

Virus entériques et transmission hydrique : méthodes analytiques, efficacité des filières d'épuration et contamination sur des sites littoraux avec coquillages

Naïs Collet

▶ **To cite this version:**

Naïs Collet. Virus entériques et transmission hydrique : méthodes analytiques, efficacité des filières d'épuration et contamination sur des sites littoraux avec coquillages. Microbiologie et Parasitologie. 2012. hal-01871433

HAL Id: hal-01871433
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01871433

Submitted on 10 Sep 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-memoires-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

Université de Lorraine
Faculté des Sciences et Technologies
BP 239
54506 Vandoeuvre-lès-Nancy

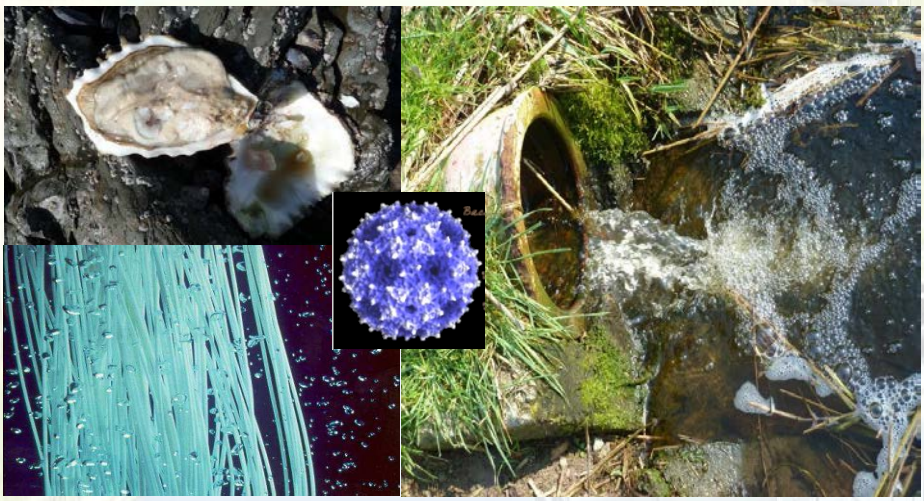
Agence de l'Eau Seine Normandie
21 rue de l'Homme de Bois
14600 Honfleur

Rapport Master 2 Microbiologie Environnementale et Sanitaire

Stage effectué du 9 Janvier au 6 Juillet 2012

VIRUS ENTÉRIQUES ET TRANSMISSION HYDRIQUE :

MÉTHODES ANALYTIQUES, EFFICACITÉ DES FILIÈRES D'ÉPURATION ET CONTAMINATION SUR DES SITES LITTORAUX AVEC COQUILLAGES



Maître de stage :

Jean Duchemin - Expert Eau et Santé – DST

Naïs COLLET

Année 2011-2012

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier chaleureusement Jean Duchemin pour m'avoir fait confiance, accompagné, conseillé et transmis sa soif de savoir durant ce stage. Nos campagnes de prélèvement dans toute la Normandie auront été aussi utiles qu'agréables.

Merci à Mathieu Escafre de m'avoir accueilli sur le site d'Honfleur, et bien sûr à toute l'équipe Olivier Blot, Claude Branellec, Franck Bruchon, Eric Florin, Agnès Gaben, Nathalie Herambert, Stéphanie Pedron, et Claire Perou pour l'ambiance chaleureuse qu'ils savent si bien entretenir et pour les conseils qu'ils m'ont donnés.

Un grand merci à l'équipe de Joël Dufils (Sylvie Allix, Chantal Trublet et Loïc Nogues) de l'ARS Basse Normandie délégation de la Manche et à Edouard Canteloup de la délégation du Calvados pour nous avoir aiguillés dans le choix des sites et même participés, toujours sous le soleil, aux campagnes de prélèvements et aux visites dans les stations d'épuration. Je remercie tout particulièrement Sylvie Allix de nous avoir transmis ses précieux résultats, fruits d'un long travail de suivi des huîtres sur différents sites Manchots.

Merci également à Sylvie Saillard de l'AESN de Rouen de m'avoir reçu et transmis des données extrêmement intéressantes sur la filtration membranaire. Merci également à Sylvain Ernou d'avoir pris le temps de répondre à mes questions.

Je remercie bien sûr Pierre Le Cann (EHESP), Christophe Gantzer (LCPME), Fabienne Loisy (CEERAM) et Soizick Le Guyader (Ifremer) qui nous ont permis d'y voir plus clair dans ce domaine ne demandant qu'à être exploré qu'est la virologie de l'environnement. Leurs éclairages ont été précieux.

Merci aux techniciens du SATESE de Seine Maritime, de la Manche et du Calvados pour les nombreuses informations transmises, en particulier à Cyril Ligot du SATESE 76 et à Maxime Restoux du SATESE 14 pour leur patience face à mes nombreuses questions et pour les données sur la désinfection. Les prélèvements dans les stations d'épuration n'auraient pas été possibles sans les responsables d'exploitation et les techniciens de Véolia, Lyonnaise des eaux, SAUR, et Nantaise des eaux, un grand merci à eux pour leur disponibilité et leur amabilité.

Table des matières

1. Introduction 3
1.1. Présentation de l'entreprise 4
1.1.1. Présentations des Agences de l'Eau 4
1.1.2. Agence de l'Eau Seine-Normandie (AESN) 4
1.2. Les virus entériques du milieu hydrique 5
1.2.1. Présentation des virus entériques 5
1.2.2. Voies de transmission et épidémiologie 5
1.2.3. Contexte épidémiologique en 2012 pour la France et la Normandie 6
1.2.4. Les virus entériques dans l'environnement et les mollusques bivalves 7
1.3. Détection des virus entériques dans l'environnement 7
1.3.1. Détection indirectes par les indicateurs 7
1.3.2. Détection directe par culture cellulaire et biologie moléculaire 8
1.4. Traitement des eaux usées urbaines : épuration biologique et désinfection 8
1.4.1. Procédés d'épuration des eaux usées urbaines (traitements primaires et secondaires) 9
1.4.2. Traitements de désinfection (traitements « tertiaires » ou d'affinage microbiologique) 11
2. Matériel et méthodes 13
2.1. Présentation des stations d'épuration et du site littoral 13
2.1.1. STEP du littoral Normand 13
2.1.2. Sites littoraux étudiés 14
2.2. Prélèvements et analyses : méthodologie 15
2.2.1. Méthode d'échantillonnage et calendrier des prélèvements 15
2.2.2. Méthode de concentration des virus dans les trois matrices 16
2.2.3. Méthode de détection des virus 16
2.2.4. Méthode de détection des E.coli 17
3. Résultats des campagnes de prélèvements 17
3.1. Caractérisation de la contamination virale des eaux brutes 17
3.2. Evolution de la concentration virale dans les eaux brutes 17
3.3. Caractérisation de la contamination virale des effluents traités 18
3.4. Efficacité de rétention des virus par les filières de traitement 18
3.4.1. Traitements secondaires : boue activée et disques biologiques 18
3.4.2. Traitement tertiaires extensifs 18
3.4.3. Traitement tertiaire intensif 19
3.5. Contamination d'un site littoral par les virus entériques 20
3.5.1. Contamination à Granville, Pointe du Roc de mars à avril 2012 20
3.5.2. Contamination à Granville, Pointe du Roc de 2005 à 2010 20
3.5.3. Contamination à Pirou plage 21

3.5.4. Contamination au site Z....21
Discussion....22
Conclusions - Perspectives....29
Liste des Figures....31
Liste des Tableaux....32
Annexes....35
Bibliographie....46
Webographie....50

Abréviations

AdV : Adénovirus
AESN : Agence de l'Eau Seine-Normandie
Afssa : Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Anses depuis 2010)
AïV : Aïchi virus
Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARS : Agence Régionale de la Santé (regroupement des DDASS et des DRASS)
AV : Astrovirus
CEERAM : Centre européen d'expertise et de recherche sur les agents microbiens (laboratoire privé de recherche et développement à Nantes)
CLI : chair et liquide intervalvaire (de coquillage)
CNR : Centre national de référence des maladies transmissibles (CNR de Dijon dirigé par Pierre Pothier est le CNR des virus entériques)
DCE : directive cadre sur l'eau
EH : équivalent habitant
EV : Entérovirus
GEA : gastroentérite aigüe
Ifremer : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer
Invs : Institut national de veille sanitaire
MES : matières en suspension
MO : matières organiques
NoV : Norovirus
PCR : Polymerase Chain Reaction
PEG : Polyéthylène glycol
RV : Rotavirus
RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SATESE : Service d'assistance technique aux exploitants de stations d'épuration
SV : Sapovirus
SDAGE : Schéma directeur d'aménagement de gestion des eaux
TGEB : Tampon glycine extrait de boeuf
TIAC : Toxi-infection alimentaire collective
STEP : Station d'épuration
T90 : temps nécessaire à l'abattement de 90% du ou des germes considérés
VHA : virus de l'hépatite A
VHE : virus de l'hépatite E

1. Introduction

Les hommes se sont rendu compte très tôt que les excréta humains étaient les vecteurs de nombreuses maladies entraînant des hécatombes comme pour la peste ou le choléra. Pourtant en France, l'épuration des eaux usées urbaines est somme toute assez récente, c'est grâce à la première loi sur l'eau de 1964 que s'est organisé leur traitement systématique.

Heureusement, des progrès énormes ont été réalisés depuis cette époque. Au début le seul but de l'assainissement urbain était d'éloigner les matières fécales des zones d'habitation. Puis les mentalités ont changé, il était devenu nécessaire de dégrader cette concentration importante de matière organique avant de la rejeter afin de prévenir l'asphyxie les rivières et les lacs. Les traitements se sont donc modernisés peu à peu, et les exigences sanitaires devenant de plus en plus drastiques, les progrès se sont portés sur les techniques de désinfection. Car aujourd'hui, les milieux sanitairement sensibles comme les zones conchylicoles, les zones de baignade sont protégés par la réglementation européenne, comme la directive baignade 2006/7/EC ou la directive conchylicole EC/113/2006 par exemple. Or, les zones littorales sont soumises à de nombreuses pressions dues aux activités humaines et un des risques majeurs à maîtriser est le risque microbiologique : bactéries, virus, protozoaires, helminthes ou champignons pathogènes.

Les indicateurs principaux de ce risque sont les germes témoins de pollution fécale *Escherichia coli* et Entérocoques intestinaux. Toutefois, il est admis maintenant qu'ils ne sont pas suffisants pour témoigner de tous les risques microbiologiques, en particulier le risque viral.

Les virus entériques se transmettent par la voie féco-orale et sont responsables des épidémies de gastroentérites aigües (GEA) hivernales, mais aussi d'hépatites A et E, ou d'autres maladies comme la poliomyélite heureusement maîtrisée dans nos contrées grâce à la vaccination. Le principal responsable de GEA toutes classes d'âge confondues est dorénavant bien connu, c'est le Norovirus, un petit virus autrefois appelé « virus de Nolwalk », de la famille des *Caliciviridae*. En seconde place se trouve le Rotavirus auquel les enfants de moins de 4 ans semblent les plus sensibles. Ces virus sont un problème de santé publique pour plusieurs raisons, mais la première est leur grande résistance dans l'environnement y compris lors du traitement des eaux usées. Une fois dans le milieu hydrique, ceux-ci risquent de se concentrer dans les sédiments et dans les bivalves filtreurs comme les huîtres, les moules ou les coques. Les doses infectantes étant faibles, estimées entre 10 et 100 virus, ces coquillages peuvent causer des TIAC (toxi-infections alimentaires collectives) portant préjudice à la santé et aux activités conchylicoles. Le fait qu'ils ne se multiplient que difficilement voir pas du tout *in-vitro* a obligé les scientifiques a développer de nombreuses méthodes pour pallier ce problème, malheureusement aucune n'est encore totalement satisfaisante.

Après une rapide présentation de la structure d'accueil, nous rappellerons de façon synthétique les informations à ce jour disponibles sur les caractéristiques phylogéniques et épidémiologiques de ces virus entériques. Il s'agira également d'identifier les différentes matrices environnementales pouvant concentrer les virus, entre autres les coquillages et les sédiments. La question cruciale des méthodes détection sera également abordée brièvement dans cette partie bibliographique afin d'éclairer le lecteur sur cette problématique.

L'efficacité de rétention ou d'élimination des virus par les stations d'épuration constitue le cœur de notre sujet en ce qui concerne les virus entérique du milieu hydrique. Après un rapide rappel des principes du traitement des eaux usées, nous identifierons les mécanismes d'élimination mis en jeu pour chaque type de traitement et leur efficacité en nous appuyant à la fois sur la littérature scientifique et des données acquises par l'Agence de l'Eau Seine Normandie.

