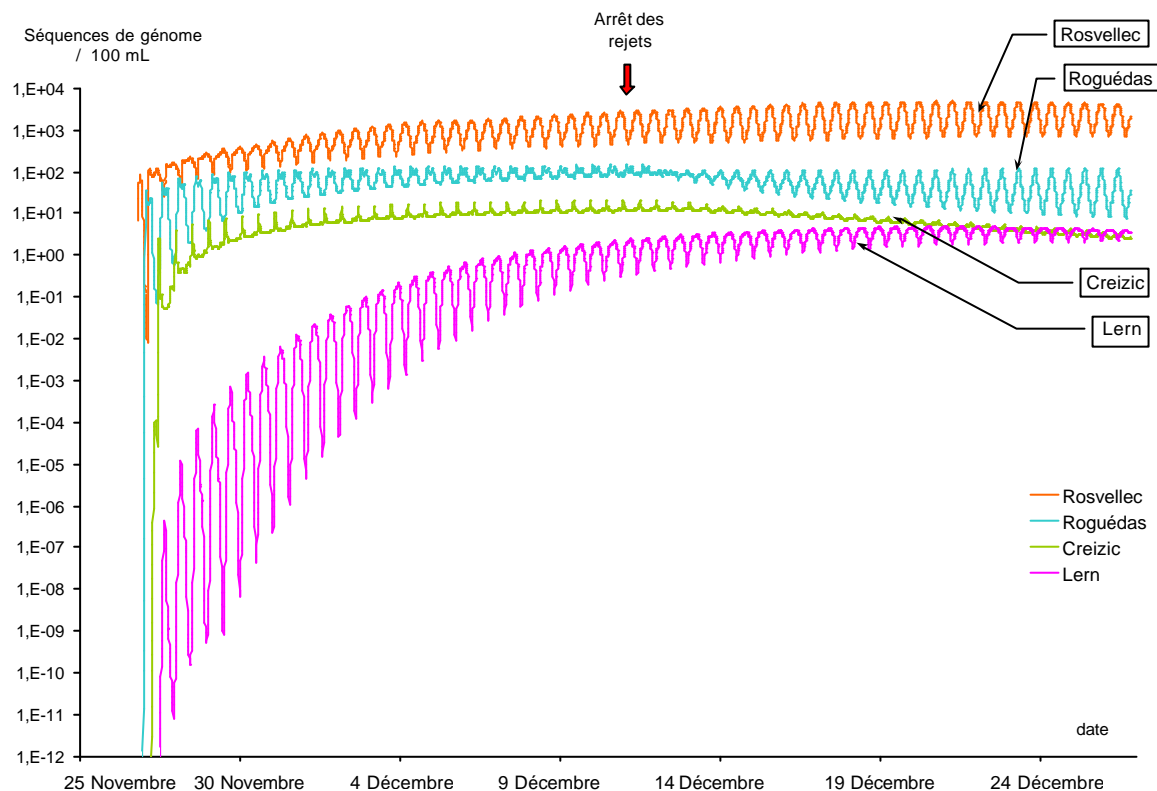


Figure 14. Résultats de la simulation de rejets de NoV en situation hivernale, aux points de suivi.

Plusieurs observations peuvent être faites sur l'allure des courbes obtenues par simulation du rejet de NoV en situation hivernale.

a) La phase de croissance

Dans la situation de rejets simulée, il faut 40 à 48 heures de rejets continus pour que des panaches de NoV arrivent sur les 4 sites ; Rosvellec étant le premier contaminé et Lern le dernier. Par ailleurs, plus le point d'observation est éloigné des rejets et plus la concentration en NoV de ces premiers panaches diminue par effet de dilution.

Une phase d'équilibre s'installe environ 5 jours après le début des rejets à Rosvellec, Roguédas et Creizic. Il s'agit plutôt d'un pseudo-équilibre, car les concentrations continuent à légèrement augmenter. L'allure de la courbe pour le point Lern montre que la

concentration en NoV atteint plus progressivement encore un plateau (au bout d'environ 15 à 20 jours).

En conclusion, quelques jours suffisent à contaminer une grande partie du secteur.

b) Les concentrations en NoV à l'équilibre

Les valeurs minimales et maximales de concentration en NoV à l'équilibre pour chaque site sont données dans le Tableau 10.

Tableau 10. Concentrations minimales et maximales en NoV à l'équilibre, aux points de suivi.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en NoV à l'équilibre (particules virales.100 mL ⁻¹)	300 – 2 600	65 – 140	10 – 21

Le point Rosvellec situé au droit de la zone de rejets des stations de Vannes et de Séné est le plus contaminé avec une concentration moyenne à l'équilibre d'environ 500 particules virales de NoV par 100 mL. Les points Roguédas et Creizic ont des concentrations de l'ordre respectivement de 10 et de 1 particules virales par 100 mL. Enfin, le site de Lern est le moins contaminé avec une concentration au maximum de 5 particules virales de NoV par 100 mL. Par ailleurs, on remarque que les concentrations en ce point varient de façon importante sous l'effet des marées.

c) La phase de décroissance

Compte tenu de la persistance virale ($T_{90}= 30$ jours), la durée de simulations (1 mois) est trop courte pour observer une réelle phase de décroissance.

A Roguédas et surtout à Creizic, les concentrations commencent à décroître peu après l'arrêt des rejets. Mais, à Rosvellec et Lern, les concentrations restent jusqu'à la fin de la simulation (30 jours) à un état d'équilibre. La décontamination de ces points semble plus longue. Pour Rosvellec, ceci est sans doute lié à sa forte contamination (proximité des rejets) et au confinement du secteur. Au niveau de Lern, les panaches arrivent plus tardivement, c'est pourquoi la phase de décontamination est retardée.

4.3.2.3 Discussion autour des résultats de la simulation de rejets de NoV en période hivernale

a) Effet d'une variation des flux

Un premier travail de simulation de rejets de NoV a été effectué sur ce secteur³. La concentration en NoV des eaux usées avait été déterminée à partir d'un taux d'attaque moyen de 6% des NoV en période hivernale, de données d'excrétion chez le malade (concentration de 10^5 particules de NoV /g de selles, 3×100 g selles/jour et /malade), et du nombre d'équivalents-habitants pour chaque station. Les flux calculés dans cette étude sont inférieurs d'environ 1 à 2 unités Log_{10} aux flux de la simulation présente, et ce pour de mêmes valeurs de débit. De ce fait, les résultats de concentrations en NoV obtenues dans ce précédent travail, aux points de suivis Rosvellec, Roguédas et Creizic, sont inférieurs de 1 à 2 unités Log_{10} aux valeurs de concentration trouvées ici (et ce pour des T_{90} similaires).

Il serait intéressant dans une étude ultérieure d'avoir des données quantitatives en NoV pour valider ces simulations.

c) Possibilités d'accumulation des virus dans les coquillages

Un ratio d'accumulation eau/coquillages peut être appliqué aux concentrations en NoV trouvées dans les eaux littorales. Ainsi, à partir d'un ratio moyen de 1/10 (Burkhardt W. III & Calci K.R., 2000), on obtient les valeurs suivantes de concentrations dans les coquillages (Tableau 11).

Tableau 11. Concentrations en NoV obtenues dans les coquillages des sites de Rosvellec, Roguédas, Creizic et Lern, par application d'un ratio eau/coquillages de 1/10.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en NoV dans les coquillages (séquences de génome de NoV.100 g ⁻¹ de chair et liquide intervalvaire)	3 000 – 26 000	650 – 1 400	100 – 210

D'après Loisy F. *et al.* (2004B), la limite de détection des NoV dans les coquillages est de l'ordre de 100 séquences de génome/ coquillage, soit environ 600 séquences de génome /100 g de chair et de liquide intervalvaire. Dans ces conditions, les valeurs estimées montrent que des particules de NoV devraient être systématiquement détectées dans les coquillages de Rosvellec et éventuellement dans ceux de Roguédas. Au Creizic, les NoV ne peuvent être détectés dans les coquillages.

Cependant, ces résultats de simulations dans les coquillages à Rosvellec et Roguédas ne concordent pas totalement avec ceux obtenus sur le terrain. En effet, dans les coquillages prélevés mensuellement sur le secteur entre octobre 1999 et mai 2001³, des NoV ont été détectés 2 fois seulement sur ces deux sites. Les divergences entre les résultats simulés et les résultats mesurés proviennent soit des hypothèses prises dans le modèle (ex: flux continu, durée des rejets, T₉₀ choisis), ou soit des limites de l'analyse virale des coquillages (présence d'inhibiteurs, sensibilité de la méthode).

Il est néanmoins intéressant de noter que le modèle reflète approximativement des probabilités de détecter des virus aux points échantillonnés qui paraissent cohérentes.

4.3.2.4 Contexte par rapport à un rejet en indicateur fécal et en phages ARN-F

Les simulations de rejets des *E. coli* et des phages ARN-F ont donné les concentrations suivantes dans les eaux côtières (Tableau 12).

Tableau 12. Concentrations minimales et maximales en *E. coli* et en phages ARN-F à l'équilibre, aux points de suivi, pour une situation hivernale.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en <i>E. coli</i> (UFC.100 mL ⁻¹)	12 – 120	0,1 – 15	0,03 – 0,8
Concentrations minimales – maximales en phages ARN-F (UFP.100 mL ⁻¹)	4 – 11	7 - 70	2,5 – 7,2

a) Concentrations en *E. coli* dans les coquillages

Afin de vérifier la consistance des résultats *E. coli* avec la situation du site, on a estimé les quantités de *E. coli* pouvant être détectées dans les coquillages et comparer ces résultats au classement des zones conchylicoles dans lesquelles se situent les points de suivis.

Un ratio d'accumulation eau/coquillages communément utilisé de 1/30 a été appliqué aux résultats de concentration en *E. coli*. Les concentrations en *E. coli* obtenues dans les coquillages sont présentées dans le Tableau 13.

Tableau 13. Concentrations minimales et maximales en *E. coli* dans les coquillages aux points de suivi, pour une situation hivernale.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en <i>E. coli</i> dans les coquillages (UFC.100 g ⁻¹)	360 – 3 600	3 – 450	0,9 – 24

Dans ces conditions, les coquillages du site de Rosvellec sont d'un niveau de classement B, et les coquillages des stations Roguédas et Creizic sont de niveau A.

Les résultats REMI (Ifremer) montrent que Rosvellec est classé en D et les 3 autres sites en A. Ainsi, nos simulations donnent des résultats inférieurs à la situation locale de Rosvellec. Les explications possibles de cette différence observée peuvent être attribuées soit à un problème local du modèle, soit à une non-prise en compte d'un point de rejet, soit à une sous-estimation des flux utilisés dans la simulation.

b) Concentration en phages ARN-F dans les coquillages

Le projet DG/SANCO concernant la qualité microbiologique des aliments proposait d'utiliser comme indicateur de la contamination virale des coquillages les phages ARN-F. Dans ce cadre, la concentration maximale en phages dans les produits autorisés à la vente avait été fixée à 100 phages ARN-F par 100 g de chair de coquillages. Au-dessus de cette valeur, les coquillages devaient être purifiés. Il était intéressant d'évaluer le niveau de classement des coquillages du secteur suivant le critère de ce projet.

A partir des résultats de concentration en phages ARN-F dans les eaux côtières obtenus par les simulations, on peut estimer les concentrations dans les coquillages en appliquant un ratio eau/coquillages de 1/50 (Burkhardt W. III & Calci K.R, 2000) (Tableau 14).