Dans le cadre de ce stage, des campagnes de prélèvements ont été réalisées dans onze stations d'épuration du littoral Normand équipées de divers systèmes de traitements biologiques secondaires et de désinfection. Nous pourrons ainsi comparer l'efficacité décrite dans la littérature et celle mesurée sur le terrain grâce aux dernières méthodes de détection, une hiérarchisation des traitements pourra être proposée. A cette occasion, il sera également possible d'identifier quels sont

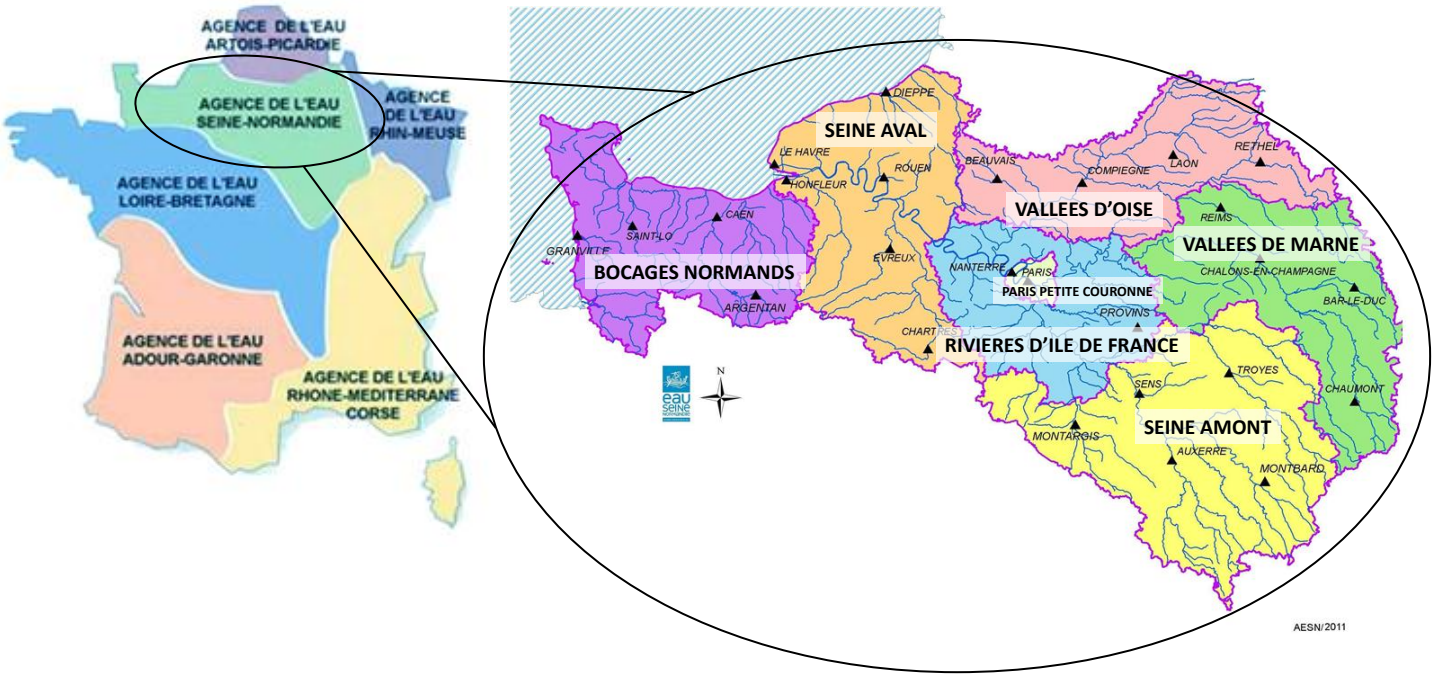


Figure 1 : Organisation des six Agences de l'Eau par bassins hydrographiques et secteurs de l'Agence de l'Eau Seine Normandie. (http://www.eau-seine-normandie.fr**)**

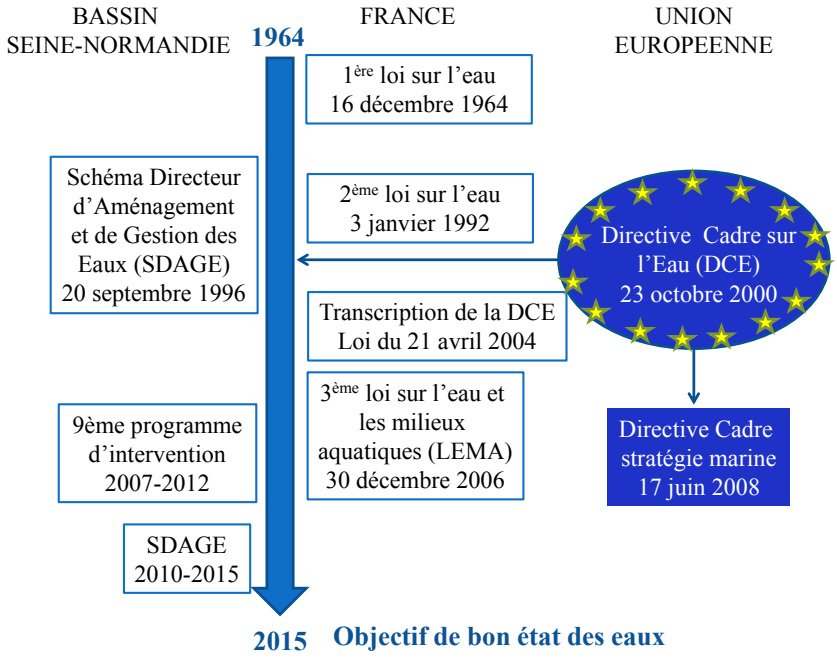


Figure 2 : Chronologie des lois sur l'eau et des outils de gestion des eaux.

les virus entériques circulant dans les selles de la population Normande en période épidémique, et si les tendances observées sont corrélées aux données nationales.

En parallèle, une approche expérimentale sur trois sites littoraux Normands nous permettra d'appréhender concrètement quelles sont les caractéristiques du cheminement de ces virus de la station d'épuration aux coquillages, en passant par l'eau et les sédiments.

Enfin, nous discuterons des solutions proposées par les scientifiques et le ministère de la santé pour maîtriser au mieux la contamination virale de l'environnement.

1.1. Présentation de l'entreprise

1.1.1. Présentations des Agences de l'Eau

Les agences de l'eau sont des établissements publics administratifs qui furent créés lors de la première loi sur l'eau du 16 décembre 1964 (Figure 2) dans le but de lutter contre la pollution des eaux (principe pollueur-payeur) et d'instaurer une gestion par bassin hydrographique. Elles sont placées sous la double tutelle du ministère chargé de l'Environnement (Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de l'Aménagement du territoire) et du ministère chargé des Finances (Ministère de l'Economie, de l'Industrie et de l'Emploi). Les six agences de l'eau sont présentées dans la Figure 1. Les missions de l'agence de l'eau consistent à :

- Préserver et améliorer la ressource en eau, lutter contre la pollution, améliorer la connaissance du milieu
- Attribuer des subventions ou des avances remboursables (aux collectivités locales, aux industriels et aux agriculteurs) pour l'exécution de travaux d'intérêt commun
- Informer le public sur l'eau

Les Comités de bassin émettent un avis, orientent la politique de l'eau et élisent les membres du Conseil administratif qui vote le budget alloué pour mettre en place les décisions adoptées. Le Comité de bassin du bassin Seine Normandie est constitué de 185 membres dont 74 élus (régions, départements, communes), 74 usagers (agriculteurs, industrie, distributeurs d'eau,…) et 37 Etat (DREAL, préfets,…). Les agences de l'eau applique alors les décisions prises par ces deux instances.

La Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE), adoptée le 23 octobre 2000 (2000/60/CE) (Figure 2), définit un cadre législatif européen cohérent et efficace. Elle se fixe comme objectif d'atteindre d'ici 2015 le bon état de toutes les masses d'eau (cours d'eau, lacs, eaux côtières, eaux souterraines). Jusque-là, les objectifs de qualité en France ne concernaient que les cours d'eau (en dehors de normes comme celles pour l'eau potable par exemple). Désormais, la DCE considère que les milieux souterrains, superficiels et littoraux sont interdépendants et qu'ils doivent tous répondre à des objectifs de bon état chimique et écologique. Le bon état des eaux passe par la définition de « zones protégées » autour des points d'usage humains (baignade, conchyliculture,…) assurant ainsi la protection de la santé humaine.

Dans le cadre de cette directive européenne, le nouveau SDAGE (Schéma directeur d'aménagement et de gestion des eaux) du Bassin Seine-Normandie a vu le jour en 2010 (Figure 2). Huit défis ont été identifiés pour répondre aux enjeux du bassin, en particulier la protection de l'environnement, de la santé et l'amélioration de la qualité de l'eau et des milieux. Pour la période de 2010 à 2015, 19 milliards d'euros ont été engagés afin d'atteindre un bon état écologique des 2/3 des cours d'eau et d'1/3 des nappes souterraines. Les fonds nécessaires proviennent des redevances perçues auprès des usagers de l'eau pour la pollution que ceux-ci occasionnent ou pour les prélèvements d'eau qu'ils effectuent. Ces fonds sont ensuite distribués sous forme d'aides financières réparties en fonction d'un programme d'intervention d'une durée de cinq ans. Actuellement les Agences de l'Eau achèvent leur 9ème programme (2007-2012).

1.1.2. Agence de l'Eau Seine-Normandie (AESN)

Tableau 1: Récapitulatif des caractéristiques desvirus entériques (AFSSA, 2007 ; de Benedictis *et al.*, 2011 ; Reuter *et al.*, 2011 ; BEH n°38, 2010)

Virus	Famille Genre	Genre(s) humain (animal)	Taille	Caractéristiques	Aspects cliniques	Dose infectieuse (DI) Excrétion fécale	Séro-prévalence	Zoonose
NoV Noro-virus	*Caliciviridae Norovirus*	GI et GII dont GII.4 majoritaire en France, et GIV très rare. (GII.11 porcin, GIII bovin, GV murin)	30 à 34 nm	ARN simple brin Non cultivable Forte variabilité génétique Liaison spécifique aux tissus digestifs de l'huître	Incubation: 1-2 jours Gastroentérite aigüe durant 2-3 jours Touche tous les âges Vomissements importants (>50% des cas)	DI : environ 10 virions 10^7 à 10^{10} virions/g de selles sur 7 à 10 jours	11 à 20 % Première cause de gastroentérites d'origine virale tous âges confondus	Probable (mutations fréquentes et similitude des souches)
SaV Sapo-virus	*Caliciviridae Sapovirus*	GI, GII, GIV et GV (GII porcin)	30 à 34 nm	ARN simple brin Non cultivable	Incubation: 1-2 jours GEA durant 2-3jours chez enfants et personnes âgées	DI : inconnue (faible) > 10^6 virions/g de selles sur 3 jours	0,3 à 9 %	Probable (porcs)
RV Rota-virus	*Reoviridae Rotavirus*	Groupe A majoritaire, plus rarement B et C. (Groupe G animaux à sang chaud)	70 nm	ARN double brin Difficilement cultivable	Incubation de 3 jours GEA de 5 à 12 jours surtout chez les enfants (50 % des GEA infantiles)	DI : 10 à 100 virions 10^{11} virions/g de selles sur 10 jours	?	Infection inter-espèces
AV Astro-virus	*Astroviridae Astrovirus*	Sérogroupes 1(majoritaire) à 8 (22 espèces porteuses, surtout aviaires)	28 à 30 nm	ARN simple brin Difficilement cultivable	Incubation : 1 à 4 jours diarrhée aqueuse durant 2 à 3 jours surtout chez les enfants et les personnes âgées	DI : inconnue > 10^6 virions/g de selles sur 12 jours	2,5 à 9 % 50 % pour le sérotype 1 chez les enfants de 5 à 12 mois	Probable (mutations fréquentes et nb. espèces concernées)
AdV Adéno-vius	*Adenoviridae Mastadenoviridae*	Espèces A à F, seul F Sérotypes 40 et 41responsables de GEA (5 espèces porteuses)	70 à 90 nm	ADN double brin Sérotypes humains 40-41 difficilement cultivables	Incubation :3 à 10 jours GEA de l'enfant de 10 à 12 jours avec syndromes respiratoires dans 20 % des cas (3 à 6 % GEA infantiles)	DI : inconnue > 10^6 virions/g de selles sur 10 jours	40 % chez les enfants de plus de 4 ans	Aucune recensée
EV Entéro-virus	*Picornaviridae Enterovirus*	Génogroupes A, B, C et D (porcin, bovin et simien)	24 à 30 nm	ARN simple brin Cultivable sauf certaines souches	Incubation : 1 semaine Méningites, fièvre, GEA et autres pathologies Asymptomatique dans 95 % des cas	DI50 : 10 à 1000 virions 10^3 à 10^6 virions/g de selles sur 1 mois	?	Probable (similitude avec le porc)
AïV Aïchi virus	*Picornaviridae Kobuvirus*	Un seul groupe humain connu (bovin et porcin)	30 nm	ARN simple brin Non cultivable	GEA, certainement souvent asymptomatique	DI : inconnue	80 à 95 %	Probable
VHA Virus de l'hépa-tite A	*Picornaviridae Hepatovirus*	GI et GIII (simien)	28 à 30 nm	ARN simple brin Difficilement cultivable	Incubation : 1 mois Hépatite A souvent asymptomatique chez les enfants et symptomatique chez les adultes dans 70 à 90 % des cas	DI : 10 à 100 virions 10^9 virions/g de selles sur 3 semaines	<1 % dans pays industrialisés et 100 % pays en voie de développement	Aucune recensée
VHE Virus de l'hépa-tite E	*Hepeviridae Hepevirus*	Génotypes 1 à 9 (14 espèces porteuses, seul le porc est porteur à échelle mondiale)	27 à 33 nm	ARN simple brin Difficilement cultivable	Incubation : 40 jours Hépatite aigüe Hépatite fulminante (1% des cas, jusqu'à 30% chez les femmes enceintes)	DI :100 virions 10^9 virions/g de selles sur 2 semaines	1 à 5 % pays industrialisés 1 0 à 50 % pays en voie de développement	Animaux d'élevage (porcs) et sauvages (sangliers, cervidés,…)

Le bassin Seine-Normandie s'étend sur une surface de 97 000 km^2 (soit environ 1/5^e de la France métropolitaine) englobant 8 régions. Il comprend plus de 600 km de côtes et plus de 70 000 km de cours d'eau soumis à de fortes pressions via l'implantation de 40% de l'activité industrielle et 30% de la population nationale. Pour gérer cette forte démographie, 2 500 stations d'épuration y sont implantées.

L'Agence de l'eau Seine Normandie, comptant 500 salariés, est organisée de la manière suivante :

- un siège définit la stratégie générale, la politique d'intervention, les objectifs correspondants via trois directions fonctionnelles qui assurent le pilotage de la politique de l'Agence. Le siège est basé à Nanterre, tandis que le chargé de mission « eau et santé » (J.Duchemin) et le service en charge du littoral et de la mer (SLM) en sont détachés et basés à Honfleur
- sept directions territoriales - et maritimes pour celles qui ont une façade correspondante - en charge de la mise en œuvre opérationnelle des actions de l'Agence comme présenté Figure 1 pour une gestion au plus près des collectivités territoriales.

1.2. Les virus entériques du milieu hydrique

1.2.1. Présentation des virus entériques

Les virus ne sont pas à proprement parler des organismes « vivants » puisqu'ils dépendent d'un hôte pour se multiplier : ce sont des parasites obligatoires. Une fois dans l'organisme hôte, ils pénètrent dans la cellule grâce à des récepteurs cellulaires, ils vont alors détourner la machinerie cellulaire pour multiplier les protéines de la capside et leur génome, une fois assemblés ils sont libérés hors de la cellule. Dans le cas des virus entériques responsables de gastroentérites (GEA), c'est-à-dire une inflammation de l'estomac et de l'intestin, ceux-ci se multiplient dans les entérocytes (cellules de l'intestin). Cela se traduit par une perte en eau pouvant causer des diarrhées, des maux de ventre ou de la fièvre. Dans le cas des virus responsables d'hépatites (hépatite A et E), la multiplication des virus a lieu dans les hépatocytes (cellules du foie) entraînant parfois des ictères, c'est-à-dire la jaunisse ou des infections fulminantes accompagnées de fièvre.

Les virus considérés ici sont les virus de l'hépatite A (VHA) et E (VHE), les Norovirus (NoV), les Sapovirus (SV), les Rotavirus (RV), les Astrovirus (AV), les Adénovirus (AdV), les Entérovirus (EV) et les Aïchi virus (AïV). Tous ces virus possèdent un génome à ARN (acide ribonucléique) à l'exception d'AdV qui est un virus à ADN (acide désoxyribonucléique). Ce sont tous des virus non enveloppés, dits nus mais « protégés » par une capside de nature protéique, ce qui leur confère une meilleure résistance dans l'environnement. En effet, les virus ont besoin d'être complets pour être infectieux. Or, l'enveloppe est un facteur de fragilité car elle dérive de la membrane de la cellule hôte de nature lipidique, au contraire de la capside, faite d'un maillage de protéines plus stable (http://www.virologie-uclouvain.be).

Les caractéristiques phylogénétiques et épidémiologiques de ces virus sont présentées de façon résumée dans le Tableau 1 s'appuyant sur le « Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale » édité par l'AFSSA (2007). Pour plus de détails se reporter en Annexe 1. Ces virus posent problème en raison de plusieurs facteurs, en plus de leur résistance dans l'environnement: la dose infectieuse est faible (10 à 100 virions) alors même que les quantités excrétées dans les matières fécales et les durées moyennes d'excrétion sont importantes (entre 10^6 et 10^{11} virions/g de selles pendant au maximum 1 mois). De plus, ils sont difficiles à cultiver voire non cultivables. C'est-à-dire qu'ils sont pour la plupart actuellement détectables uniquement via les techniques de biologie moléculaire développées en 1.3.2 (PCR), c'est le génome viral qui est quantifié, ne témoignant pas du caractère infectieux ou non du virus.

1.2.2. Voies de transmission et épidémiologie

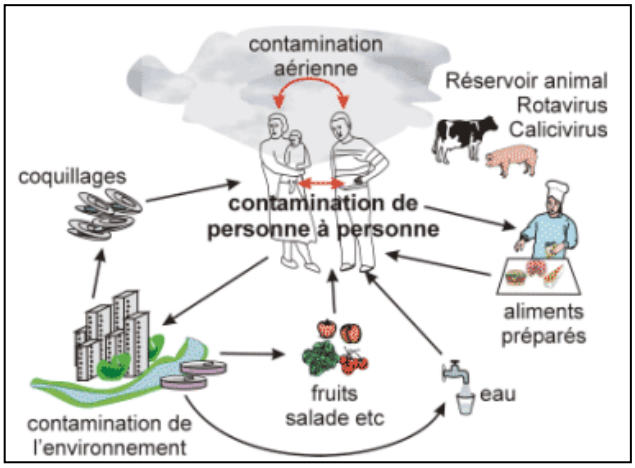


Figure 3 : Cycle de transmission des virus responsables de gastro-entérites. (Madeline, 2003, P. Pothier, CNR Dijon**)**

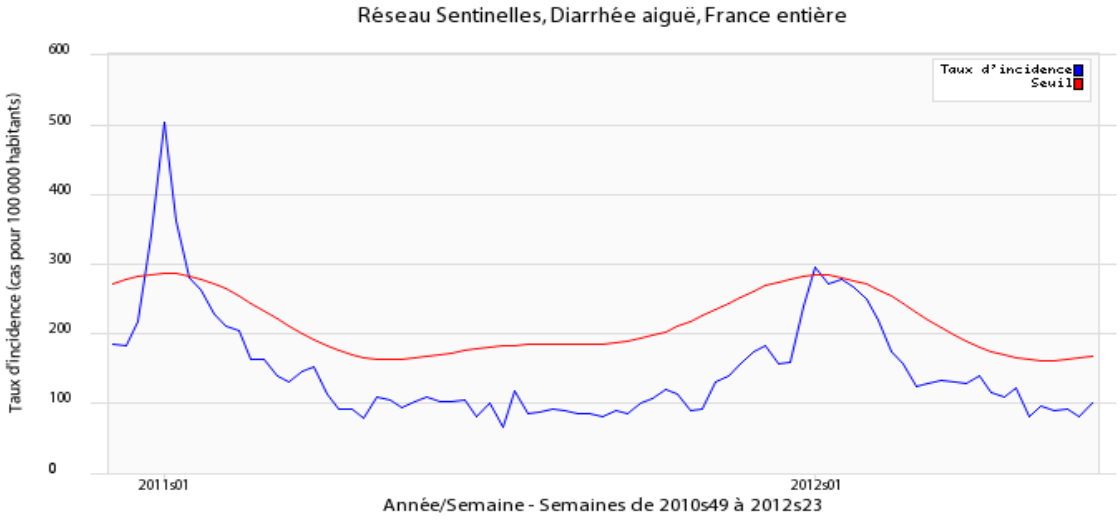


Figure 4 : Taux d'incidence des GEA en France entre décembre 2010 et juin 2012. (Sentiweb, INSERM, UPMC**)**

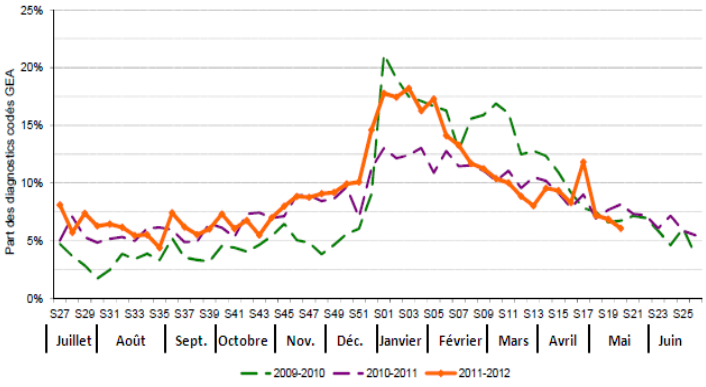


Figure 5:Evolution du nombre de GEA ayant entraîné une consultation chez le médecin généraliste en Normandie. (InVS, Cire Normandie, 2012**)**

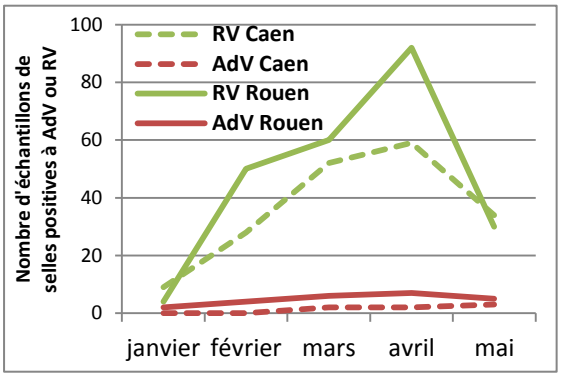


Figure 6:Nombre de selles positives à RV ou AdV (test rapide immunologique) dans les CHU de Caen (14) et de Rouen (76) de janvier à mai 2012. (CHU de Caen et de Rouen)

La principale voie de transmission de ces virus a lieu de personne à personne par l'intermédiaire des mains sales (voie féco-orale) ou des aérosols. Les principales voies de contamination sont présentées Figure 3. D'après Kroneman *et al*., (2008) et l'EFSA (2012 b), les NoV qui sont les principaux agents de GEA d'origine virale dans le monde, sont transmis dans environ 83 % des cas par le contact entre personnes, dans 3 % des cas par l'ingestion de produits de la mer et dans 2 % des cas par l'ingestion d'eau contaminée. Les autres vecteurs de transmission sont les fruits et légumes irrigués avec de l'eau contaminée (surtout les fruits fragiles comme les framboises qui ne sont pas rincés avant emballage) ou les plats contaminés lors de leur préparation. Auparavant, la part des GEA d'origine virale était très largement sous-estimée en raison des lacunes en matière de méthodes de détection. Mais aujourd'hui avec le progrès de la biologie moléculaire, on constate que les virus entériques comptent parmi les principaux responsables des foyers de GEA. Pour preuve, Belliot *et al*. (2010), montre que sur 317 épidémies survenues en France pendant les saisons hivernales 2007-2008 et 2008-2009, avec recherche de 5 virus entériques, 85% étaient positives pour un virus, dont 95% étaient des NoV.

Les virus entériques ont une incidence mondiale. Deux tendances sont observées selon le niveau de développement des pays. Dans les pays à faible niveau socio-économique la population sera touchée régulièrement car la variété et la quantité de virus en circulation est plus élevée. Au contraire, dans les pays industrialisés, les virus responsables de GEA auront un impact plus important en période hivernale. En France, le pic épidémique est atteint en janvier, en moyenne sont enregistrés près de 1,5 millions de cas lors des épidémies (Invs, 2012). Ce phénomène est multifactoriel : i) les températures faibles et l'humidité favorise la survie des virus dans l'environnement y compris sur les surfaces, ii) en hiver les personnes sortent moins et les espaces sont moins aérés favorisant les contaminations par aérosols (vomissements), iii) les fortes pluies augmentent les risques de contamination des coquillages par lessivage des sols ou débordement des réseaux d'eaux usées et des stations d'épuration. Les foyers infectieux apparaissent le plus souvent, et même de façon sporadique, dans les communautés, maisons de retraite, hôpitaux, crèches ou encore bateaux de croisière, car il y a plus de promiscuité et/ou de personnes immunodéprimées. Les TIAC (Toxi infections alimentaires collectives) à Norovirus sont aussi favorisées majoritairement en hiver par de la transmission féco-orale via les aliments. En revanche, les infections à AdV ne se présentent pas sous forme de flambées précises comme NoV et RV mais plutôt comme des épidémies sporadiques.

1.2.3. Contexte épidémiologique en 2012 pour la France et la Normandie

D'après l'Invs (Institut National de Veille Sanitaire) qui recense les cas déclarés de gastroentérites aigües depuis 1991 en collaboration avec l'INSERM et l'Université Pierre et Marie Curie via le réseau Sentinelles, les épidémies commencent en général fin décembre pour une durée moyenne de 7,5 semaines. Une période épidémique est définie par le dépassement d'un seuil calculé sur la moyenne des années antérieures, ce seuil est d'environ 254 cas pour 100 000 habitants. Le pic épidémique est atteint en janvier, en moyenne sont enregistrés près de 1,5 millions de cas lors des épidémies. Les deux derniers pics épidémiques hivernaux de 2010/2011 et 2011/2012, sont les plus courts jamais enregistrés: 3 semaines et 1 semaine (Figure 4). Le CNR de Dijon dirigé par Pierre Pothier (Centre National de Référence des virus entériques) estime que chaque hiver en France les GEA d'origine virale entraînent plus de 3 millions de consultations avec des coûts conséquents (en 2011 aux USA : 2 milliards de dollars soit 1,5 milliards d'euros).