Tableau 14. Concentrations minimales et maximales en phages ARN-F dans les coquillages aux points de suivi, en situation hivernale.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en Phages ARN-F dans les coquillages (UFP.100 g ⁻¹)	200 - 550	350 – 3 500	125 –360

Dans les conditions du projet DG/SANCO, les coquillages des 3 sites auraient un niveau en phages ARN-F qui exigerait une purification avant la vente.

Dans le suivi réalisé entre octobre 1999 et mai 2001³, les concentrations moyennes en phages ARN-F mesurées dans les coquillages étaient respectivement pour Rosvellec, Roguédas et Creizic, de 17 565, 619 et 169 phages ARN-F/100 g. Les résultats de la simulation sous-estiment la situation locale à Rosvellec, mais sont cohérents pour les deux autres sites. Une sous-estimation des flux de phages ARN-F ou la non-prise en

compte d'autres sources de rejets dans le secteur de Rosvellec sont des explications possibles aux résultats de la simulation.

4.3.2.5 Résultats de la simulation estivale pour les entérovirus

Les variations des concentrations en entérovirus aux points de suivis sont présentées à la Figure 15.

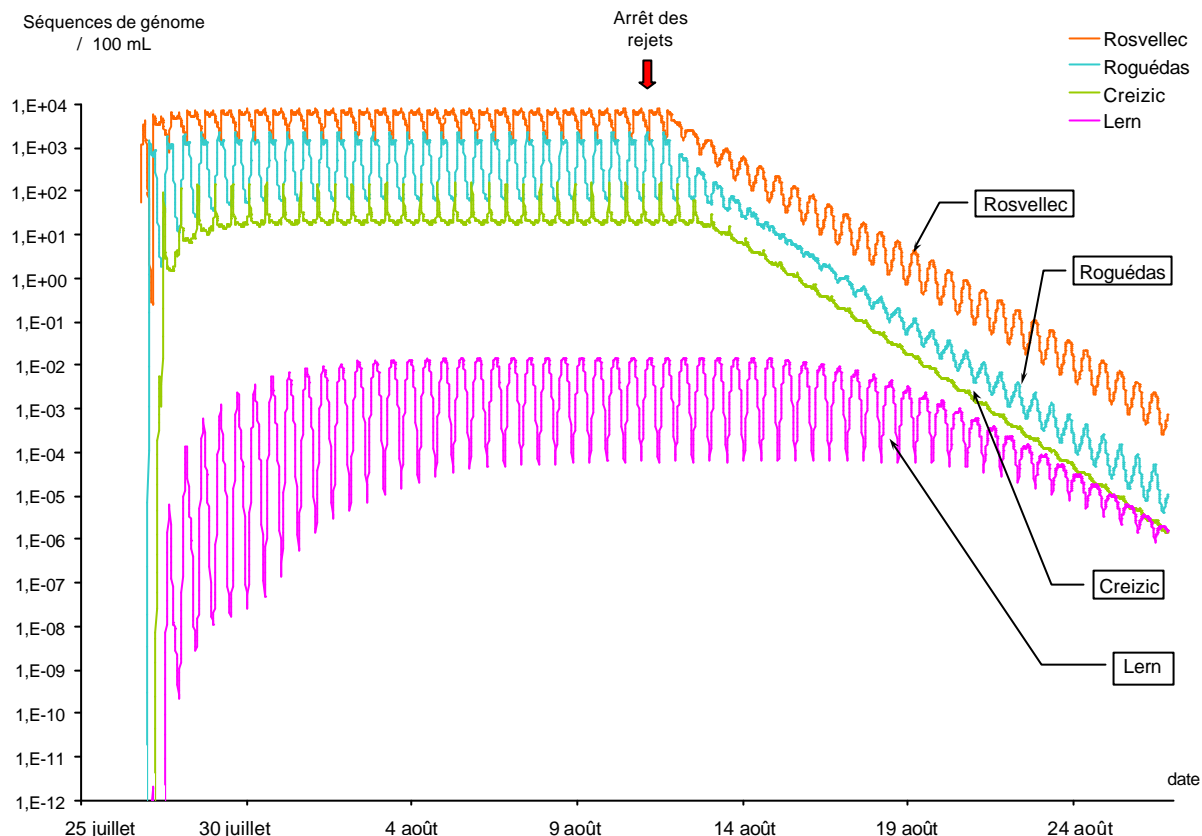


Figure 15. Résultats de la simulation de rejets d'entérovirus, en situation estivale, aux points de suivis.

a) Allure des courbes de concentrations en entérovirus

Les courbes de concentrations en entérovirus ont pratiquement la même allure que celles de la simulation des NoV de la situation hivernale.

La phase de décroissance pour les 4 sites est beaucoup plus prononcée en situation estivale de rejets d'entérovirus que pour la situation de rejets de NoV. Ainsi, on peut estimer au point Creizic que la concentration en entérovirus diminue d'environ une unité Log_{10} en 3 jours. La différence de valeurs de pente entre les deux situations est attribuable à la différence de T_{90} . Le T_{90} de la situation estivale étant inférieur à celui de la situation hivernale (respectivement 4 et 30 jours), l'inactivation est plus rapide pour le scénario estival et donc la pente de décroissance des concentrations plus grande.

b) Les concentrations à l'équilibre

Les concentrations minimales et maximales en entérovirus observées pour chaque site à l'équilibre sont présentées dans le Tableau 15.

Tableau 15. Concentrations minimales et maximales en entérovirus aux points de suivi, en situation estivale.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en entérovirus (séquences de génome. 100 mL ⁻¹)	1 500 – 7 900	65 – 2 250	17 - 150

On retrouve la même hiérarchie de contamination des points que dans la simulation de rejets de NoV: Rosvellec est le point le plus contaminé, puis Roguédas, ensuite Creizic et enfin Lern. Il n'est pas évident de comparer ces résultats aux concentrations obtenues pour les NoV car des différences importantes existent entre les 2 scénarii (flux et valeurs de T₉₀).

4.3.2.6 Discussion autour des résultats de la simulation de rejets d'entérovirus en période estivale

a) Possibilité d'accumulation des entérovirus dans les coquillages

En prenant comme dans le cas des NoV un ratio eau/coquillages de 1/10, on obtient les concentrations en entérovirus dans les coquillages présentées dans le Tableau 16.

Tableau 16. Concentrations minimales et maximales en entérovirus dans les coquillages, en situation estivale.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en entérovirus dans les coquillages (séquences de génome. 100 g ⁻¹)	15 000 – 79 000	650– 22 500	170 – 1 500

D'après ces résultats, et en considérant que la limite de détection des virus dans les coquillages est d'environ 600 séquences de génome /100 g de chair et de liquide intervalvaire (Loisy F. et al., 2004), des entérovirus devraient être détectés systématiquement à Rosvellec, régulièrement à Roguédas et ponctuellement à Creizic.

Dans les prélèvements réalisés mensuellement entre 1999 et 2001³, des entérovirus ont été détectés dans les coquillages des 3 sites : une fois sur 17 prélèvements à Rosvellec, 7 fois sur 17 à Roguédas, et 5 fois sur 18 à Creizic. Les résultats modélisés surestiment les données réelles à Rosvellec. Les différences observées résultent des hypothèses choisies, en particulier des quantités d'entérovirus dénombrées dans les eaux traitées (une même concentration, trouvée dans la littérature, est utilisée pour les 3 stations d'épuration).

b) Comparaison des techniques RT-PCR et culture cellulaire

Plusieurs données de la littérature donnent des concentrations en entérovirus infectieux dans les eaux usées et traitées de STEP. Ainsi, les concentrations mesurées dans les eaux traitées sont de l'ordre de 1 virus infectieux par 100 mL (Gantzer C. et al., 1998). A partir de cette valeur, des flux de rejets d'entérovirus infectieux peuvent être calculés et intégrés au modèle (Tableau 17).

Tableau 17. Flux d'entérovirus infectieux émis dans le cas d'une situation estivale.

Station d'épuration	<i>Vannes-Tohannic</i>	<i>Arradon</i>	<i>Séné-Le Ranquin</i>
Débit Moyen (m ³ .jour ⁻¹)	10 000	1 200	200
Flux estivaux d'entérovirus infectieux (UFP.jour ⁻¹)	10 ⁸	1,2.10 ⁷	2.10 ⁶

A partir des valeurs de concentration en entérovirus infectieux dans l'eau de mer, un ratio eau/coquillages de 1/10 peut être utilisé afin de déterminer des concentrations dans les coquillages (Tableau 18).

Tableau 18. Concentrations en entérovirus infectieux dans les coquillages dans le cas d'une situation estivale.

	Rosvellec	Roguédas	Creizic
Concentrations minimales – maximales en entérovirus infectieux dans les coquillages (séquences de génome. 100 g ⁻¹)	1,5.10 ⁻² – 8,0.10 ⁻²	6,5.10 ⁻⁴ – 2,3.10 ⁻³	1,7.10 ⁻⁵ – 1,5.10 ⁻⁴

Ces résultats montrent de faibles concentrations en entérovirus infectieux dans les coquillages.

Aucune donnée n'est disponible pour valider les résultats des simulations avec ceux de la situation locale. Cependant, en l'an 2000, une forte épidémie en entérovirus a eu lieu et des séquences d'entérovirus avaient été détectées de façon importante dans les coquillages.

4.4 Conclusions

En l'absence de mesures de terrain, et afin de mieux comprendre la dynamique de dispersion des rejets de virus dans les eaux côtières et conchylicoles, l'utilisation d'un modèle hydrodynamique peut apporter de nombreuses informations. Cet outil peut renseigner notamment sur les déplacements de flux de virus rejetés dans les eaux littorales, le rôle des conditions hydrodynamiques et climatiques sur la dispersion des panaches, la zone impactée par un rejet ponctuel, les niveaux de contamination virale pouvant être attendus.

Cependant, de nombreuses imprécisions entrent en jeu dans la simulation de rejets de virus comme par exemple dans le calcul des flux, la détermination des T₉₀, la durée d'émission des rejets, le ratio eau/coquillages utilisé.

Des données obtenues en situation locale, comme les concentrations en virus des eaux épurées ou les temps de survie des virus dans les eaux côtières, sont nécessaires pour valider cette approche.

Conclusion Générale

Depuis le début des années 90, les techniques de biologie moléculaire permettent de détecter les norovirus (NoV) dans l'environnement et, grâce à la mise au point de la technique RT-PCR en temps réel, des quantifications de NoV sont également possibles depuis peu de temps. Bien que peu nombreuses, ces informations sont intéressantes, et proviennent aussi bien d'études épidémiologiques qu'environnementales. Ce travail rassemble une partie des données récentes trouvées dans la littérature.

Agents du plus grand nombre de gastro-entérites non bactériennes, les NoV sont très infectieux et principalement transmis par contact entre personnes. L'eau de boisson et les aliments, notamment les coquillages, peuvent servir de vecteurs. De plus en plus de toxico-infections alimentaires collectives causées par ces virus sont rapportées. Emis en quantités importantes par les malades, en particulier en période hivernale, les NoV sont excrétés pendant plusieurs semaines dans le milieu extérieur. Du fait de leur grande résistance dans l'environnement et face aux traitements épuratoires, les NoV sont retrouvés dans les eaux usées, les eaux traitées et les cours d'eau. Une partie des virus va transiter jusqu'aux eaux littorales et y persister plusieurs semaines. Une contamination virale des coquillages est alors possible.