D'après le CIRE de Normandie (Point épidémiologique n°3 du 24/05/12), l'épidémie saisonnière de gastro-entérites aiguës a débuté en semaine 2011-51, a atteint un pic épidémique en semaine 2012-03 avant de diminuer progressivement à partir de la semaine 2012-06 (Figure 5). Parallèlement, les données obtenues auprès des CHU de Rouen et de Caen montrent une progression des cas de GEA à Rotavirus (nécessitant une hospitalisation) avec un pic épidémique beaucoup plus tardif en avril (Figure 6).

1.2.4. Les virus entériques dans l'environnement et les mollusques bivalves

Les virus entériques sont retrouvés dans toutes sortes de matrices environnementales en raison de leur grande résistance par rapport aux bactéries aux stress biotiques et abiotiques (pH, température, UV, compétition,…). Ils peuvent ainsi être retrouvés dans les eaux douces et marines. Une étude de Wyn-Jones *et al*. (2011) a permis d'entrevoir la contamination des eaux à échelle européenne (24 sites testés dans 9 pays), 40 % des eaux (de surfaces et marines) étaient contaminées par le génome d'AdV et/ou de NoV GI et GII, témoignant d'une contamination virale plus ou moins récente (la présence de génome viral ne permet pas de conclure à une pollution récente). Dans l'eau, les virus s'adsorbent préférentiellement aux matières en suspension (MES) décantables, entraînant la concentration des virus dans les sédiments où ils peuvent persister plusieurs semaines à plusieurs mois. Leur remise en suspension constitue un facteur de risque, notamment via les mollusques bivalves où ils se reconcentrent.

En effet, les bivalves filtreurs concentrent les virus entériques dans leurs tissus digestifs (jusqu'à 50 fois par rapport à l'eau (Loisy *et al*., 2005) car ceux-ci filtrent de grandes quantités d'eau pour assurer leur besoin nutritifs. Par ailleurs, les huîtres concentrent de façon préférentielle les NoV car, elles arborent un motif antigénique similaire à celui des groupes sanguins humains reconnu par ces virus (Le Guyader *et al*., 2006 ; Mc Leod *et al*., 2009). Cela représente un risque sanitaire mal maîtrisé car la commercialisation des coquillages, régie par le règlement européen CE/854/2004, dépend uniquement de la concentration en *E.coli* qui doit être inférieure à 230 *E.coli*/ g de chair et de liquide intervalvaire (CLI), le classement sanitaire des coquillages est présenté en Annexe 2. Or, la présence de cet indicateur de contamination fécale n'est pas toujours corrélée à la présence de virus entériques. *E.coli* est éliminé beaucoup plus vite que les virus, après une concentration avec plusieurs milliers d'*E.coli*/g de CLI, 48 h suffisent en moyenne pour atteindre la concentration réglementaire < 230 *E.coli*/g CLI, tandis qu'il faut environ 3 semaines à un mois pour observer la disparition des virus (Le Saux & Pommepuy, 2003).

1.3. Détection des virus entériques dans l'environnement

1.3.1. Détection indirectes par les indicateurs

Certains indicateurs seront intéressants pour estimer l'efficacité de traitements (indicateurs d'efficacité), d'autres seront considérés comme des indicateurs de présence de pathogènes. Les indicateurs bactériens de contamination fécale, *E.coli* et le groupe des Entérocoques, sont bien connus et beaucoup employé mais il est admis qu'ils ne sont pas le reflet fidèle de la contamination virale. Les indicateurs bactériens sont excrétés dans les selles car présents de façon endogène dans le tractus intestinal (10^6 à 10^8 bactéries/ g de selles) alors que les virus sont excrétés en cas d'infection (jusqu'à 10^{10} virions/ g des selles), soumis à de fortes variations saisonnières et géographiques. Toutefois leur présence en forte concentration dans le milieu indique une contamination fécale récente (ou plus ancienne pour les Entérocoques) et donc un risque sanitaire potentiel.

Les bactériophages, les virus de bactéries, s'apparentent d'avantage à la structure des virus entériques mais leur écologie est différente. Ils restent toutefois intéressants pour estimer l'efficacité des traitements. Les coliphages somatiques sont des bactériophages qui possèdent une affinité avec la paroi d'*E.coli*. Ils sont intéressants du fait de leur présence fréquente et en grande quantité dans les selles. De plus, le temps d'analyse est plus court que chez les indicateurs bactériens. Mais ils peuvent potentiellement se multiplier dans l'environnement (en présence d'*E.coli*) et leur sensibilité aux traitements d'épuration semble inférieure à celle des virus entériques. Les bactériophages à ARN-F apparaissent moins fréquemment que les précédents car ils ont une affinité avec les pili sexuels d'*E.coli*, or ceux-ci ne sont pas toujours exprimés chez la bactérie, il est donc peu probable qu'ils puissent se multiplier dans l'environnement. Ils permettent de discriminer l'origine de la pollution fécale dans les eaux de surface (bactériophages génogroupe II et III humains, génogroupes I et IV animaux (Ogorzaly *et al*., 2009). Les phages MS2, ayant la même

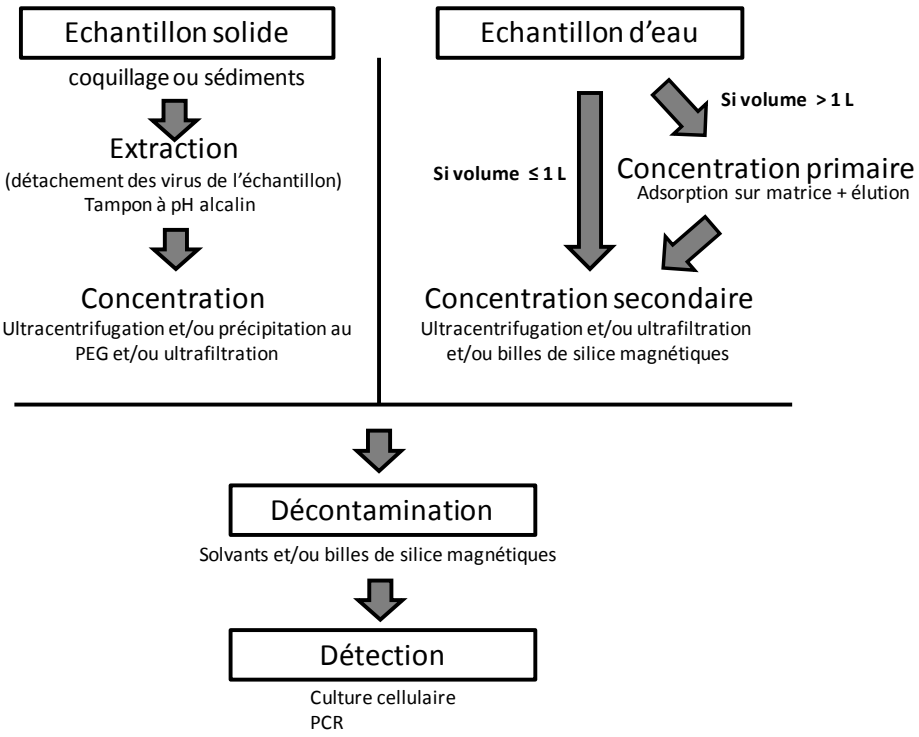


Figure 7 : Schéma des principales étapes nécessaires à la détection de virus entériques dans l'environnement.

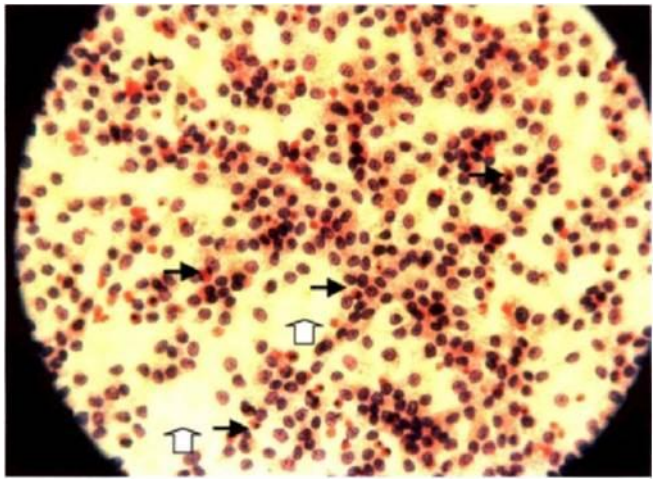


Figure 8 : Culture en milieu liquide de cellules BGM infectées par Entérovirus (x400). Flèches noires : ECP; Flèches blanches: plages de lyse. (Madeline, 1999)

taille que les virus pathogènes hydriques, sont intéressants pour estimer l'efficacité des traitements de filtration membranaire. Les bactériophages de *B.fragilis* sont peu présents dans les effluents urbains, ce qui est encore plus vrai dans les eaux de surface. En conséquence, leur intérêt en tant qu'indicateur est limité. Un tableau détaillant les avantages et inconvénients des bactériophages est présenté en Annexe 3.

1.3.2. Détection directe par culture cellulaire et biologie moléculaire

Les virus n'étant pas des organismes « vivants » autonomes, leur multiplication pour *in fine* détecter leur présence comme pour les bactéries pose plus de problème. Il est donc indispensable de passer par une étape de concentration de l'échantillon de 100 à 1000 fois (AFSSA, 2010) pour récupérer spécifiquement les virus. Ces techniques exploitent généralement la capacité des virus à s'adsorber aux surfaces chargées (laine de verre, zetapore,…), car globalement les virus sont chargés positivement à pH acide. D'autres méthodes peuvent y être associées comme l'ultrafiltration, l'ultracentrifugation ou la précipitation par le polyéthylène glycol (PEG) comme présenté Figure 7. La concentration des virus dans l'échantillon engendre inévitablement la concentration concomitante de molécules pouvant gêner la détection (lipides, protéines, acides humiques,…), c'est pourquoi des étapes de décontamination ou détoxification sont ajoutées. De plus amples informations sur les méthodes de concentration et la nature des inhibiteurs peuvent être consultées en Annexe 2.

Quant aux méthodes de détection à proprement parler, la plus ancienne et la seule qui permette de mesurer le caractère infectieux des virus, est la culture cellulaire. Avec la culture en milieu liquide, les virus sont dénombrés via un effet cytopathique (ECP), c'est-à-dire des cellules à l'aspect anormal (Madeline, 1999 ; Hamza *et al*., 2011), ou des plages de lyse lorsque les cellules sont complétement détruites (« trous » au niveau du tapis cellulaire) comme présenté Figure 8. Les cellules peuvent aussi être suspendues dans la gélose ou recouvertes de gélose, ce sont alors des « plaques » qui sont dénombrées. Il est admis qu'une unité infectieuse contient 10 à 100 virions (Wyn-Jones & Sellwood, 2001). Il existe plusieurs lignées cellulaires, chacune étant plus ou moins adaptée à des souches virales, la lignée BGM (Buffalo green monkey) est la plus souvent utilisée. La spécificité vis-à-vis des virus étant imparfaite, l'AFSSA (2007) recommande l'utilisation en parallèle d'au moins deux souches cellulaires.

Malheureusement certains virus ne sont pas cultivables ou le sont difficilement comme illustré dans le Tableau 1. C'est pourquoi l'évolution récente des outils de biologie moléculaire (PCR) s'impose peu à peu face à la méthode par culture. Pour rappel, la PCR (polymerase chain reaction) consiste à amplifier une séquence d'ADN grâce à une enzyme (Taq polymerase), et ce après une étape de rétrotranscription (RT-PCR dans ce cas) lorsque le génome est constitué d'ARN comme chez les virus entériques. Cette méthode est quantitative lorsque le génome viral amplifié est comparé à un étalon (qRT-PCR). Mais ses deux principaux défauts restent sa sensibilité aux inhibiteurs et le fait que le génome insuffisamment dégradé peux être encore détecté dans l'environnement alors qu'il n'y a plus de virus infectieux (Gassilloud *et al*., 2003).

Enfin, l'absence de consensus entre laboratoire sur les méthodes employées limite la comparaison des données. Un projet de normalisation européen, le CEN/WG6/TAG4, devrait aboutir d'ici la fin de l'année 2012 pour permettre d'harmoniser les méthodes de détection des virus entériques dans les coquillages, les fruits, les légumes et les eaux embouteillées.