Un essai d'appréciation de l'impact des NoV sur l'environnement littoral a été réalisé dans ce travail en utilisant un modèle hydrodynamique appliqué sur deux secteurs conchylicoles (région de St-Vaast-La-Hougue dans le nord-est Cotentin, et Golfe du Morbihan). A partir des données de la littérature, une estimation des temps de survie des virus entériques et des flux émis par les cours d'eau et les stations d'épuration dans la situation locale a été effectuée. Les résultats des simulations de rejets de microorganismes entériques ont fourni des renseignements sur leur dispersion dans les eaux littorales qui est fortement influencée par la dynamique locale (marées). Les possibilités de contamination des zones conchylicoles peuvent être importantes du fait de la grande persistance des virus même après l'arrêt des rejets. Une estimation de l'accumulation des virus dans les coquillages a donné des résultats intéressants comparativement à la situation locale.

Cependant, face aux données limitées sur les concentrations en NoV dans les différents compartiments de l'environnement, il est difficile d'évaluer quantitativement la contamination virale des coquillages et son impact potentiel en santé publique.

La démarche d'évaluation des risques peut constituer pour cela un outil intéressant. Elle repose sur quatre étapes fondamentales : 1/ identification du danger, 2/ choix de la valeur toxicologique de référence, 3/ estimation des expositions, 4/ caractérisation des risques. Peu d'études ont évalué les risques associés à la consommation de coquillages contaminés par des virus entériques. On peut cependant citer les travaux de Rose & Sobsey (1993) qui ont utilisé un modèle dose-réponse pour évaluer ces risques dans le cas de virus peu infectieux (modèle echovirus 12) et très infectieux (modèle rotavirus). Dans cette étude, l'exposition a été déterminée en multipliant le nombre de particules virales par gramme de coquillages par la quantité de coquillages consommés par an par la population américaine. A l'issue de leur travail, ils estiment que, suite à la consommation d'un coquillage, un individu a une chance sur 100 d'être infecté par un virus peu infectieux et 5 chances sur 100 lorsqu'il s'agit du rotavirus. Pour Bosch *et al.* (1994), le risque rotavirus est compris entre 1,5 et 54 pour 100 selon que le coquillage a subi une épuration. Ross et Sumner (2002) fournissent d'autres informations sur les risques d'être infecté par le virus de l'hépatite A en consommant des coquillages. Ils estiment que la présence d'une unité UFP de virus peut suffire à infecter un consommateur sur 500. Rapportées au nombre de TIACs virales déclarées en France,

pays de forte consommation d'huîtres, ces évaluations paraissent très pessimistes (Zidane M. & Pommepuy M. 2003). En effet, 15 TIACs liées à la consommation de coquillages sont en moyenne déclarées chaque année. Cependant, ce chiffre sous-évalue très certainement le risque coquillages. Il serait intéressant d'approfondir ce type d'investigation pour évaluer le risque viral réel associé à la consommation d'huîtres dans notre pays à partir de données trouvées sur le littoral.

En ce qui concerne la consommation accidentelle d'eaux contaminées lors de la baignade, Gerba *et al.* (1996) ont déterminé les risques d'infections à rotavirus. Ils estiment que, pour une faible concentration de virus dans l'eau, le risque est de $1,4.10^{-2}$ pour un jour d'exposition. Lopez-Pila & Szewzyk (2000) ont également travaillé sur le risque rotavirus dans les eaux de baignade et estimé ce risque à 1,6 pour 1000 lorsque le baigneur ingère 100 mL d'eau.

En fonction des risques estimés de contamination virale associée aux coquillages ou à la baignade, une démarche de gestion de ces risques peut être engagée. Concernant les NoV, des données quantitatives sur leur présence et leur infectiosité dans l'environnement manquaient jusqu'à aujourd'hui pour permettre d'estimer les risques associés à la consommation de coquillages contaminés. L'avènement de la technique moléculaire RT-PCR en temps réel ouvre des perspectives dans ce sens : des quantifications de particules de NoV dans les échantillons de l'environnement sont maintenant possibles, même si leur infectiosité reste inconnue.

Par ailleurs, on assiste ces dernières années à une prise en compte générale du rôle des aliments et de l'environnement dans la transmission d'agents infectieux tels que les NoV. Ainsi, en Europe, un réseau de surveillance et de recherche sur les infections alimentaires virales, le réseau "Foodborne viruses in Europe" (projet piloté par M. Koopmans, RIVM, Pays-Bas), a été créé et rassemble une dizaine de pays dont la France. Ses objectifs sont d'harmoniser les méthodes de recherche, de créer une banque de données, d'évaluer l'impact réel des aliments et d'échanger rapidement des informations en cas d'épidémie.

Parallèlement à cela, en France, sous l'égide de plusieurs ministères, le Plan National Santé Environnement a été mis en place. Il a pour but d'établir un diagnostic de l'état des risques sanitaires liés à l'environnement et de concevoir des actions à mettre en œuvre afin d'améliorer la santé des Français en lien avec la qualité de l'environnement, dans une perspective de développement durable.

Bibliographie

- Akin E.W. *et al.*, "Enteric viruses in ground and surface waters: a view of their occurrence and survival", in *Water quality: occurrence and control*, Thirteenth Water Quality Conference Proceeding, University of Illinois, Urbana-Champaign, pp. 59-74, 1971
- Atmar R.L. *et al.*, "Detection of Norwalk virus and Hepatitis A virus in shellfish tissues with the PCR", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 61, pp. 3014-3018, 1995
- Barrett E.C. *et al.*, "Microbial indicator removal in onsite constructed wetlands for wastewater treatment in the southeastern U.S", *Water Science and Technology*, Vol. 44, N° 11-12, pp. 177-182, 2001
- Bates J. *et al.*, "The detection of rotaviruses in products of wastewater treatment", *Journal Of Hygiene*, Vol. 93, N° 3, pp. 639-643, 1984
- Bellair J.T. *et al.*, "Significance of diurnal variations in fecal coliform die-off rates in the design of ocean outfalls", *Journal Water Pollution CF*, pp. 2022-2030, 1977
- Benyahya M. *et al.*, "Les virus des eaux usées et leur élimination au cours des traitements pollués", *Année Biologique*, Vol. 78, pp. 95-105, 1998
- Borchardt M.A. *et al.*, " Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, N°2, pp. 1172-1180, 2003
- Bosch A. *et al.*, "Occurrence of enteroviruses in marine sediment along the coast of Barcelona, Spain", *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 34, N°7, pp. 921-924, 1988
- Bosch A. *et al.*, "Persistence of human astrovirus in fresh and marine water", *Water Science and Technology*, Vol. 35, N°11-12, pp. 243-247, 1996
- Burkhardt W. III & Calci K.R., "Selective Accumulation May Account for Shellfish-Associated Viral Illness", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 66, N°4, pp. 1375-1378, 2000
- Butt A. A. *et al.*, "Infections related to the ingestion of seafood. Part I: viral and bacterial infections", *The Lancet Infectious Diseases*, Vol. 4, N°4, Pages 201-212, 2004
- Callahan K.M. *et al.*, "Comparative survival of hepatitis A virus, poliovirus and indicator viruses in geographically diverse seawaters", *Water Science and Technology*, Vol. 31, N°5-6, pp., 189-193, 1995
- Canteras J.C. *et al.*, "Modelling the coliforms inactivation rates in the Cantabrian sea (Bay of Biscay) from *in situ* and laboratory determinations of T₉₀", *Water Science and Technology*, Vol. 32, N°2, pp. 37-44, 1995
- Center for Disease Control and Prevention (CDC), "Norwalk-like virus outbreaks at two summer camps - Wisconsin, June 200", *Journal of the American Medical Association*, Vol. 286, N°10, p. 1172, 2001
- Chikhi-Brachet R. *et al.*, "Virus diversity in a winter epidemic of acute diarrhea in France", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 40, N°11, pp. 4266-4272, 2002
- Chung H. & Sobsey M.D., "Comparative survival of indicator viruses and enteric viruses in seawater and sediment", *Water Science and Technology*, Vol. 27, N°3-4, pp. 425-428, 1993
- Corre S. *et al.*, "Quantification et survie des bactéries dans les eaux du Coët-Dan", in *Pollutions diffuses : du bassin versant au littoral*, Coordinateur Michel Merceron, Actes de colloques, Ed. Ifremer, 350 p., 1999

- Crance J.M. *et al.*, "Effect of temperature on the survival of hepatitis A virus and its capsidal antigen in synthetic seawater", *Environ.-Toxicol.-Water-Qual.* Vol. 13, N° 1, pp. 89-92, 1998
- Daniels N.A. *et al.*, "A foodborne outbreak of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses: first molecular traceback to deli sandwiches contaminated", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 181, N°4, pp. 1467-1470, 2000
- Derolez V., "Méthode de caractérisation de la fragilité microbiologique des zones conchylicoles", *Mémoire d'Ingénieur du Génie Sanitaire, ENSP (Rennes)*, 49 pp., 2003
- Dowell S.F. *et al.*, "A multistate outbreak of oyster-associated gastroenteritis: implications for interstate tracing of contaminated shellfish", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 171, pp. 1497-1503, 1995
- Durán A.E. *et al.*, "Removal and inactivation of indicator bacteriophages in fresh waters", *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 92, pp. 338-347, 2002
- Durand A., "Etudes de la qualité bactériologique sur la zone ostréicole des baies de Saire et Morsaline", *Stage de Maîtrise des Sciences et Techniques de l'environnement à l'IFREMER de Port-en-Bessin, Université des Sciences de Rouen*, 2003
- Enriquez C.E. *et al.*, "Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap, sea, and waste water", *Water Research*, Vol. 29, N°11, pp. 2548-2553, 1995
- Formiga-Cruz M. *et al.*, "Distribution of human virus contamination in shellfish from different growing areas in Greece, Spain, Sweden, and the United Kingdom", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, N°12, pp. 5990-5998, 2002
- Gantzer C. *et al.*, "Devenir des virus entériques en milieu marin et influence des facteurs environnementaux", *Oceanologica Acta*, Vol. 21, N°6, pp. 983-992, 1998A
- Gantzer C. *et al.*, "Detection of infectious enteroviruses, enterovirus genomes, somatic coliphages, and *Bacterioides fragilis* phages in treated wastewaters", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 64, N°11, pp. 4307-4312, 1998B
- Gary G.W. *et al.*, "Norwalk virus antigen and antibody response in an adult volunteer study", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 25, N° 10, pp. 2001-2003, 1987
- Gassiloud B. *et al.*, "Presence of viral genomes in mineral water: a sufficient condition to assume infectious risk ?", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, N°7, pp. 3965-3969, 2003
- Gerba C.P. *et al.*, "Waterborne rotavirus : a risk assess", *Water Research*, Vol. 30, N°12, pp. 2929-2940, 1996
- Gerba C.P., "Assessment of enteric pathogen shedding by bathers during recreational activity and its impact on water quality", *Quantitative microbiology*, Vol. 2, pp. 55-68, 2000
- Girones R. *et al.*, "Natural inactivation of enteric viruses in seawater", *J. Environ. Qual.*, Vol. 18, pp. 34-39, 1989
- Glass R.I. *et al.*, "The Epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 181(Suppl. 2), pp. S254-261, 2000
- Godoy P. *et al.*, "Norwalk virus-like food poisoning after eating oysters", *Medicina Clinica*, Vol. 114, N° 20, pp. 765-768, 2000
- Graham D.Y. *et al.*, "Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 170, N° 1, pp. 34-43, 1994
- Green D. H. *et al.*, "Comparative detection of enteric viruses in wastewaters, sediments and oysters reverse transcription-PCR and cell culture", *Water Research*, Vol. 33, N°5, pp. 1195-1200, 1999