1.4. Traitement des eaux usées urbaines : épuration biologique et désinfection

Les eaux usées urbaines concentrent un grand nombre et une grande diversité de virus entériques, c'est pourquoi celles-ci peuvent représenter une source de pollution en cas de dysfonctionnement des stations d'épuration (STEP) ou de forts pics épidémiques. D'où la nécessité de comprendre les mécanismes virulicide ou de rétention en jeu lors de l'épuration des eaux usées urbaines, l'efficacité de chaque étapes et de chaque système vis-à-vis des différentes familles de virus (ou de leur modèle d'étude). Le traitement des eaux usées passe par un traitement biologique

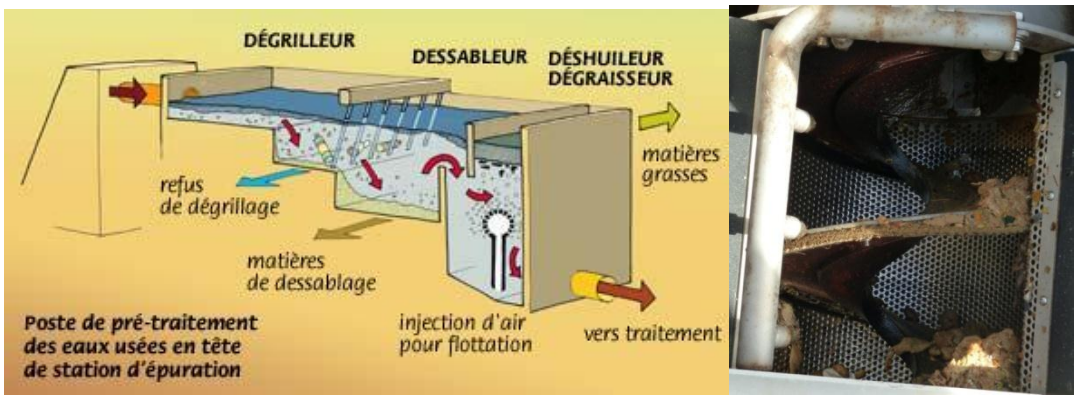


Figure 9: Schéma de principe des étapes de prétraitement des eaux usées et photo d'un tamis rotatif à mailles rondes. (http://geseaumar.e-monsite.com/pages/dossier/les-solutions-apportees.html)

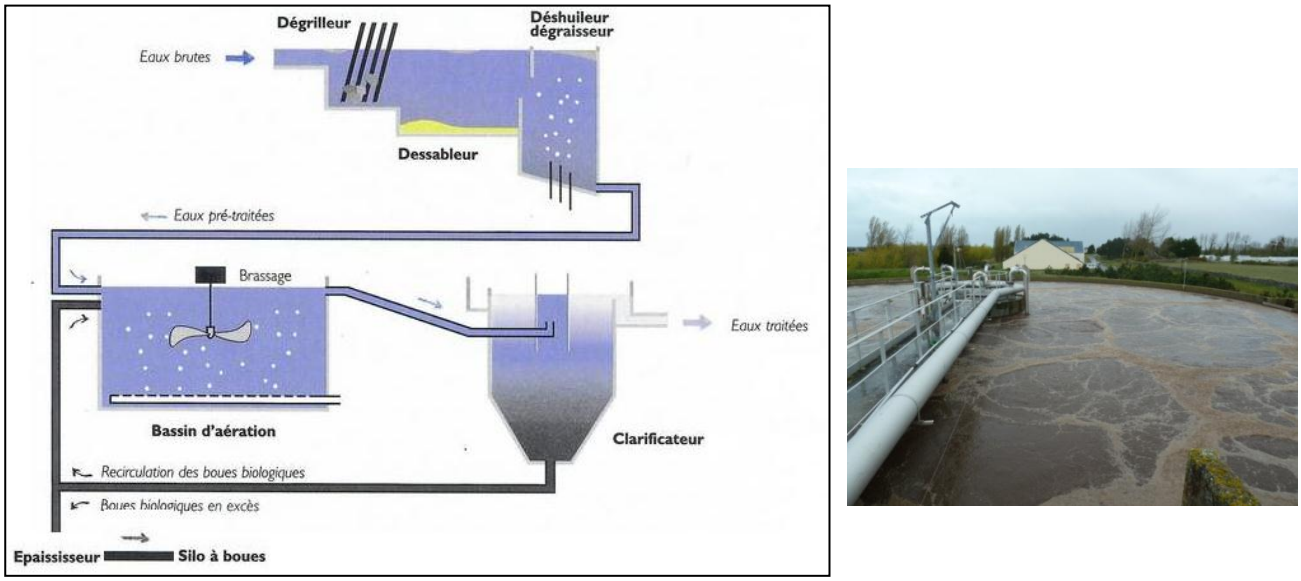


Figure 10 : Schéma de principe du fonctionnement d'une filière à boues activées et bassin d'aération en fonctionnement. (Agences de l'Eau, 1998)

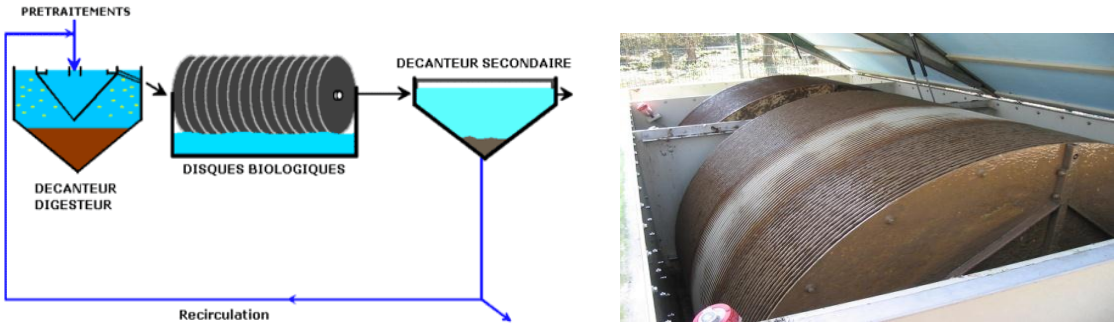


Figure 11 : Schéma de principe de la filière à disques biologiques et exemple d'une installation.(http://www.oieau.org et Cg29-DEE-SATEA, 2008)

(ou secondaire) éliminant la majorité de la matière organique et des matières en suspension avant rejet dans le milieu. Dans le cas de milieux récepteurs sanitairement sensibles (zones de baignades, conchyliculture et pêche à pied des bivalves) une étape de désinfection est souvent ajoutée en aval pour maîtriser la pollution microbiologique. L'arrêté du 22 juin 2007 fixe les performances minimales des stations d'épuration, toutefois seuls les critères physico-chimiques sont pris en compte. Seules certaines communes doivent respecter un niveau de rejet maximal sur critère bactériologique fixé par arrêté préfectoral (basé sur *E.coli* et Entérocoques intestinaux).

Dans cette partie sont présentés le principe et les capacités de rétention de chaque filière de traitement ; le fonctionnement des systèmes et leurs avantages et inconvénients sont détaillés en Annexe 4.

L'élimination des virus sera exprimée en Unités log (U.log) calculée ainsi :

Abattement des virus (U.log) = $\log_{10}$ (N virus avant traitement / N virus après traitement)

1.4.1. Procédés d'épuration des eaux usées urbaines (traitements primaires et secondaires)

1.4.1.1. Prétraitement et traitement primaire

Avant de subir le traitement secondaire, l'eau usée passe par une étape de prétraitement et de traitement primaire. Le prétraitement consiste à se débarrasser des déchets les plus grossiers, des graisses et du sable via le passage par un dégrilleur (Figure 9) et un déshuileur-dessableur. Le dégrilleur retient les plus gros déchets (mégots, branches,…), les grilles sont en général espacées de 1 à 3 cm, sauf cas particulier lorsqu'il y a un système de filtration membranaire en aval (cf. 1.4.2), le dégrilleur est alors remplacé par un tamis rotatif à maille ronde plus fine présenté Figure 9 bis (0,3 à 0,5 mm de diamètre). La quantité de virus éliminée lors de cette étape est négligeable.

Le traitement primaire éventuel permet d'éliminer une partie des matières organiques par décantation dans un bassin (élimination de 30 % de la matière organique et 50 % des matières en suspension). Cette étape, facultative, permet d'après Lucena *et al.* (2004) d'obtenir un abattement de 0,3 à 0,5 U.log sur les virus en extrapolant la réduction mesurée des bactériophages.

1.4.1.2. Traitements secondaires intensifs et extensifs

Le traitement biologique des eaux usées repose sur l'intensification du processus naturel de dégradation de la matière organique par la microflore bactérienne. Cette microflore se développe sous la forme d'un biofilm fixé ou de « flocs » sur lequel se greffe toute une microfaune composée de protozoaires, champignons, levures, œufs d'helminthes et virus. Les biofilms, maintenus par des exopolysaccharides (polymères secrétés par les bactéries) et des pontages via des ions divalents, forment un entrelacs agissant comme un filet et piégeant les virus par des interactions hydrophobes.

Les systèmes de traitement exploitent ces biofilms sous forme de « culture libre » ou de « culture fixée » sur un support plus ou moins fin. Ils sont classés en « intensifs » ou « extensifs » sur critère de temps de séjour de l'effluent, de la consommation d'énergie et de l'emprise foncière nécessaire. Plus le temps de séjour de l'effluent dans le système sera long et le contact entre le biofilm et les virus intime, meilleur sera le phénomène d'adsorption.

Les systèmes de traitement intensifs

- La boue activée en aération prolongée (Figure 10)

C'est le traitement intensif par « culture libre » de référence, l'effluent est brassé et aéré de façon intensive dans un bassin avec alternance de phases anoxiques, le temps de séjour y est d'environ 24 h (filière complète). Les MES sont éliminées par passage dans un clarificateur. Aux stations d'épuration de Caen et Dieppe sont mesurés respectivement 1,5 et 2 U.log d'abattement pour Entérovirus (Anjou Recherche, 1997 ; Madeline, 2003). A la station de Valenton, un abattement similaire de 1,4 U.log de virus cultivables est mesuré (Vilagines *et al*. (1997). Li *et al*. (2011) mesurent un abattement des Rotavirus de l'ordre de 2 U.log par ICC-RT-PCR. Pour comparaison, l'abattement des *E.coli* est de l'ordre de 2 U.log en moyenne avec ce système.

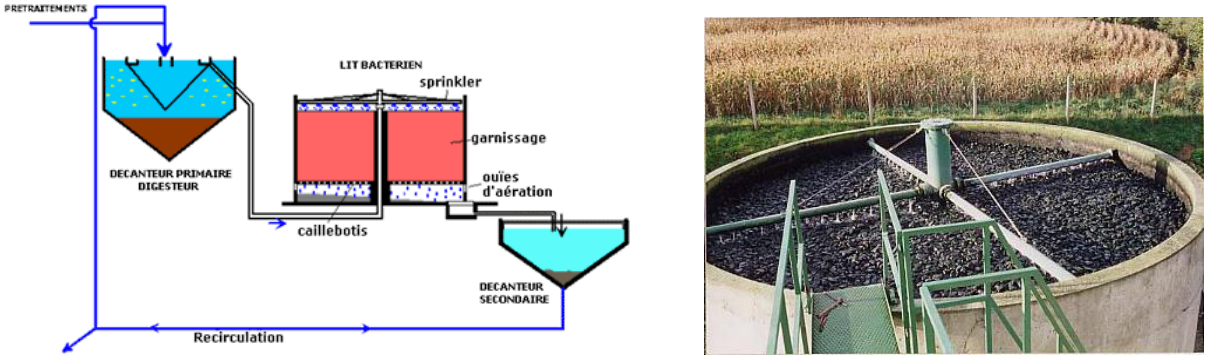


Figure 12 : Schéma de principe d'une filière de traitement par lit bactérien et exemple d'un lit bactérien avec pouzzolane. (http://www.oieau.org et Cg29-DEE-SATEA, 2008)

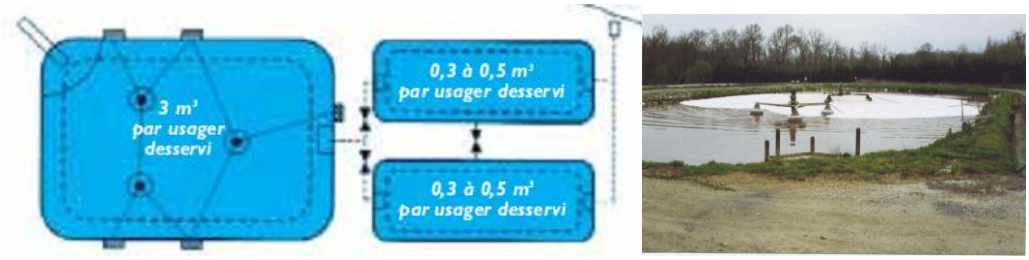


Figure 13 : Schéma de principe du lagunage aéré et exemple de configuration pour la lagune d'aération. (Agences de l'Eau, 1979 et Cg29-DEE-SATEA, 2008)

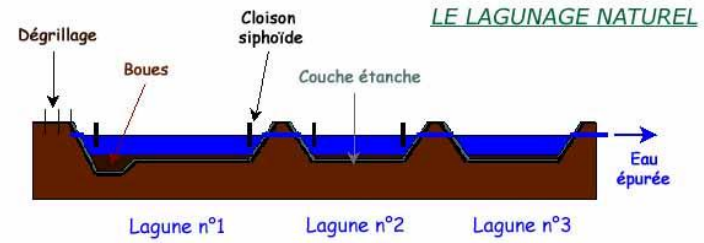


Figure 14 : Schéma de principe d'un lagunage naturel complet. (www.univ-lehavre.fr)

Tableau 2: Taux d'abattements observés pour des lagunages naturels.