- Griffin D.W. *et al.*, "Pathogenic human viruses in coastal waters", *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 16, N°1, pp. 129-143, 2003
- Häfliger D. *et al.* "Seminested RT-PCR systems for small round structured viruses and detection of enteric viruses in seafood", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 37, N° 1, pp. 27-36 , 1997
- Hedlund K.O. *et al.*, "Epidemiology of calicivirus infections in Sweden, 1994-1998", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 181 (Suppl. 2), pp. S275-S280, 2000
- Hernroth B.E. *et al.*, " Environmental factors influencing human viral pathogens and their potential indicator organisms in the blue mussel, *Mytilus edulis*: the first Scandinavian report", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, N° 9, pp. 4523-4533, 2002
- Hoff J.C. & Becker RC., "The accumulation and elimination of crude and clarified poliovirus suspensions by shellfish", *American Journal of Epidemiology*, Vol. 90, N°1, pp. 53-61, 1969
- Hörman A.L *et al.*, " *Campylobacter* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., noroviruses, and indicator organisms in surface water in southwestern Finland, 2000-2001", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 70, N° 1, pp. 87-95, 2004
- Hot D. *et al.*, "Detection of somatic phages, infectious enteroviruses and enterovirus genomes as indicators of human enteric viral pollution in surface water", *Water Research*, Vol. 37, pp. 4703-4710, 2003
- Huffman D.E. *et al.*, "Calicivirus – an emerging contaminant in water: state of the art", *Environmental Engineering Science*, Vol. 20, N°5, pp. 503-515, 2003
- Hutson A.M. *et al.*, "Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors", *Trends in Microbiology*, Vol. 12, N°6, pp. 279-287, 2004
- IAWPRC Study Group on Health Related Water Microbiology, "Bacteriophages as model viruses in water quality control", *Water Research*, Vol. 25, pp. 529-545, 1991
- Iritani N. *et al.*, "Major change in the predominant type of "Norwalk-like viruses" in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis in Osaka City, Japan, between April 1996 and March 1999", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 38, N°7, pp. 2649-2654, 2000
- Jacangelo J.G. *et al.*, " Removal of enteric viruses and selected microbial indicators by UV irradiation of secondary effluent", *Water Science and Technology*, Vol. 47, N°9, pp. 193-198, 2003
- Jamet J., "Les coquillages comme denrées animales", in "Coquillages et Santé Publique, du risque à la prévention", coordinateur J. Lesne, Ed. ENSP, 343 p., 1992
- Jiang S. *et al.*, "Human adenoviruses and coliphages in urban runoff-impacted coastal waters of Southern California", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, N°1, pp. 179-184, 2001
- Jofre J. *et al.*, "Potential usefulness of bacteriophages that infect *Bacteroides fragilis* as model organisms for monitoring virus removal in drinking water treatment plants", *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 61, N°9, pp. 3227-3231, 1995
- Kageyama T. *et al.*, "Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 41, N°4, pp. 1548-1557, 2003
- Kapikian A.Z., "The discovery of the 27-nm Norwalk virus: an historic perspective", *The Journal of Infectious Disease*, Vol. 181(Suppl 2), pp. S295-302, 2000
- Katayama H. *et al.*, "Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from coastal seawater", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, N°3, pp. 1033-1039, 2002
- Kholi E. & Pothier P., *Caliciviridae*, pp. 285-290, in Mammette A. (coordinateur), "Virologie Médicale", Collection Azay, Presse Universitaire de Lyon, 798 p., 2002

- Kingsley D.H. & Richards G.P., "Rapid and efficient extraction methods for reverse transcription-PCR detection of hepatitis A and Norwalk-like viruses in shellfish", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, N°9, pp. 4152-4157, 2001
- Kohn M.A. *et al.*, "An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with eating raw oysters. Implications for maintaining safe oyster beds", *Journal of the American Association*, Vol. 273, N°6, pp. 466-471, 1995
- Kojima S. *et al.*, "Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses", *Journal of Virological Methods*, Vol. 100, N°1-2, pp. 107-114, 2002
- Koopmans M. & Duizer E., "Foodborne viruses : an emerging problem", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 90, N°1, pp. 23-41, 2004
- Kukkula M. *et al.*, "Waterborne outbreak of viral gastroenteritis", *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, Vol. 29, N°4, pp. 415-418, 1997
- Kukkula M. *et al.*, "Outbreak of Viral Gastroenteritis Due to Drinking Water Contaminated by Norwalk-like Viruses", *Journal of Infectious Disease*, Vol. 180, N°6, pp. 1771-1776, 1999
- Labelle R. *et al.*, "Relationships between environmental factors, bacterial indicators, and the occurrence of enteric viruses in estuarine sediments", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 39, N°3, pp. 588-596, 1980
- Laverick M.A. *et al.*, "Quantitative RT-PCR for the enumeration of noroviruses (Norwalk-like viruses) in water and sewage", *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 39, N°2, pp. 127-136, 2004
- Lazarova V. *et al.*, "Advanced wastewater disinfection technologies: state of the art and perspectives", *Water Science and Technology*, Vol. 40, N°4-5, pp. 203-213, 1999
- Le Cann P. *et al.*, "Quantification of human astroviruses in sewage using real-time RT-PCR", *Research in microbiology*, Vol. 155, N°1, pp. 11-15, 2004
- Le Comte A., "Première évaluation des niveaux de bactériophages dans 3 stations d'épuration de la région brestoise", *Rapport de stage IFREMER de Brest*, 2000
- Le Guyader S. *et al.*, "Three-year study to assess human enteric viruses in shellfish", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 66, N°8, pp. 3241-3248, 2000
- Le Guyader F.S. *et al.*, "A semiquantitative approach to estimate Norwalk-like virus contamination of oysters implicated in an outbreak", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 87, pp. 107-112, 2003
- Le Guyader S. *et al.*, "Detection of noroviruses in raspberries associated with gastroenteritis outbreak", *International Journal of Food Microbiology*, accepté, 2004
- Lees D.N., "Viruses and bivalve shellfish", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 59, pp. 81-116, 2000
- Le Saux J-C. *et al.*, "Evaluation et adaptation du système de purification des coquillages pour l'élimination des virus entériques", *Rapport final OFIMER/CNC N°054-01C*, 51 p., 2003
- Lodder W.J. *et al.*, "Molecular detection of Norwalk-like Caliciviruses in sewage", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 65, N°12, pp. 5624-5627, 1999
- Loisy F. *et al.*, "Les Norovirus humains : du nouveau ?", *Virologie*, accepté, 2004A
- Loisy F. *et al.*, "Real-time RT-PCR screening in shellfish", *soumis*, 2004B
- Loisy F. *et al.*, "Rotavirus VLP2/6: a new tool for tracking rotavirus in the marine environment", *Research in Microbiology*, Vol. 155, N°7, pp. 575-578, 2004C
- Lopman B.A. *et al.*, "Human caliciviruses in Europe", *Journal of Clinical Virology*, Vol. 24, pp. 137-160, 2002A

- Lopman B.A. *et al.*, "Capacités des laboratoires pour identifier les virus d'origine alimentaire en Europe", *Eurosurveillance Monthly*, Vol. 7, N°4, pp. 61-65, 2002B
- Lopman B.A. *et al.*, "Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks : surveillance in England and Wales, 1992-2000", *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 9, N°1, pp. 71-77, 2003
- Lopez-Pila J.M. & Szewzyk R., "Estimating the infection risk in recreational waters from the faecal indicator concentration and from the ratio between pathogens and indicator", *Water Research*, Vol. 34, pp. 4195-4200, 2000
- Lucena F. *et al.*, "Occurrence and densities of bacteriophages proposed as indicators and bacterial indicators in river waters from Europe and South America", *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 94, N°5, pp. 808-815, 2003
- Marks P.J. *et al.*, "A school outbreak of Norwalk-like virus: Evidence for airborne transmission", *Epidemiology and Infection*, Vol. 131, N°1, pp. 727-736, 2003
- Marshall J.A. *et al.*, "High level excretion of Norwalk-like virus following resolution of clinical illness", *Pathology*, Vol. 33, N°1, pp. 50-52, 2001
- Marshall J.A. *et al.*, "Incidence and characteristics of endemic Norwalk-like virus-associated gastroenteritis", *Journal of Medical Virology*, Vol. 69, N°4, pp. 568-578, 2003
- Marshall J.A. *et al.*, "Failure to detect norovirus in a large group of asymptomatic individuals", *Public Health*, Vol. 118, N°3, pp. 230-233, 2004
- Metcalf T.G., "Indicators of viruses in shellfish", in *Indicators and viruses in water and food*, Gvald Berg, Ed. Ann Harbor Science, Michigan, pp. 383-415, 1978
- Mitchell J.R. *et al.*, "Accumulation and elimination of poliovirus by the eastern oyster", *American Journal of Epidemiology*, Vol. 84, pp. 40-50, 1966
- Monpoeho S. *et al.*, "Best Viral Elution Method Available for Quantification of Enteroviruses in Sludge by Both Cell Culture and Reverse Transcription-PCR", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, N°6, pp. 2484-2488, 2001
- Mounts A. W. *et al.*, "Cold weather seasonality of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 181 (Suppl. 2), pp. S284-S287, 2000
- Nanji S.S., "Cruise ships, oysters, and edible vaccines : revisiting the non-cultivable Norwalk-like virus responsible for outbreaks of gastroenteritis", *Clinical Microbiology Newsletter*, Vol. 26, N°1, pp. 1-4, 2004
- Nasser A.M. & Oman S.D., "Quantitative assessment of the inactivation of pathogenic and indicator viruses in natural water sources", *Water Research*, Vol. 33, N°7, pp. 1748-1752, 1999
- Nelson K.L. *et al.*, "Sludge accumulation, characteristics, and pathogen inactivation in four primary waste stabilization ponds in Central Mexico", *Water Research*, Vol. 38, N°1, pp. 111-127, 2004
- Nicand E. *et al.*, "Le risque viral en 1998", *Virologie*, Vol. 2, N°2, pp. 103-116, 1998
- Nicosia L.A. *et al.*, "Ground water quality - A field study of removal in septic tank drainfields", *Journal of Environmental Quality*, Vol. 30, pp. 1933-1939, 2001
- Nishida T. *et al.*, "Detection, quantitation, and phylogenetic analysis of noroviruses in Japanese oysters", *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 69, N°10, pp. 5782-5786, 2003
- Noble R.T. *et al.*, "Inactivation of indicator microorganisms from various sources of faecal contamination in seawater and freshwater", *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 96, pp. 464-472, 2004
- Okhuysen P.C. *et al.*, "Viral shedding and fecal IgA response after Norwalk virus infection", *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 171, N° 3, pp. 566-569, 1995