Virus	Abattement moyen (log)	Période de l'année	Temps de séjour	Références
NoV GI **NoV GII**	1 (1 à 5,5) 3,7 (3,5 à 6)	Moyenne de Décembre à Juin	Plusieurs semaines	da Silva *et al.*, 2007
Coliphages **Phages ARN-F**	3 (2,25 à 3,25) 2,25 (1,75 à 2,25)	Hiver	49 jours	Lucena *et al.*, 2004
Coliphages **Phages ARN-F**	4 (3,25 à 4,5) 3,25 (2,75 à 4,25)	Eté		

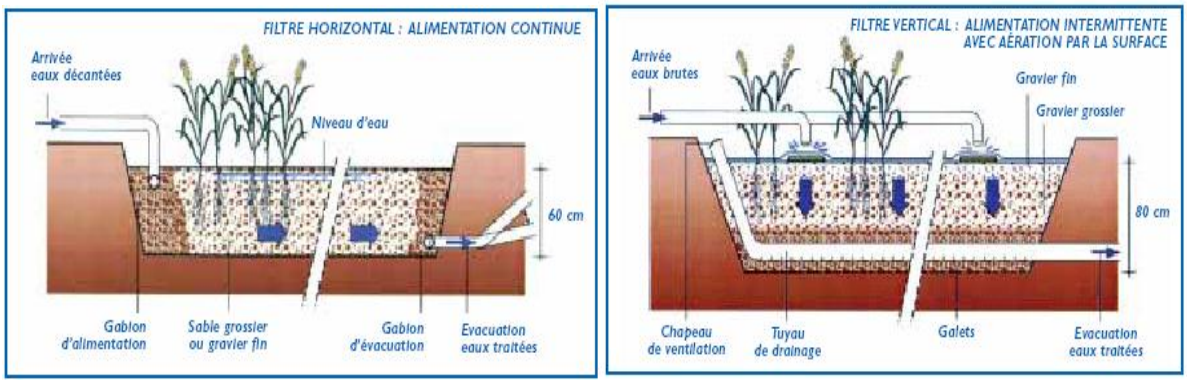


Figure 15 : Schéma de principe d'un filtre planté à écoulement vertical et à écoulement horizontal. (AESN-CEMAGREF, 1998).

- Les disques biologiques ou biodisques (Figure 11)

C'est un traitement par « culture fixée » sur des disques (en métal, polystyrène ou résine), ceux-ci tournent dans une auge contenant l'effluent préalablement décanté, aérant ainsi naturellement la biomasse fixée. Aucune donnée n'a pu être rapportée quant à l'efficacité des biodisques sur les virus, nous pouvons toutefois supposer que l'efficacité sera inférieure à la boue activée car le contact avec le biofilm est moins intime. En ce qui concerne les *E.coli*, Viovi (2004) rapporte un abattement de l'ordre de 1 U.log en tenant compte du traitement primaire.

- Les lits bactériens à forte charge (Figure 12)

C'est un traitement par « culture fixée », l'effluent préalablement décanté passe au travers d'un massif de matériau poreux (pouzzolane ou plastique) aéré naturellement, les MES sont piégés dans le clarificateur avant rejet dans le milieu récepteur. Le massif est alimenté en effluent via des « sprinklers » (tourniquets hydrauliques). D'après Viovi (2004), un abattement de 0,7 U.log est observé sur les virus. Les taux d'abattement pour *E.coli* sont en moyenne de 1,5 U.log décantation primaire incluse.

Les systèmes de traitement extensifs

- Le lagunage aéré (Figure 13)

C'est un traitement par « culture libre » avec une lagune d'aération en tête, puis deux lagunes de décantation en parallèle. Ce système est comparable à la boue activée mais le temps de séjour dans le premier bassin est de 20 jours au lieu de 24h. Aucune donnée sur l'efficacité virucide de ce système n'a pu être trouvée dans la littérature scientifique. Mais des résultats, non publiés, recueillis par l'AESN permettent de mesurer un abattement sur AV de 3,7 U.log en moyenne sur trois prélèvements ponctuels entre août et octobre 2007 (sur une seule STEP). L'abattement en *E.coli* est de 2 U.log d'après Viovi (2004).

- Le lagunage naturel complet (Figure 14)

C'est un traitement par « culture libre » comportant une succession de trois ou quatre bassins dans lesquels se met en place un équilibre entre une flore aérobie photosynthétique fournissant l'oxygène et une flore hétérotrophe qui va dégrader la matière organique en consommant cet oxygène. Le phénomène d'adsorption par le biofilm est négligeable étant donné l'effet de dilution, l'effet virucide sera plutôt joué par le rayonnement solaire (UV), la sédimentation et autres stress abiotiques. Les taux d'abattement mesurés par da Silva *et al*. (2007) et Lucena *et al*. (2004) pour les virus entériques ou les bactériophages sont présentés Tableau 2. Le lagunage naturel permet donc un abattement moyen de 3,3 U.log sur les virus (les virus étant retrouvés principalement en hiver et au début du printemps, il n'est pas facile de déterminer l'efficacité en été). En comparaison, les abattements sur *E.coli* pour un temps de séjour minimum de 3 semaines sont de 3 à 4 U.log en été et de 1,5 à 2 U.log en hiver.

- Les filtres plantés de roseaux (FPR) (Figure 15)

L'épuration par « culture fixée » à lieu dans un massif filtrant composé de couches successives de gravillons, les racines des macrophytes jouent un rôle d'aération et limitent le colmatage en surface via le mouvement des tiges. Il existe des filtres plantés à écoulement vertical et horizontal, l'efficacité du filtre horizontal est meilleure que celle du vertical mais il est plus sensible au colmatage. Les FPR sont organisé sur au moins deux étages, un étage comportant généralement 2 à 3 casiers alimentés alternativement. Vidales *et al*. (2003) et Gerba *et al*. (2000) mesurent respectivement 1 U.log et 1,5 U.log d'abattement sur bactériophages pour des filtres horizontaux. L'efficacité de rétention des coliformes fécaux attendue est d'environ 1 à 2 U.log (Viovi, 2004).

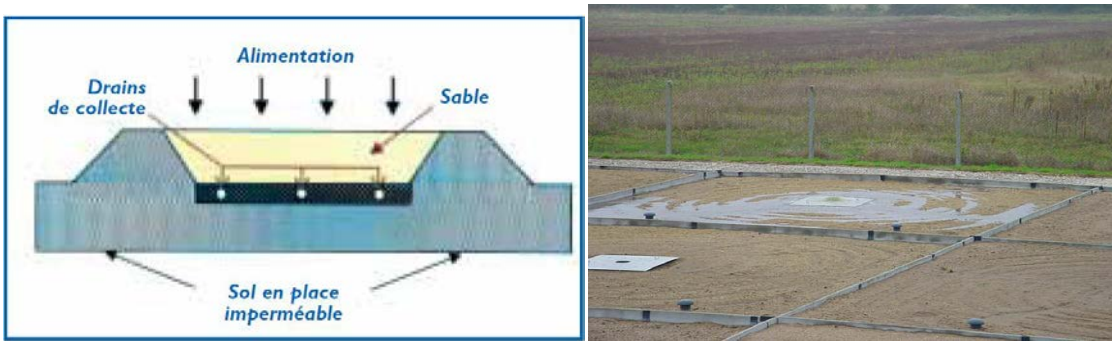


Figure 16:Vue en coupe d'un filtre à sable et alimentation d'un filtre à sable. (SATESE 29 et Agences de l'Eau, 1993)

Tableau 3: Traitements de chloration appliqués sur des effluents secondaire et taux d'abattement de différents virus mesurés par culture cellulaire.

Virus	Abattement (U.log)	Temps de contact (min)	Concentration en chlore (mg/L)	Références
Phage MS2	0,2	30	8	Tree *et al.*,2004
Poliovirus 1	0,4	30	8	Tree *et al.*,2004
Coliphages	0,6	21	12	Carbonnel, 1994
Entérovirus	0,7	30	5	AERMC, 1982
Poliovirus 1	1	30	5	AESN, 2000
Rotavirus	2,8	60	5	Li *et al.*,2011
FCV (FelineCalicivirus)	3,5	5	8	Tree *et al.*,2004

- Les filtres à sable (Figure 16)

C'est un traitement par une biomasse fixée sur du sable selon un principe d'infiltration-percolation, ils peuvent éventuellement être plantés. Plusieurs lits d'infiltration sont alimentés par l'effluent en alternance pour laisser des temps de repos. L'efficacité microbiologique va être très dépendante de la vitesse de passage de l'effluent à travers le filtre. Une étude de 1976 par Gilbert *et al*. conclue à une chute de 3,3 U.log pour les virus entériques sur un lit filtrant à échelle pilote composé de couches de sable, de graviers et d'argile d'une épaisseur de 60-90 cm (pas d'information sur le temps de séjour).Van Cuyck *et al.* (2007) trouvent un abattement de 3 U.log pour des phages MS2 (ersatz des Entérovirus) et PRD-1 (ersatz des Adénovirus) pour une charge hydraulique de 0,25 m^3/j sur une épaisseur de 90 cm. Quinonez-Diaz *et al*. (2001), trouvent un abattement de 2 U.log pour les virus entériques pour un filtre de 2 m d'épaisseur (charge hydraulique non précisée). Un filtre d'1 m de profondeur permet un abattement de 1 à 3 U.log des coliformes fécaux en fonction de la charge hydraulique (Commission européenne, 2001).

1.4.2. Traitements de désinfection (traitements « tertiaires » ou d'affinage microbiologique)

Les qualités nécessaires pour un système de rétention ou un traitement de désinfection idéal ont été adaptées de la définition donnée par la Commission Européenne (2006) dans le manuel « Aquarec » pour la réutilisation des eaux usées traitées. La technique ou le produit choisi est dans l'idéal :

- ✓ Efficace sur les microorganismes pathogènes (parasites, virus, bactéries, champignons,..), un abattement global de 4 U.log pour la filière complète est considéré comme un minimum.
- ✓ Sans danger pour les formes de vie supérieures.
- ✓ Disponible et économique.
- ✓ Sûr et facile à manipuler et à transporter (dans le cas des réactifs et des UV)
- ✓ Efficace malgré des modifications des paramètres environnementaux (température, MES,…)
- ✓ Stable dans le temps et sans effet de reviviscence
- ✓ Incapable de produire des sous-produits toxiques

Il existe des systèmes de désinfection des eaux usées intensifs reposant sur trois principes : l'élimination des microorganismes par l'application d'un stress oxydatif, par l'application de radiations ou par l'application d'une barrière physique. Et des systèmes de désinfection extensifs, ou systèmes d'affinage, exploitant les stress biotiques et abiotiques naturels.

1.4.2.1. Elimination des virus par application d'un stress oxydatif : chloration et ozonation

Les radicaux libres provenant directement de l'agent désinfectant (ozone) ou dérivant de la réaction des molécules d'H_2O avec l'agent désinfectant (chlore libre Cl_2) vont oxyder les molécules composant l'organisme. L'inactivation des virus par le chlore passerait par la dégradation de sites précis du génome (différents pour chaque virus) et entraînant une incapacité à utiliser la machinerie de l'hôte (O'Brien & Newman, 1979 *;* Li *et al.,* 2002 ; Page *et al.,* 2010). Les cibles potentielles de l'oxydation par l'ozone chez les virus se situent au niveau des protéines de capsides, des sites de reconnaissance hôte-virus et des acides nucléiques (Hirneisen *et al*., 2010). Les dommages étant ciblés et peu étendus, la méthode par PCR ne permet pas en général de détecter l'altération et donc l'inactivation du virus.

- Chloration

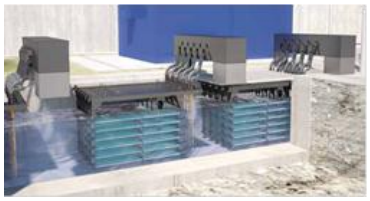
Le chlore libre HOCl ou OCl^- réagit en eau usée avec l'ammoniaque NH_4^+ pour former les chloramines (NH_2Cl, $NHCl_2$ et NCl_3) ayant un pouvoir bactéricide 20 à 35 fois inférieur, ce sont elles qui assurent principalement la désinfection car le chlore libre est vite consommé. Elles sont toxiques pour l'homme et les milieux aquatiques. Le traitement appliqué est en général de 30 min à une dose comprise entre 1 et 5 mg/L (Li *et al*., 2011). Les références mesurant l'efficacité virulicide

Tableau 4 : Taux d'abattement de différents virusaprèstraitementd'ozonation(mesurés par culture cellulaire).

Virus	Milieu	Abattement (U.log)	Temps de contact (min)	Concentration en ozone (mg/L)	Références
Entérovirus	Effluent secondaire	>0,1 à 1,2	13 à 16	5 à 11	Agence de Bassin RMC, 1982
Coliphages	Effluent secondaire	>1,2 à 2,7	13 à 16	5 à 11	Agence de Bassin RMC, 1982
Coliphages	Effluent secondaire	2,5	20	?	Legnani *et al.*,1996
Phage MS2	Effluent secondaire	5	5	10	Mandra *et al.*,1996
Phage MS2	Tampon phosphate	3	1	0,6	Finch&Fairbairn, 1991
Adénovirus	Eau stérile	3	0,5	0,3	Thurston-Enriquez *et al.*, 2005
Rotavirus	Tampon phosphate	3	0,1	0,1	Vaughn *et al.*, 1987
NoV	Tampon phosphate	>3	0,1	0,4	Shin &Sobsey, 2003

Tableau 5 : Doses UV appliquées sur des effluents secondaire et taux d'abattement des différents virus(mesurés par culture cellulaire).