- Pancorbo O.C. *et al.*, "Infectivity and antigenicity reduction rates of human rotavirus strain Wa in fresh waters", *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 53, N°8, pp. 1803-1811, 1987
- Payment P. *et al.*, "Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, *Giardia* cysts, and *Cryptosporidium* oocysts at a large wastewater primary treatment facility", *Can. J. Microbiol.*, Vol. 47, pp. 188-193, 2001
- Pommepuy M. *et al.*, "Devenir des bactéries entériques rejetées en mer", *TSM*, 87^{ème} année, N°1, 1992
- Pommepuy M. *et al.*, "Contamination virale et indicateurs du risque", *Rapport final Contrat LITEAU N° LT98036, Ifremer*, 98 p., 2002
- Puig M. *et al.*, "Description of a DNA amplification procedure for the detection of bacteriophages of *Bacteroides fragilis* HSP40 in environmental samples", *Journal of Virological Methods*, Vol. 89, N° 1-2, pp. 159-166, 2000
- Rao V.C. *et al.*, "Removal of hepatitis A virus and rotavirus by drinking water treatment", *J. Am. Wat. Works Assoc.*, Vol. 80, pp. 59-67, 1988
- Raphael R.A. *et al.*, "Long-term survival of human rotavirus in raw and treated river water", *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 31, N°2, pp. 124-128, 1985
- Reynolds K.A. *et al.*, "Incidence of enteroviruses in Mamala Bay, Hawaii using cell culture and direct polymerase chain reaction methodologies" *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 44, N° 6, pp. 598-604, 1998
- Rockx B. *et al.*, "Natural History of Human Calicivirus Infection: A Prospective Cohort Study", *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 35, pp. 246-253, 2002
- Romalde J.L. *et al.*, "Prevalence of enterovirus and hepatitis A virus in bivalve molluscs from Galicia (NW Spain): inadequacy of the EU standards of microbiological quality", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 74, pp. 119-130, 2002
- Rose J.B. *et al.*, "Occurrence of rotaviruses and enteroviruses in recreational waters of Oak Creek, Arizona", *Water Research*, Vol. 21, N°11, pp. 1375-1381, 1987
- Rose J.B. & Sobsey M.D., "Quantitative risk assessment for viral contamination of shellfish and coastal waters", *Journal of Food Protection*, Vol. 56, N°12, pp. 1043-1050, 1993
- Rose J.B. *et al.*, "Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a full-scale water reclamation facility", *Water Research*, Vol. 30, N°11, pp. 2785-2797, 1996
- Ross T. & Sumner J., "A simple, spread-sheet based, food safety risk assessment tool", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 77, pp. 39-53, 2002
- Rzezuka A. *et al.*, "Survival of human enteric viruses in the environment and food", *FEMS Microbiology Reviews*, accepté, 2004
- Sattar S.A., "Virus survival in receiving waters", in *Viruses and Wastewater Treatment*, Editions Goddard M. & Burler M., Pergamon Press, New-York, pp. 91-108, 1981
- Schvoerer E. *et al.*, "Qualitative and quantitative molecular detection of enteroviruses in water from bathing areas and from a sewage treatment plant", *Res. Microbiol.*, Vol. 52, pp. 179-186, 2001
- Shieh Y.C. *et al.*, "Molecular surveillance of Enterovirus and Norwalk Virus in Oysters relocated to a municipal-sewage-impacted Gulf Estuary", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, N°12, pp. 7130-7136, 2003
- Shin G-A & Sobsey M.D., "Reduction of Norwalk Virus, Poliovirus 1, and Bacteriophage MS2 by Ozone Disinfection of Water", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, N°7, pp. 3975-3978, 2003

- Sinton L.W. *et al.*, "Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 65, N°8, pp. 3605-3613, 1999
- Sinton L.W. *et al.*, "Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, N°3, pp. 1122-1131, 2002
- Skraber S. *et al.*, "Fates of bacteriophages and bacterial indicators in the Moselle river (F)", *Water Research*, Vol. 36, pp. 3629-3637, 2002
- Skraber S. *et al.*, "Comparison of coliforms and coliphages as tools for assessment of viral contamination in river water", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 70, N°6, pp. 3644-3649, 2004
- Sobsey M.D. *et al.*, " Factors influencing faecal contamination in coastal marinas", *Water Science and Technology*, Vol 47, N°3, pp 199-204, 2003
- Sugieda M. *et al.*, "Detection of Norwalk-like virus genes in the caecum contents of pigs", *Archives of Virology*, Vol. 143, pp. 1215-1221, 1998
- Tree J.A. *et al.*, "Chlorination of indicator bacteria and viruses in primary sewage effluent", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, N°4, pp. 2038-2043, 2003
- Wait D.A. & Sobsey M.D., "Comparative survival of enteric viruses and bacteria in Atlantic ocean seawater", *Water Science and Technology*, Vol. 43, N°12, pp. 139-142, 2001
- Wetz J.J. *et al.*, "Presence, infectivity and stability of enteric viruses in seawater: relationship to marine water quality in the Florida keys", *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 48, pp. 698-704, 2004
- Zidane M. & Pommepuy M. "Toxi-infections alimentaires collectives associées à la consommation de coquillages déclarées en France de 1991 à 2001 (Données InVS)", *Rapport interne Ifremer/DEL/MP*, 2003

Liste des annexes

Annexe 1. Classement des zones conchylicoles d'après la Directive 91/492/CEE	51
Annexe 2. Classification des norovirus dans la famille des <i>Caliciviridae</i>	52
Annexe 3. Données sur l'excrétion des NoV	53
Annexe 4. Données sur la saisonnalité des infections aux NoV.....	54
Annexe 5. Données sur deux TIAC associées à des huîtres.....	55
Annexe 6. Concentrations en microorganismes entériques dans les eaux usées.....	56
Annexe 7. Concentrations en microorganismes entériques dans les eaux traitées.....	57
Annexe 8. Concentrations en microorganismes entériques dans les cours d'eau.....	58
Annexe 9. T_{90} de microorganismes entériques dans les rivières.....	59
Annexe 10. Concentrations en microorganismes entériques dans les eaux littorales.....	61
Annexe 11. T_{90} de microorganismes entériques en eau de mer.....	62
Annexe 12. Ratios coquillages:eau de mer.....	66
Annexe 13. Cartes de localisation des deux secteurs d'étude.....	67
Annexe 14. Données du site Sentiweb.....	68

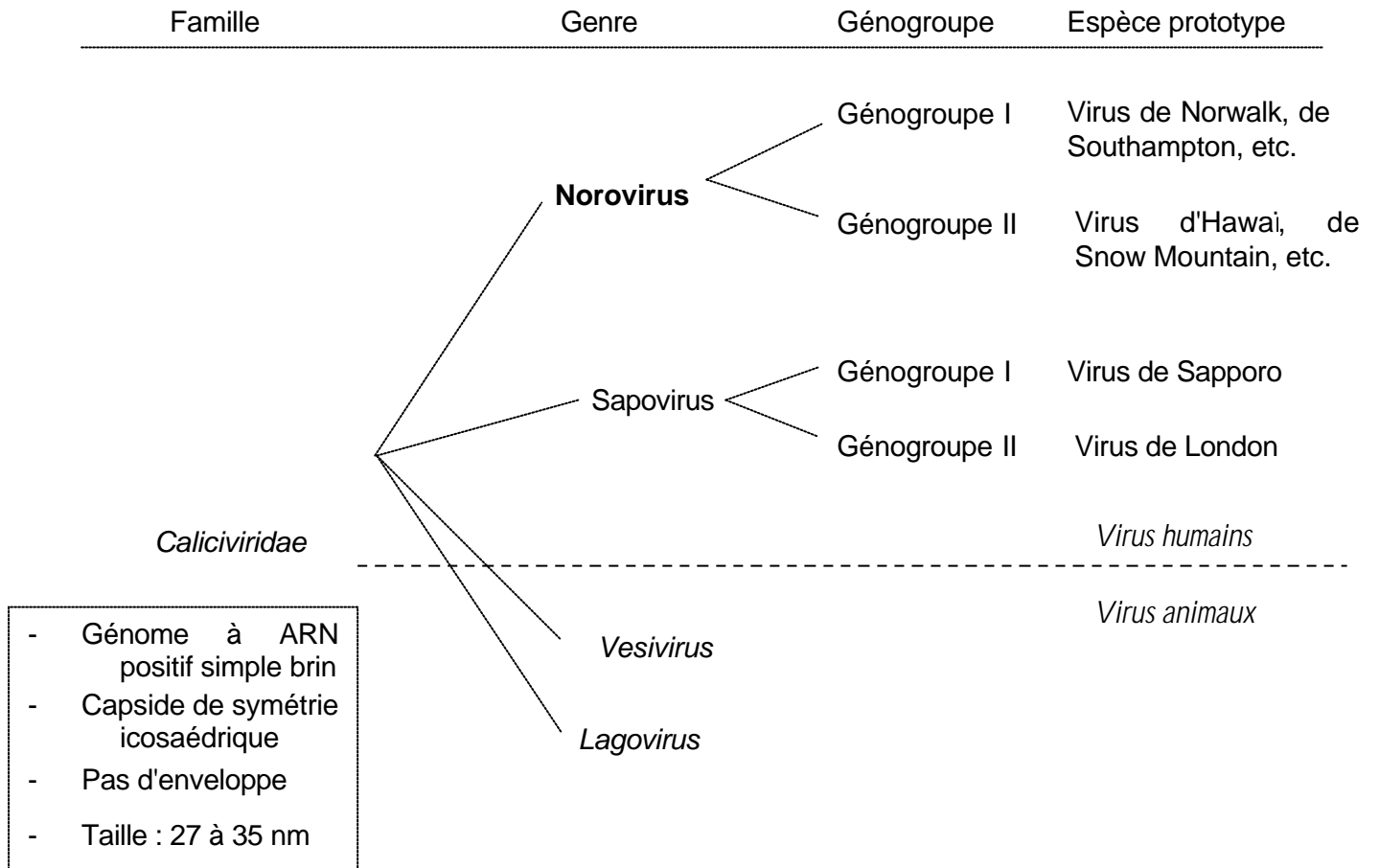
Annexe 1.

Critères microbiologiques pour le classement des zones conchylicoles instaurés par la réglementation européenne (Directive 91/492/CEE)
et traduite en droit français (Décret n° 94-430 et Arrêté du 21/05/1999)

<i>E. coli</i> (E.C.) / 100 g de chair et liquide intervalvaire	Zones	Exploitation	
Seuils microbiologiques	Classement	Elevage	Pêche professionnelle Gisement naturel
Au moins 90 % des résultats < 230 E.C. Aucun > 1 000 E.C.	A	Autorisé (Consommation directe)	Autorisée (Consommation directe)
Au moins 90 % des résultats < 4 600 E.C. Aucun > 46 000 E.C.	B	Autorisé (Reparcage ou purification)	Autorisée (Reparcage ou purification)
Au moins 90 % des résultats < 46 000 E.C.	C	Interdit (sauf dérogation préfectorale)	Autorisée (Reparcage de longue durée – 2 mois minimum ; purification interdite)
Non A, non B, non C	D	Interdit	Interdite

Annexe 2.

Schéma de la classification des Norovirus dans la famille des *Caliciviridae*.



Annexe 3.

Données sur l'excrétion des NoV (dénombrement dans les selles et durée).

Concentration dans les selles (/ g)	Durée d'excrétion	Méthodes	Références
ND	≤ 5 ^{ème} jour après inoculation	Essais immunologiques	Gary G.W. <i>et al.</i> , 1987
ND	Au moins 7 jours après inoculation	ELISA	Graham D.Y. <i>et al.</i> , 1994
ND	≤ 13 ^{ème} jour après inoculation	ELISA	Okhuysen P.C. <i>et al.</i> , 1995
ND	> 2 semaines chez des enfants	RT-PCR	Daniels N.A. <i>et al.</i> , 2000
ND	2 semaines chez personnes asymptomatiques	ND	Glass R.I. <i>et al.</i> , 2000
10 ⁵ à 10 ⁶	ND	EM	Kapikian A.Z. <i>et al.</i> , 1990
10 ⁷	ND	RT-PCR	Atmar R.L. <i>et al.</i> , 1995
10 ⁹	ND	RT-PCR	Häfliger D. <i>et al.</i> , 1997
10 ⁶	3 jours en moyenne	ND	Nicand E. <i>et al.</i> , 1998
5.10 ⁵ (chez une personne asymptomatique)	ND	RT-PCR	Marshall J.A., 2001
ND	3 semaines	RT-PCR	Rockx B. <i>et al.</i> , 2002
9,2.10 ⁷ à 6,3.10 ¹⁰	ND	RT-PCR	Kageyama T. <i>et al.</i> , 2003
Maximum 10 ⁸	3 semaines après l'infection chez 30% des malades	ND	Koopmans M. & Duizer E., 2004
5,3. 10 ⁶ particules de génome / 100 mL	ND	RT-PCR	Laverick M.A. <i>et al.</i> , 2004

ND : Non déterminé

Annexe 4.

Données sur la saisonnalité des infections aux NoV.

Période des infections	Période des pics	Contexte de l'étude	Références
En hiver et au printemps	ND	Enquête au Royaume-Uni en 1995	Lees D., 2000
Octobre à Avril	Janvier à Mars	Enquête en Suède de 1994 à 1998	Hedlund K.O. <i>et al.</i> , 2000
Hiver	ND	Revue bibliographique sur les infections aux NoV dans le monde, de 1975 à 1998	Mounts A. W. <i>et al.</i> , 2000
Janvier à Mars	ND	Etude au Japon, de 1996 à 1999	Iritani N. <i>et al.</i> , 2000
Hiver	ND	Etude Cas-témoin en France sur les gastro-entérites hivernales	Chikhi-Brachet R. <i>et al.</i> , 2002
Septembre à Avril	Janvier à Mars	Enquête en Angleterre et Pays de Galles, de 1992 à 2000	Lopman B.A. <i>et al.</i> , 2003
Fin du printemps au début de l'été	ND	Etude en Australie, de 1997 à 1999	Marshall J.A. <i>et al.</i> , 2003

ND : Non déterminé

Annexe 5.

Données sur le taux d'attaque, le temps d'incubation et la durée des symptômes pour deux TIAC aux NoV transmises par des huîtres.

Nombre d'huîtres consommées	Taux d'attaque (%)	Durée de la période d'incubation (heures)	Durée des symptômes (heures)	Références
1 à 6	68 *	5 à 52	6 à 54	Kohn M.A. <i>et al.</i> , 1995
7 à 12	85			
> 12	96			
1 à 5	40	31 à 39	32 à 59	Dowell S.F. <i>et al.</i> , 1995
6 à 17	68			
≥ 18	77			

* 7 % des malades n'ont pas consommé d'huîtres

Annexe 6.

Données sur les concentrations en virus entériques dans les eaux d'entrée de stations d'épuration.

Virus	Concentration (unité. 100 mL ⁻¹)	Technique de dénombrement utilisée	Références
Entérovirus	5,4.10 ⁻² à 4,5.10 ⁰	Culture cellulaire	Rose J.B. <i>et al.</i> , 1996
#	3,0.10 ²	#	Reynolds K.A. <i>et al.</i> , 1998
#	2,5.10 ¹ (été) et 2,7.10 ² (hiver)	#	Green D. H. <i>et al.</i> , 1999
#	6,0.10 ²	#	Tree J.A. <i>et al.</i> , 2003
Rotavirus	1,6.10 ¹ à 5,4.10 ²	#	Bosch A. <i>et al.</i> , 1988
#	1,4.10 ⁰ à 2,9.10 ²	#	Rao V.C. <i>et al.</i> , 1988
#	Maximum : 9,1.10 ³	#	Gerba C.P. <i>et al.</i> , 1996
Entérovirus	3,8.10 ⁷	RT-PCR	Schvoerer E. <i>et al.</i> , 2001
Astrovirus	3,2.10 ⁵ à 3,1.10 ⁷ Moyenne : 4,1.10 ⁶	RT-PCR	Le Cann P. <i>et al.</i> , 2004
NoV	Maximum : 10 ⁶	RT-PCR	Lodder W.J. <i>et al.</i> , 1999
NoV	Moyenne : 7,4.10 ⁵	RT-PCR	Laverick M.A. <i>et al.</i> , 2004

Concentrations minimales-maximales en *E. coli* et Phages ARN-F dans les eaux d'entrée de stations d'épuration.

Microorganismes entériques	Concentration (unité. 100 mL ⁻¹)	Technique de dénombrement utilisée	Références
<i>E. coli</i>	10 ⁴ à 10 ⁸ UFC	Culture sur milieu sélectif	Le Comte A., 2000 ; Payment P. <i>et al.</i> , 2001
Phages ARN-F	1.10 ³ à 10 ^{5,6} UFP	Double couche	Tree J.A. <i>et al.</i> , 2003; Skraber S. <i>et al.</i> , 2002

Annexe 7.

Données sur les concentrations en virus entériques dans les eaux traitées de stations d'épuration.

Virus	Concentration (unité. 100 mL ⁻¹)	Traitement épuratoire	Technique de dénombrement utilisée	Références
Entérovirus	1,5.10 ⁻¹ à 2,3.10 ⁰	Traitement secondaire	Culture cellulaire	Gantzer C. <i>et al.</i> , 1998B
#	Maximum : 9,5.10 ⁻³	Traitement secondaire et filtration	Culture cellulaire	Rose J.B. <i>et al.</i> , 1996
Rotavirus	Moyenne : 7,5.10 ⁻¹	Traitement secondaire	Culture cellulaire	Bates J. <i>et al.</i> , 1984
#	Maximum : 3,2.10 ²	Traitement secondaire	Culture cellulaire	Rao V.C. <i>et al.</i> , 1988
#	Moyenne : 9,6.10 ⁻¹	Traitement secondaire et chloration	Culture cellulaire	Rao V.C. <i>et al.</i> , 1988
Astrovirus	Moyenne: 1,01.10 ⁴ Maximum : 3,6.10 ⁴	Traitement secondaire	RT-PCR	Le Cann P. <i>et al.</i> , 2004
Entérovirus	5,4.10 ⁶	Traitement secondaire et U.V.	RT-PCR	Schvoerer E. <i>et al.</i> , 2001
NoV	8,7.10 ⁴	Traitement secondaire	RT-PCR	Laverick M.A. <i>et al.</i> , 2004

Concentrations minimales-maximales en *E. coli* et Phages ARN-F dans les eaux traitées de stations d'épuration.

Microorganismes entériques	Concentration (unité. 100 mL ⁻¹)	Traitement épuratoire	Technique de dénombrement utilisée	Références
<i>E. coli</i> (UFC)	Moyenne: 1,5.10 ⁶	Traitement primaire	Culture sur milieu sélectif	Payment P. <i>et al.</i> , 2001
#	1,7.10 ⁴ à 3.10 ⁶	Traitement secondaire	Culture sur milieu sélectif	Le Comte A., 2000
#	Moyenne : 10 ⁴	Traitement secondaire et tertiaire	Culture sur milieu sélectif	Skraber S. <i>et al.</i> , 2002
Phages ARN-F (UFP)	3,0.10 ² à 1,4.10 ³	Traitement secondaire	Double couche	Le Comte A., 2000
#	Moyenne : 10 ³	Traitement secondaire et tertiaire	Double couche	Skraber S. <i>et al.</i> , 2002

Annexe 8.

Données sur les concentrations en virus entériques dans les cours d'eau.

Virus	Concentration (unité. 100 mL ⁻¹)	Localisation	Technique de dénombrement utilisée	Références
Entérovirus	0 à 7,5.10 ⁻³	Arizona	Culture cellulaire	Rose J.B. <i>et al.</i> , 1987
#	Moyenne : 6,3.10 ⁻³ Maximum : 6,3.10 ⁻²	Espagne	Culture cellulaire	Jofre J. <i>et al.</i> , 1995
#	6.10 ⁻¹ et 3,3.10 ⁰ NPP	Nord de la France	Culture cellulaire	Hot D. <i>et al.</i> , 2003
Rotavirus	0 à 2,5.10 ⁻²	Arizona	Culture cellulaire	Rose J.B. <i>et al.</i> , 1987
#	Moyenne : 3,0.10 ¹	Rejet d'eaux non traitées ; Canada	Culture cellulaire	Raphael R.A. <i>et al.</i> , 1985
Entérovirus	2,2.10 ⁵	Prélèvement à 50 m en aval d'un rejet de STEP (traitement secondaire et U.V.)	RT-PCR	Schvoerer E. <i>et al.</i> , 2001
NoV	6,4.10 ³	Prélèvement à 2 Km en aval d'un rejet de STEP (traitement secondaire)	RT-PCR	Laverick M.A. <i>et al.</i> , 2004

Concentrations minimales et maximales en *E. coli* et Phages ARN-F dans les cours d'eau.

Microorganismes entériques	Concentration (unité. 100 mL ⁻¹)	Technique de dénombrement utilisée	Références
<i>E. coli</i> (UFC)	10 ⁰ à 10 ⁷	Culture sur milieu sélectif	Lucena F. <i>et al.</i> , 2003
Phages ARN-F (UFP)	10 ⁰ à 10 ^{5,5}	Double couche	Lucena F. <i>et al.</i> , 2003

Annexe 9.

T₉₀ (jours) pour des virus entériques en rivière.

Virus *	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Poliovirus	0,15	5 sites différents (lac artificiel, rivières, crique suburbaine et nappe) ; 22°C	Rzezuka A. <i>et al.</i> , 2004
#	0,25	5 sites différents (lac artificiel, rivières, crique suburbaine et nappe) ; 1°C	Rzezuka A. <i>et al.</i> , 2004
#	1,25 à 2,5	5 sites différents (lac artificiel, rivières, crique suburbaine et nappe) ; - 20°C	Rzezuka A. <i>et al.</i> , 2004
Entérovirus	3,1	Rivière polluée	Akin E.W. <i>et al.</i> , 1971 ; Sattar S.A., 1981
#	4	Rivière non polluée	Akin E.W. <i>et al.</i> , 1971 ; Sattar S.A., 1981
Rotavirus	16	4°C	Pancorbo O.C. <i>et al.</i> , 1987 ; Raphael R.A. <i>et al.</i> , 1985
#	5	20°C	Pancorbo O.C. <i>et al.</i> , 1987 ; Raphael R.A. <i>et al.</i> , 1985

* détection par culture cellulaire

Annexe 9 (suite).

T₉₀ (jours) pour les phages ARN-F* en eau de rivière.