Virus	Abattement (U.log)	Dose UV (mJ/cm^2)	Références
FCV	4	19	Tree *et al.*,2005
Phages MS2	0,8	22	Koivunen&Heinonen, 2005
Coliphages	>3,3	34	Anjou Recherche, 1997
Phages ARN-F	>1,8	34	Anjou Recherche, 1997
Phages ARN-F (MS2)	1.4	38	Koivunen&Heinonen, 2005
Phages ARN-F (MS2)	3	80	Nasser *et al.*,2006
Rotavirus SA-11	3	80	Nasser *et al.*,2006
AdV	4	186	USEPA, 2003



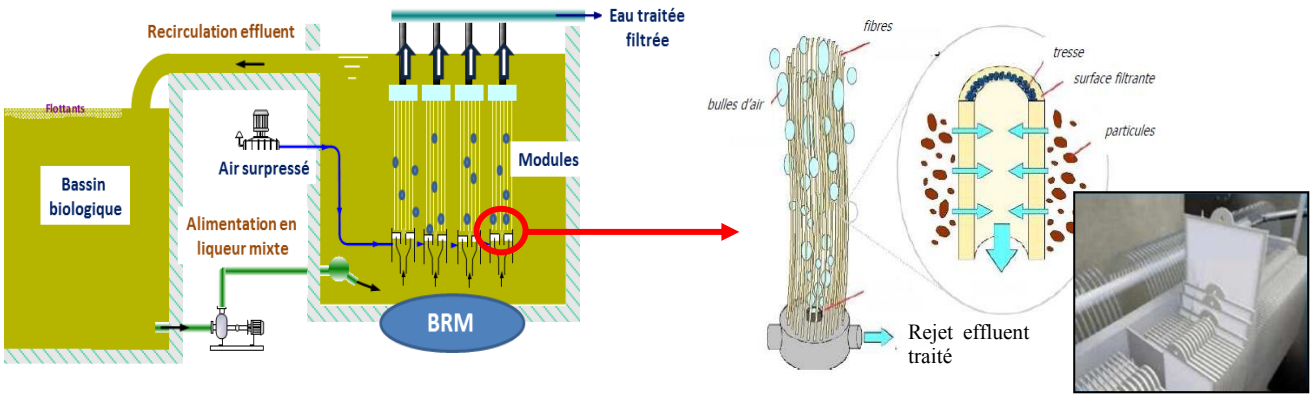


Figure 17 : Illustration d'un BRM à fibres creuses et zoom sur un des modules ; module de BRM à plaques dans l'encadré. (Vinci Environnement, 2012 ; Communauté de Communes Coeur Côte Fleurie, STEP de Touques (14) ; OIEau)

Tableau 6 : Taux d'abattement totaux observés pour les deux types de BRM (Bioréacteurs membranaires).

Virus	**Abattements (U.log)**	**Type de membrane (fabricant) et capacité STEP**	**Références**
NoV	>4	Plaques (Kubota) 60 000 EH	Sima *et al.*, 2011
SV	>3		
NoV GI	>5,5	Plaques (Kubota) 26 000 EH	Da Silva *et al.*,2007
NoV GII	>5,2		
AdV	5,5	Fibres (Zenon) 15 300 EH	Simmons *et al.*, 2011
EV	5,1		
NoV GII	>3,9		

du chlore sont présentées Tableau 3, les grandes différences sont dues aux modes opératoire, car dans certaines expériences les virus sont ajoutés in-vitro et sont donc mieux éliminés car non agrégés. L'efficacité virulicide des chloramines serait donc en moyenne de 0,8 U.log (0,2 à 3,5 U.log) puisque lorsqu'on applique une dose de chlore, c'est majoritairement elles qui permettent un abattement. Pour *E.coli*, la chloration permet un abattement de 2,2 U.log à plus de 5 U.log (Viovi, 2004) sur toute la filière.

- Ozonation

L'ozone (O_3) est produit grâce à un ozoneur par application de décharges électriques à un air asséché. L'ozone une fois dans l'eau se décomposer en radicaux libres oxygène et hydroxiles hautement réactifs (O° et OH°). Ces radicaux entraînent l'apparition de sous-produits toxiques : les ozonides et les bromates. Les dosages utilisés en eau usée se situent entre 4 et 12 mg/L pour un temps de contact de 30 sec à 4 min (Audic, 1990). Les taux d'abattement sur les virus décrits dans la littérature sont présentés Tableau 4, dans les milieux sans MES les virus ne sont pas protégés car non agrégés. Les abattements mesurés par l'Agence de Bassin RMC (1982) sont dépendants de la concentration en entrée de station d'épuration, seuls les virus présentant des valeurs élevées en tête de traitement sont retenues pour notre calcul. Soit un abattement moyen par l'ozone de 3 U.log (1,2 à 5 U.log). L'abattement des *E.coli* par l'ozone est entre 3 et 4 U.log (Viovi, 2004).

1.4.2.2. Elimination des virus par le stress radicalaire : ultra violets (UV)

Les rayonnements ultraviolets (UV) utilisés pour la désinfection ont des longueurs d'onde comprises entre 200 et 280 nm (Viovi, 2004). L'ADN absorbe les radiations UV induisant la formation de sous-produits toxiques pour la cellule (photoproduits) et la dimérisation des bases pyrimidiques (Thymine et Cytosine) adjacentes sur un même brin. Ce phénomène entraîne des erreurs de réplication. Quant aux virus à ARN, ils subiraient des changements de conformation de leur capside empêchant une reconnaissance avec la cellule hôte et donc son infection (Hirneisen *et al.,* 2010). L'efficacité des rayonnements est fonction de la dose administrée aux microorganismes, en général située entre 20 et 40 mWs/cm^2, mesurée ainsi :

Dose UV (mWs/cm^2 ou mJ/cm^2) = intensité (mW/cm^2) x temps d'exposition (sec)

L'effluent est traité lors de son passage au travers d'un chenal dans lequel sont installées des lampes UV. Les publications faisant état de l'efficacité de ce traitement sont présentés Tableau 5. L'efficacité virucide des UV pour une dose moyenne de 35 mWs/cm^2 en eau résiduaire urbaine serait entre 0,5 et 4 U.log d'abattement en fonction des virus, AdV étant considéré comme le plus résistant. En moyenne, l'abattement obtenu à cette dose serait donc de 1,5 U.log. Les installations UV permettent en moyenne d'atteindre 2,5 à 4 U.log d'abattement sur *E.coli* (Viovi, 2004).

1.4.2.3. Elimination des virus par rétention : bioréacteurs membranaires (BRM)

Les bioréacteurs membranaires sont soit directement immergés dans un bassin d'aération de type boues activées soit isolés du bassin et placés dans un module. Les nouveaux modèles de BRM sont construits sur ce principe modulaire pour permettre des extensions et être plus adaptables. Il existe deux formes de BRM, à fibres creuses et à plaques comme présenté Figure 17. L'effluent provenant du bassin d'aération (la liqueur mixte) est aspiré à travers les membranes dont le seuil de coupure, à la limite de l'ultrafiltration, va de 0,1µm à 0,4µm. L'accumulation des boues à leur surface forme une couche colmatante permettant d'abaisser le seuil de rétention (améliorant la rétention des virus). Pour plus de détail sur la configuration des BRM à plaques ou à fibres creuses distribués en France se reporter à l'Annexe 5. Les efficacités d'abattement de ces BRM sur les virus sont présentées Tableau 6, l'abattement moyen serait donc de 4,5 U.log. L'efficacité d'abattement sur *E.coli* est de l'ordre de 3 à 6 U.log sur la filière (Boutin *et al*., 2009).

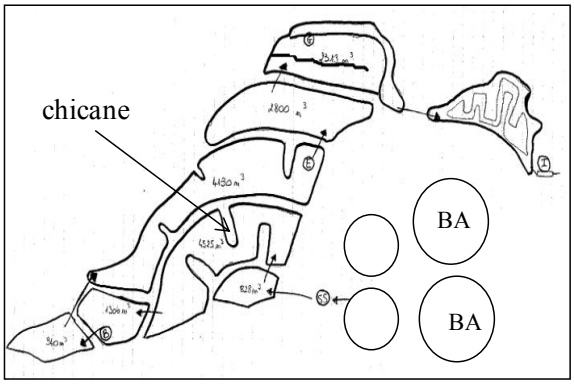


Figure 18 : Exemple de configuration de lagunes de finition en chapelet (STEP de Granville).

Tableau 7 : Récapitulatif des abattements des virus dans les lagunes de finition du littoral Normand. (Suivis AESN 2007-2010)

Virus	Astrovirus	Sapovirus	Rotavirus
Nb. D'échantillons	9	8	7
Abattement moyen (U.log)	**1,6**	**1,2**	**2,6**



Figure 19 : Situation géographique des STEP du littoral Normand étudiées de janvier à avril 2012.

1.4.2.4. Elimination des virus par les systèmes extensifs ou d'affinage

Les systèmes de désinfection extensifs, ou d'affinage, ont non seulement un rôle de désinfection mais aussi de tampon vis-à-vis du milieu récepteur en cas de dysfonctionnement du traitement secondaire en amont (départ de boues). Les microorganismes vont être exposés à des agents stressants biotiques et abiotiques comme les UV, la prédation, le pH, la température ou la sédimentation. Les systèmes « en chapelet » constituent un bonne optimisation par rapport aux systèmes de traitement extensifs complets « classiques » car 5 fois moins gourmands en terrain pour une efficacité microbiologique équivalente. De plus, ils ne sont pas source de sous-produits toxiques contrairement à la désinfection chimique.

- Lagunage de finition

Deux types de lagunage tertiaire ont été suivis, le premier est constitué de nombreux bassins de forme effilée (en « chapelet ») et l'effluent suit un tracé sinueux comme présenté Figure 18; le second découle d'un ancien traitement extensif complet où les bassins sont de forme rectangulaire favorisant les courts-circuits via les courants engendrés par le vent. La profondeur des bassins est leur tracé sont les paramètres principaux pour permettre une bonne exposition aux UV solaires et optimiser le temps de séjour (TS : 2 à 3 jours) et un fonctionnement « en piston ». Aucune donnée sur ces système n'a pu être trouvé dans la littérature scientifique certainement parce qu'on s'y intéresse de plus près que depuis peu de temps. En revanche l'AESN en a suivi plusieurs depuis 2006. Un suivi des virus a été fait ponctuellement de 2006 à 2009 sur quatre stations d'épuration du littoral normand, les résultats sont présentés dans le Tableau 7. L'abattement moyen des virus dans les lagunes de finition serait donc de 1,7 U.log. Lecourtois (2006) mesure un abattement des *E.coli* sur deux STEP Normandes équipées de lagunes de finition de forme effilée de l'ordre de 2 U.log, sur les lagunes de formes rectangulaires plus profondes l'abattement est plus variable de 1 à 2 U.log.

- Filtre à sable

Le principe est le même que pour le filtre à sable utilisé en traitement biologique, mais l'écoulement de l'effluent y est plus lent. L'abattement sur *E.coli* est dépendant de l'épaisseur du filtre et de la charge hydraulique, pour une épaisseur de 2 m et une charge hydraulique de 0,4 m/j l'abattement est de 3 U.log. Pour une charge hydraulique identique et une épaisseur de 65 cm, Torrens *et al*. (2009) mesurent un abattement de de 0,9 U.log pour les bactériophages ARN-F et Jenkins *et al*. (2011) mesurent un abattement similaire de 0,5 U.log sur bactériophages MS2 dans les mêmes conditions. L'abattement moyen sur les virus serait de 0,7 U.log pour une épaisseur de 65 cm (soit environ 2 U.log pour 2 m).

- Filtre planté de roseaux (FPR)

Le principe est le même que pour le filtre planté utilisé en traitement biologique. Le fait d'utiliser des gravillons plutôt que du sable laisse supposer une moindre efficacité de rétention des virus. Pour un filtre planté vertical avec un temps de séjour d'environ 9 jours (± 3 jours), Chendorain *et al.* (1998) obtiennent 1,5 U.log d'abattement sur bactériophages, soit environ 0,2 U.log par jour (la charge hydraulique n'est pas précisée). L'abattement attendu sur *E.coli* est de 2 U.log (Viovi, 2004).

2. Matériel et méthodes

2.1. Présentation des stations d'épuration et du site littoral

2.1.1. STEP du littoral Normand

Tableau 8 : Caractéristiques des installations extensives choisies pour cette étude.