T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Données en conditions d'éclairement :		
0,6	Chambre à toit ouvert en piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière ; en été (14°C)	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 2002
2,3	Bouteilles en surface de piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière; lumière directe du soleil en été (1200 W/m ²) (20°C)	Noble R.T. <i>et al.</i> , 2004
2,6	Tubes de dialyse en surface de rivière; en été (13,4 à 26°C)	Duran A.E. <i>et al.</i> , 2002
1	Chambre à toit ouvert en piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière ; en hiver (14°C)	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 2002
3,8	Bouteilles en surface de piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière; lumière directe du soleil en hiver (300 W/m ²) (20°C)	Noble R.T. <i>et al.</i> , 2004
13,5	Tubes de dialyse en surface de rivière ; en hiver (4,7 à 10°C)	Duran A.E. <i>et al.</i> , 2002
Données en conditions d'obscurité :		
6,9	Chambre à toit ouvert en piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière; à l'obscurité (14°C)	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 2002

*(dénombrement par la technique de la double couche)

Valeurs minimales et maximales de T₉₀ (jours) pour les *E. coli* ** en eau de rivière.

T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Données en conditions d'éclairement :		
0,13	Chambre à toit ouvert en piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière ; en été (14°C)	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 2002
9,7	Tubes de dialyse en surface de rivière; en hiver (4,7 à 10°C)	Duran A.E. <i>et al.</i> , 2002
Données en conditions d'obscurité :		
4,2 à 7	Chambre à toit ouvert en piscine contenant un mélange d'effluents et d'eau de rivière ; à l'obscurité (14°C)	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 2002

** (dénombrement par culture sur milieu sélectif)

Annexe 10.

Données sur les concentrations en virus entériques dans les eaux côtières.

Virus	Concentration (unité. 100 mL⁻¹)	Localisation	Technique de dénombrement utilisée	Références
Entérovirus	$3,7.10^4$ à $7,0.10^6$	France	RT-PCR	Schvoerer E. <i>et al.</i> , 2001
Adénovirus humains	$8,8.10^1$ à $7,5.10^2$	Californie	RT-PCR	Jiang S. <i>et al.</i> , 2001
NoV	$7,1.10^2$	Royaume-Uni	RT-PCR	Laverick M.A. <i>et al.</i> , 2004

Données sur les concentrations en *E. coli* et Coliphages spécifiques dans les eaux côtières.

Microorganismes entériques	Concentration (unité. 100 mL⁻¹)	Localisation	Technique de dénombrement utilisée	Références
<i>E. coli</i>	10^1 à $3,4.10^3$	Espagne	Culture sur milieu sélectif	Puig M. <i>et al.</i> , 2000
Coliphages spécifiques	$5,5.10^{-1}$ à $3,0.10^1$	Californie	Double couche	Jiang S. <i>et al.</i> , 2001

Annexe 11.

T₉₀ (jours) pour les virus entériques en eau de mer.

Virus	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Données en conditions d'éclairement :			
Poliovirus	1,6	[CC] Sacs plastiques d'eau de mer placés à - 0,2 m en Méditerranée ; 15°C	Girones R. <i>et al.</i> , 1989
Données en conditions de faible éclairage :			
Poliovirus	7,1	[CC] Chambres à -3 m sur la côte Atlantique ; 4 – 7,5 °C	Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001
#	1,7 à 2,6	[CC] Chambres à -3 m sur la côte Atlantique ; 18 – 24 °C	Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001
#	6,6	[CC] Chambres à - 10 m sur la côte Atlantique ; 4 – 7,5 °C	Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001
#	0,8 à 1,5	[CC] Chambres à - 10 m sur la côte Atlantique ; 18 – 24 °C	Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001
Données en conditions d'obscurité :			
Poliovirus	671	[CC] Eau artificielle ; à l'obscurité ; MES*=0 mg.L ⁻¹ ; 4°C	Gantzer C. <i>et al.</i> , 1998A
#	9,25	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; sans sédiment ; 5°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	9	[CC] Incubation ; Côte Californienne ; 15°C	Enriquez C.E. <i>et al.</i> , 1995
#	76	[CC] Eau artificielle ; à l'obscurité ; MES=0 mg.L ⁻¹ ; 18°C	Gantzer C. <i>et al.</i> , 1998A
#	1,75	[CC] Incubation ; Californie et Hawaï ; 20°C	Callahan K.M. <i>et al.</i> , 1995
#	1,4	[CC] <i>in situ</i> ; 20°C ; in Jofre <i>et al.</i> (1986)	Enriquez C.E. <i>et al.</i> , 1995
#	2	[CC] Eaux côtières d'Hawaï ; 24°C	Rzezuka A. <i>et al.</i> , 2004
#	1,3	[CC] 24°C ; in Loh <i>et al.</i> (1979) & in Fujioka <i>et al.</i> (1980)	Enriquez C.E. <i>et al.</i> , 1995
#	9,1	[CC] Eau de mer filtrée (0,22 µm); incubation ; Golfe du Mexique ; 22°C	Wetz J.J. <i>et al.</i> , 2004
#	25	[CC] Eau artificielle ; à l'obscurité ; MES=0 mg.L ⁻¹ ; 25°C	Gantzer C. <i>et al.</i> , 1998A
#	6,25	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; sans sédiment ; 25°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	3,4	[CC] Eau de mer filtrée (0,22 µm); incubation; Golfe du Mexique ; 30°C	Wetz J.J. <i>et al.</i> , 2004

Technique de détection/dénombrement utilisée :

[CC] : culture cellulaire ; [ELISA] ; [RIA] : essai radio-immunologique.

*MES : matières en suspension

Annexe 11 (suite 1).

Virus	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Données en conditions d'obscurité et présence de sédiments :			
Poliovirus	475	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; avec sédiments d'estuaire ; 5°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	2,2	[CC] Eau de mer non filtrée ; incubation ; Golfe du Mexique ; 22°C	Wetz J.J. <i>et al.</i> , 2004
#	9,5	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; avec des sédiments d'estuaire ; 25°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	36	[CC] Eau artificielle ; à l'obscurité ; MES=500 mg.L ⁻¹ ; 25°C	Gantzer C. <i>et al.</i> , 1998A
#	2	[CC] Eau de mer non filtrée ; incubation ; Golfe du Mexique ; 30°C	Wetz J.J. <i>et al.</i> , 2004

T₉₀ (jours) pour les rotavirus en eau de mer.

Virus	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Simian Rotavirus	2,1	[CC] Sacs plastiques d'eau de mer placés à - 0,2 m en Méditerranée ; 15°C	Girones R. <i>et al.</i> , 1989
#	217,8	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; sans sédiment ; 5°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	58,5	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; avec sédiments d'estuaire ; 5°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
Bovine Rotavirus	2,4	[ELISA] Incubation ; eau de mer ; 22°C	Loisy F. <i>et al.</i> , 2004C
Rotavirus 2/6-virus-like-particles	2,2	[ELISA] Incubation ; eau de mer ; 22°C	Loisy F. <i>et al.</i> , 2004C
Simian Rotavirus	3	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; avec sédiments d'estuaire ; 25°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	5,5	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; sans sédiment ; 25°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	9	[CC] Eaux marines ; in Rao <i>et al.</i> , 1984	Gerba C.P. <i>et al.</i> , 1996

Annexe 11 (suite 2).

T₉₀ (jours) pour les adénovirus en eau de mer.

Virus	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Adénovirus 40	38,5	[CC] Incubation ; Côte Californienne ; 15°C	Enriquez C.E. <i>et al.</i> , 1995
Adénovirus 41	42,5	[CC] Incubation ; Côte Californienne ; 15°C	Enriquez C.E. <i>et al.</i> , 1995

T₉₀ (jours) pour les astrovirus en eau de mer.

Virus	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
Astrovirus	16	[CC] Eau de mer ; 18°C	Bosch A. <i>et al.</i> , 1996
#	18	[CC] Eau de mer ; 22°C	Bosch A. <i>et al.</i> , 1996

T₉₀ (jours) pour le virus de l'hépatite A en eau de mer.

Virus	T ₉₀ (jours)	Conditions	Références
VHA	0,05 à 0,1	[CC] Eau de mer artificielle ; UV : 42 mW.s.cm ⁻² ; MES= 0 mg.L ⁻¹ ; température ambiante	Crance J.M. <i>et al.</i> , 1998
#	21	[CC] Incubation de bouteilles; sans sédiment ; 5°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	Infini !	[CC] Incubation de bouteilles d'eau de mer ; avec sédiments d'estuaire ; 5°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	212	[RIA] Eau de mer artificielle ; à l'obscurité ; 19°C	Crance J.M. <i>et al.</i> , 1998
#	24	[CC] Eau de mer artificielle ; à l'obscurité ; 19°C	Crance J.M. <i>et al.</i> , 1998
#	7	[CC] Incubation ; eaux côtières (Hawaï, Californie) ; à 20°C	Callahan K.M. <i>et al.</i> , 1995
#	8,5	[CC] Incubation de bouteilles ; sans sédiment ; 25°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	17,3	[CC] Incubation de bouteilles; avec sédiments d'estuaire ; 25°C	Chung H. & Sobsey M.D., 1993
#	178	[RIA] Eau de mer artificielle ; à l'obscurité ; 25°C	Crance J.M. <i>et al.</i> , 1998
#	11	[CC] Eau de mer artificielle ; à l'obscurité ; 25°C	Crance J.M. <i>et al.</i> , 1998

Annexe 11 (suite 3).

Valeurs minimales et maximales de T_{90} (jours) pour les phages ARN-F* en eau de rivière.

T_{90} (jours)	Conditions	Références
Données en conditions d'éclairement :		
0,026	Eté; $I = 729 \text{ Wm}^2$; temps ensoleillé; Atlantique ; 19°C	Canteras J.C. <i>et al.</i> , 1995
0,8	Chambres à toit ouvert, en hiver ; env. 9°C ; en Nv-Zélande	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 1999
Données en conditions d'obscurité :		
2,2	Chambres à l'obscurité, en été ; env. 14-20°C ; en Nv-Zélande	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 1999
6,5	Chambres à l'obscurité, en hiver ; 9°C ; en Nv-Zélande	Sinton L.W. <i>et al.</i> , 1999

* Dénombrement par la technique de la double couche

Valeurs minimales et maximales de T_{90} (jours) pour les *E. coli* ** en eau de rivière.

T_{90} (jours)	Conditions	Références
Données en conditions d'éclairement :		
0,03	Eté ; 19°C ; $I = 729 \text{ Wm}^2$; temps ensoleillé; jusque -1,5 m ; Atlantique (Cantabrie)	Canteras J.C. <i>et al.</i> , 1995
3,4	Chambres à 3 m ; 4 – 7,5 °C ; Atlantique (Caroline du N)	Wait D.A. & Sobsey M.D., 2001
Données en conditions d'obscurité :		
2,3 à 7,2	Hiver ($2 \cdot 10^5$ à $10^6 \mu\text{Em}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) ; MES = $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; profondeur 10 m	Pommepuy M. <i>et al.</i> , 1992

** Dénombrement par culture sur milieu sélectif

Annexe 12.

Ratios coquillages:eau de mer pour les bactéries *E. coli*.

Coquillages	Ratio Coquillages/ eau de mer*	Période de l'année ou température de l'eau de mer	Références
Huîtres (<i>Crassostrea virginica</i>)	4,1	Février à début octobre	Burkhardt W. III & Calci K.R, 2000
#	3	Fin octobre à janvier	#
Huîtres	2 à 18	12,5°C à 15°C	Shieh Y.C. <i>et al.</i> , 2003
#	3 à 67	17,5°C à 19°C	#
#	6 à 81	20 à 25,5°C	#
#	2 à 146	28,5°C à 30°C	#

Ratios coquillages:eau de mer pour les phages.

	Coquillages	Ratio Coquillages/ eau de mer*	Période de l'année ou température de l'eau de mer	Références
Coliphages F +	<i>Crassostrea virginica</i>	3	Février à début octobre	Burkhardt W. III & Calci K.R, 2000
#	#	50	Fin octobre à janvier	#
Coliphages male spécifiques	Huîtres	16 à 78	12,5°C à 15°C	Shieh Y.C. <i>et al.</i> , 2003
#	#	1 à 222	17,5°C à 19°C	#
#	#	0,2 à 130	20 à 25,5°C	#

* calculé à partir des concentrations en microorganismes par 100 g de chair et liquide intervalvaire et par 100 mL d'eau de mer.

Les bactéries *E. coli* sont dénombrées sur milieu sélectif ; les phages sont dénombrés par la technique de la double couche.

Annexe 13.

Cartes de localisation des deux secteurs d'étude

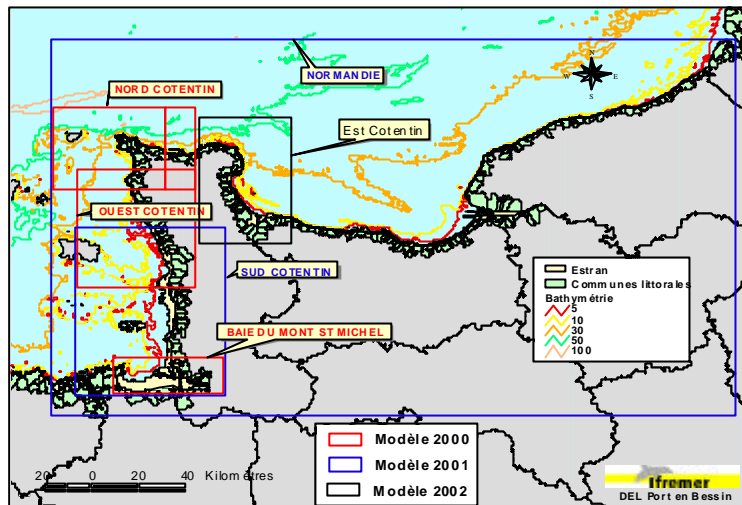


Figure 1. Localisation du modèle ECOT de St-Vaast-La-Hougue (Région Basse-Normandie) (Modèle ECOT développé dans le cadre du CPER Région Basse Normandie, AESN, CG14 et CG50).

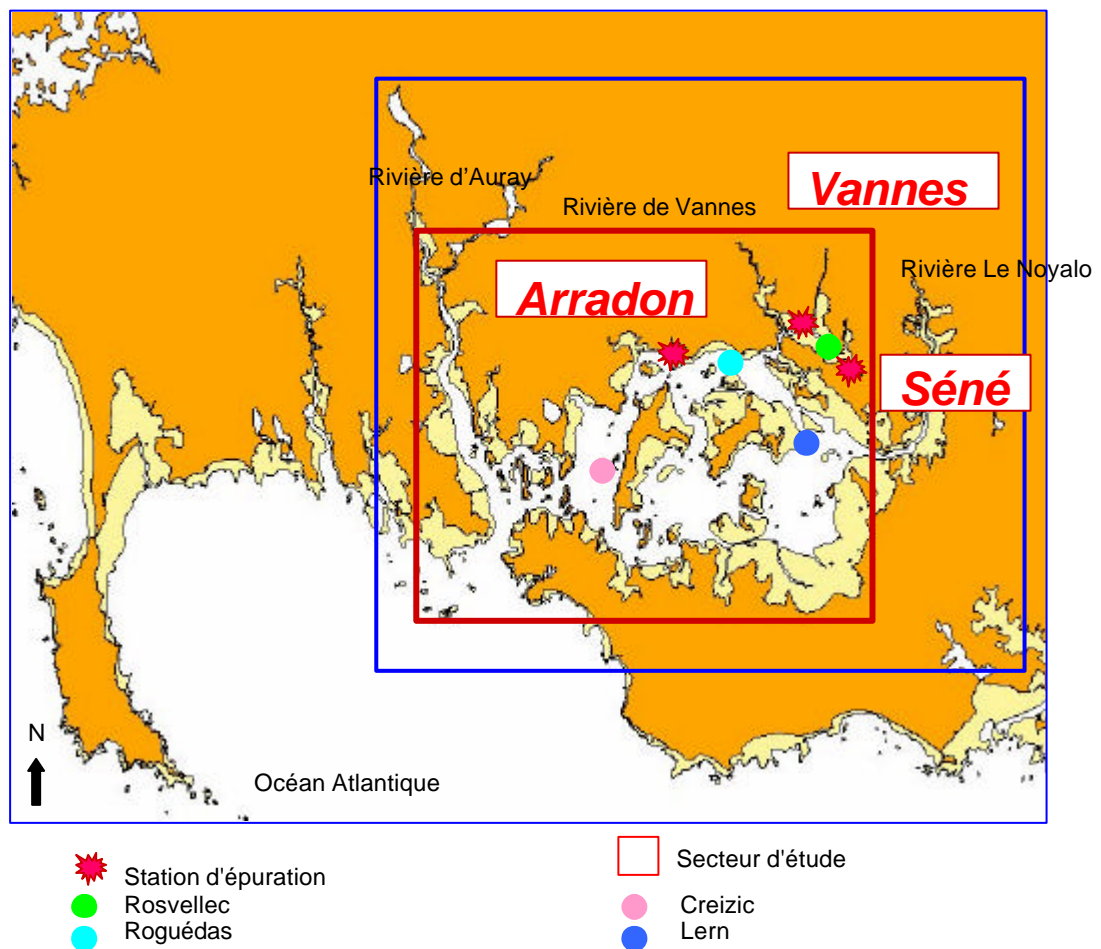


Figure 2. Localisation du modèle du Golfe du Morbihan.

Annexe 14

Données du site Internet Sentiweb de l'INSERM sur l'incidence des diarrhées aiguës :

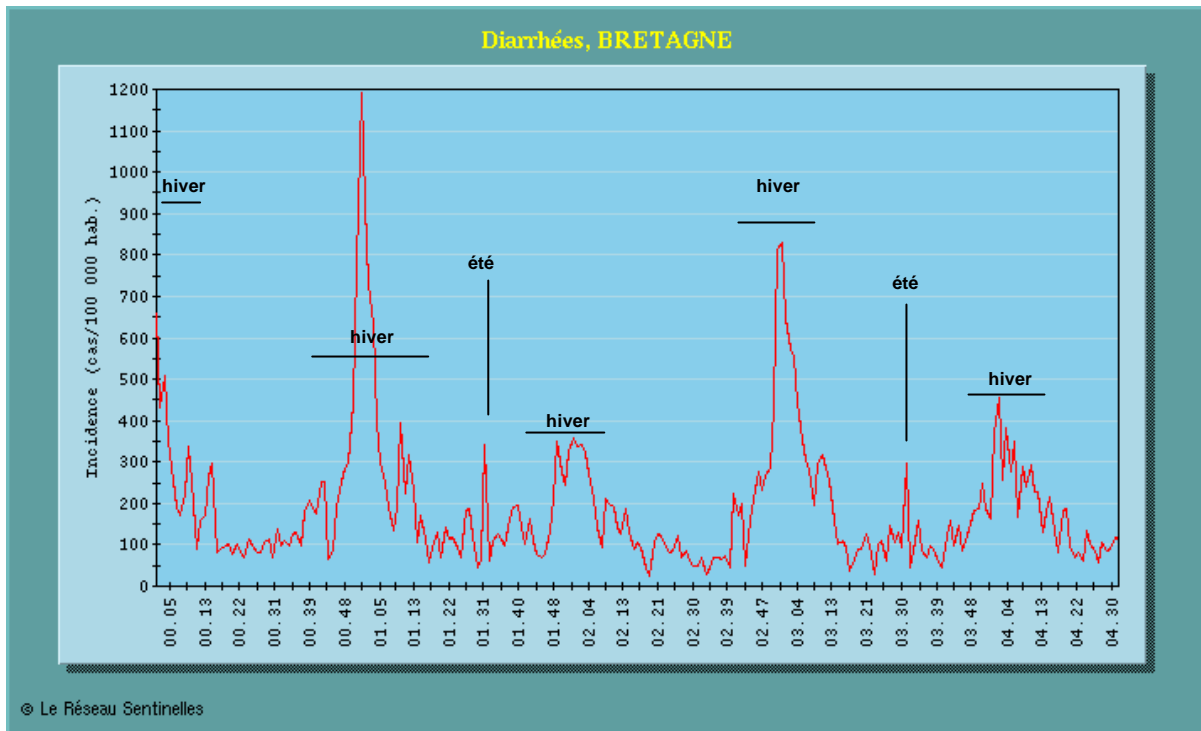


Figure 1. Incidence des diarrhées aiguës de 2001 à début 2004 pour la région Bretagne

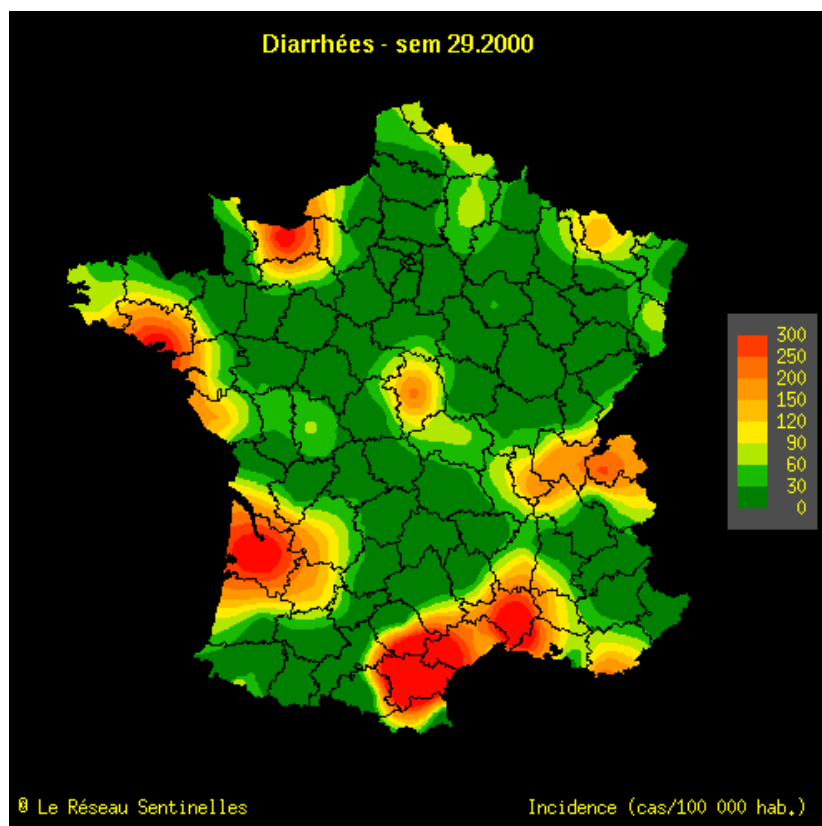


Figure 2. Carte France entière des incidences des diarrhées aiguës en semaine 31 de l'année 2001 (mois de juillet).