Installations avec désinfection extensive	Honfleur	Granville	Pirou	Colleville-sur-mer	Agon-Coutainville	Dozulé
Département	Calvados	Manche	Manche	Calvados	Manche	Calvados
Mise en service	2004	2004	2005	2001	2003	2008
Capacités (EH)	34 000	70 000	10 000	1 000	35 300	3 000
Débit journalier moyen (m^3/j)	3 700	11 000	280	60	1 300	470
Prétraitement	Dégrillage, dessableur, déshuileur	Dégrillage, dessableur, déshuileur	Dégrillage, dessableur, déshuileur	Dégrillage, décantation primaire	Dégrillage, dessableur, déshuileur	Dégrillage, dessableur, déshuileur
Filière eau	Boues activées + **lagunage de finition en chapelet**	Boues activées + **lagunage de finition en chapelet**	Boues activées + **lagunage de finition**(ancien lagunage complet)	Disques biologiques + **filtres à sable lents verticaux**	Boues activées + **filtre à sable dunaire sous roselière**	Boues activées + **filtres plantés de roseaux (FPR)**
Caractéristiques désinfection (TS : temps de séjour)	5 lagunes à microphytes en chapelet Volume total de 8 000 m^3 Profondeur de 0,9 à 1,3 m TS : 2,5 jours	6 lagunes à microphytes en chapelet + 2 lagunes à macrophytes Volume total de 7 700 m^3 Profondeur de 1 à 2,2 m TS : 1,5 jours	3 lagunes en série à microphytes + 2 lagunes à macrophytes en parallèle Volume total de 14 000 m^3 Profondeur de 0,5 à 2,4 m TS hiver : 29 jours TSété: 96 jours	3 lits d'infiltration alimentés en alternance Volume total de 1 250 m^3 Hauteur de sable 2 m TS : quelques jours	Filtration dunaire (3 à 6 m de sable) via 3 casiers de roselières alimentés en alternance Volume total de 19 500 m^3 TS : 15 jours	1^{er} étage FPR vertical $2^{ème}$ étage FPR horizontal $3^{ème}$ étage taillis à courte rotation Surface totale 2750 m^2 TS : 2 à 3 jours

Tableau 9 : Caractéristiques des installations intensives choisies pour cette étude.

STEP avec désinfection intensive	Le Bourg Dun	Touques	Veules-les-Roses	Barneville-Carteret	Ver sur mer
Département	Seine-Maritime	Calvados	Seine-Maritime	Manche	Calvados
Mise en service	2010	2010	2010	2010	2010
Capacité (EH)	3 200	115 000	5 000	13 000	5 000
Débit journalier moyen (m^3/j)	500	20 000	700	1 300	700
Prétraitement	Tamisage 2 mm	Dégrillage, dessableur, déshuileur, tamisage mailles rondes 2 mm	Tamisage a fentes 5 mm puis tamisages mailles rondes 2 mm	Tamisage maille rondes 5mm, dégraisseur, dessableur, tamisage mailles rondes 2mm	Tamisage mailles rondes 2mm
Filière eau	Boues activées + **UV**	Boues activées + **filtration membranaire à fibres creuses**	Boues activées + **filtration membranaire à fibres creuses**	Boues activées + **filtration membranaireà plaques**	Boues activées + **filtration membranaire à plaques**
Caractéristiques	4 lampes UV basse pression (TAK 55, Wedeco) Dose UV de 20 à 35 mJ/cm^2	BRM Biosep Membranes Puron seuil de coupure 0,1 µm 4 files 20 cassettes	BRM Ultrafor Membranes Zenon seuil de coupure 0,1 µm 2 files 2 cassettes de 22 modules	BRM Aqua-RM Membranes Kubota seuil de coupure 0,4 µm 2 files 8 cassettes sur 2 étages	BRM Aqua-RM à plaques Membranes Kubota seuil de coupure 0,4 µm 2 files 4 cassettes sur 2 étages

Les stations d'épuration ont été choisies en concertation avec l'ARS de la Manche, du Calvados, et sur les indications des SATESE 14, 50 et 76 afin de couvrir les principales filières extensives et intensives présentent en Normandie. La situation géographique des STEP est présentée Figure 19.

La méthode de désinfection au chlore a été volontairement écartée car elle génère des sous-produits toxiques et tombe progressivement en désuétude. Une seule STEP en Normandie utilise l'ozone (Bernières-sur-mer, STEP de la Côte de Nacre) ce traitement est donc peu représentatif du parc des stations d'épuration Normand et même français. Il était donc plus intéressant de se tourner vers des filières appelées à se développer dans un contexte de développement durable. Un intérêt particulier a été porté aux bioréacteurs membranaires pour leur haute efficacité microbiologique décrite dans la littérature, il était intéressant de faire un point sur cette technique apparu récemment (environ 10 ans).

Afin d'avoir une vue globale des divers BRM disponibles sur le marché, quatre stations d'épuration représentant les deux types de membranes distribuées sur le marché ont été testées. D'une part, deux stations avec des membranes à plaques construites par Stereau (groupe SAUR) et équipées avec des membranes Kubota. Et d'autre part, deux stations à membranes fibres, l'une construite par OTV (groupe Véolia) équipée de membranes Puron et l'autre construite par Degrémont (groupe Suez Environnement) équipée de membranes Zenon. Une des STEP, que nous nommerons station Z, n'est pas présentée sur la carte suite à une demande de confidentialité.

Parmi les systèmes de désinfection extensifs, un intérêt tout particulier a été porté aux lagunages de finition en chapelet qui sont un bon compromis entre les systèmes de désinfection intensifs (onéreux et potentiellement source de sous-produits toxiques), et les traitements extensifs complet comme le lagunage naturel et le lagunage aéré (emprise foncière importante). Quatre STEP ont été testées : les STEP d'Honfleur et Granville avec des bassins en chapelet de forme effilée, et la STEP de Pirou avec des bassins rectangulaires de grande taille (ancien lagunage naturel complet reconverti en finition).

Enfin, trois stations d'épuration ont été choisies pour tester l'efficacité des filtres à sable et des filtres plantés de roseaux. La STEP d'Agon-Coutainville est intéressante car l'effluent est filtré par le sable dunaire en place, évitant ainsi tout rejet direct au milieu récepteur (zone conchylicole) et exploitant les capacités du sol en place. De plus, les effluents ainsi filtrés alimentent une nappe souterraine dont l'eau est pompée pour arroser le golf voisin. C'est une réutilisation indirecte des eaux usées. La STEP de Colleville sur mer, avec ses trois filtres à sable, utilise en amont un traitement secondaire par disques biologiques, système dont l'efficacité virulicide n'a pas été étudiée. Enfin, la STEP de Dozulé fait partie des rares stations d'épuration à utiliser des filtres plantés de roseaux (FPR) en traitement tertiaire.

Les Tableau 8 et 9 présentent un résumé des caractéristiques des stations d'épuration dans lesquelles nous avons prélevé des échantillons d'effluents.

2.1.2. Sites littoraux étudiés

Trois sites Bas-Normand avec une configuration hydrographique la plus simple possible ont été choisis en concertation avec les Agences Régionales de la Santé (ARS) de la Manche et du Calvados.
Les critères de choix étaient les suivants :

- Rejet de STEP dans un ruisseau/rivière à proximité du littoral (< 5 km)
- Coquillages présents à proximité de l'émissaire
- Pas d'influence directe de plus de deux émissaires sur les coquillages

Le premier site se situe à la Pointe du Roc à Granville dans la Manche (cf. carte Figure 20). La station d'épuration de Granville, rejette ses effluents dans le ruisseau Le Boscq à environ 5 km en amont de son embouchure. Ce ruisseau traverse ensuite la vaste zone urbaine de Granville où subsistent d'inévitables infiltrations et des branchements défectueux d'eaux usées. Le Boscq se

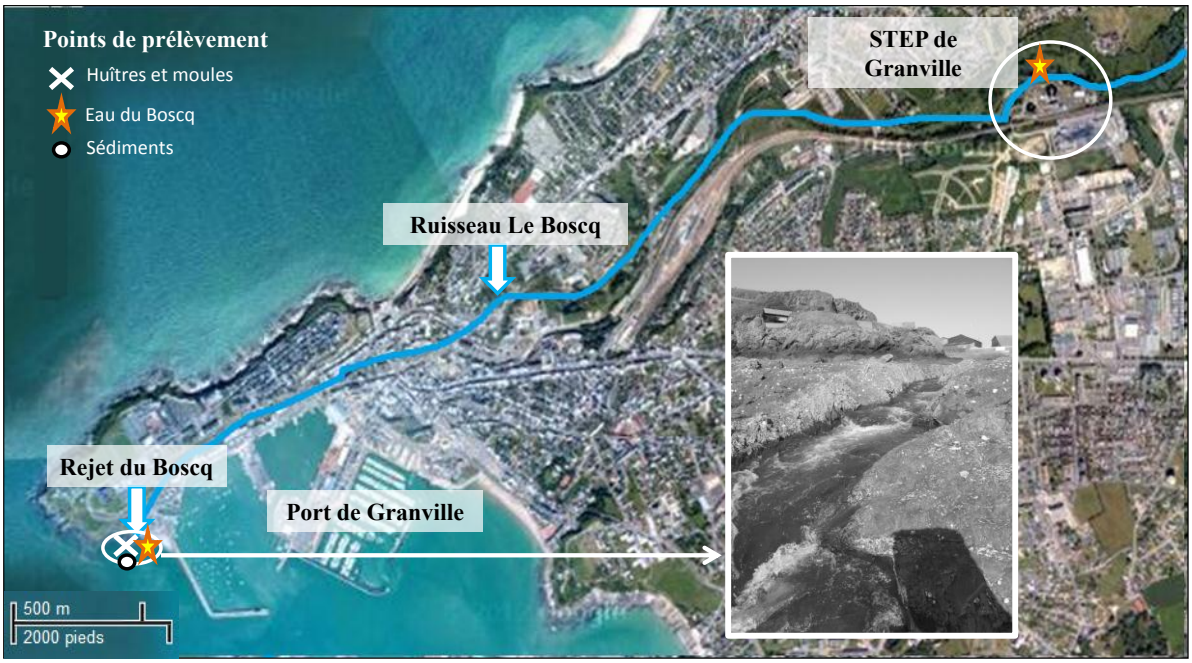


Figure 20 : Situation géographique du site de prélèvement à la Pointe du Roc à Granville (50).

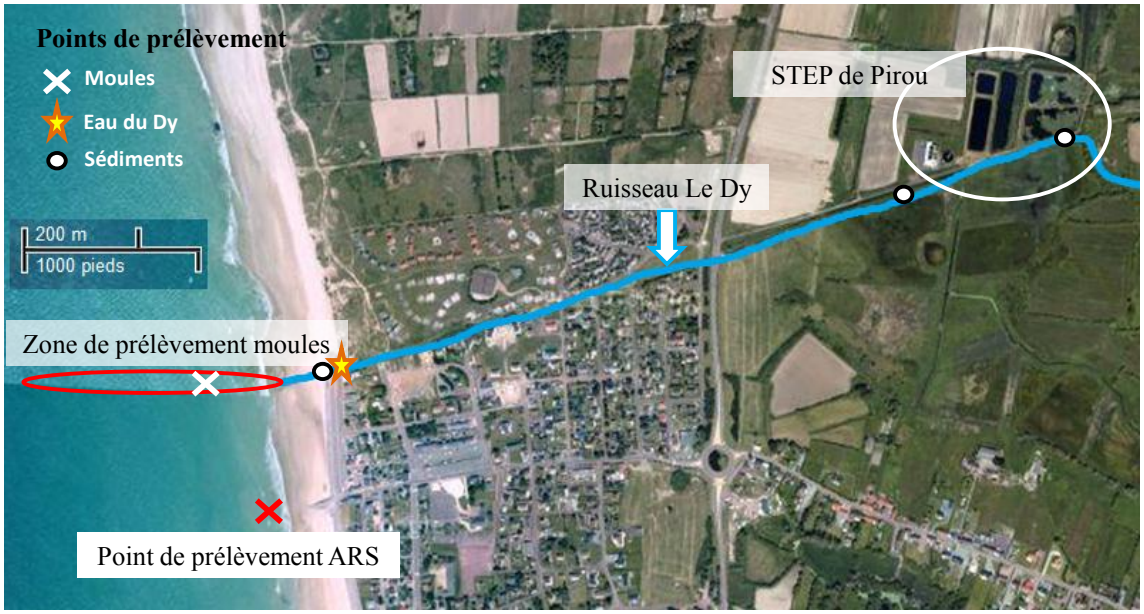


Figure 21 : Situation géographique du site de prélèvement à Pirou plage (50).



Figure 22 : Situation géographique du site de Ver sur mer (14).

déverse sur la plage en se frayant un passage à travers des rochers sur lesquels poussent des huîtres et des moules sauvages. En raison de la mauvaise qualité microbiologique du rejet, cette zone est classée D ce qui signifie que toute activité de pêche ou d'élevage y est interdite (ce qui n'empêche pas certains pêcheurs de braver cette interdiction).

L'ARS 50 (C. Laspougeas et S. Allix) a réalisé entre 2005 et 2006 des prélèvements d'huîtres sur ce même site, et a mis très aimablement à notre disposition les résultats. Ceux-ci seront présentés parallèlement pour compléter notre étude de site. Le protocole de prélèvement et la méthode d'analyse sont identiques aux nôtres.

Le second site, à Pirou plage dans la Manche, est sous l'influence du ruisseau Le Dy qui reçoit les effluents de la STEP de Pirou à environ 1 km en amont (cf. Figure 21). Une zone myticole sur bouchots se trouve à environ 1 km de la côte, car contrairement à Granville, ce site est classée B signifiant que les coquillages peuvent y être cultivés mais leur commercialisation n'est possible qu'après un traitement de purification. L'ARS effectue des contrôles réguliers sur une zone plus proche de la côte riche en moules sauvages, face à une piscine d'eau de mer, mais plus éloignées du rejet du Dy. Nous avons donc choisi de prélever à proximité de l'écoulement du ruisseau à marée basse sur une distance d'environ 500 m à partir du rejet. Trois échantillons de sédiments du Dy ont été prélevés : un premier en amont du rejet, un second 20 m en aval du rejet et un dernier à l'émissaire sur la plage. Enfin, un échantillon d'eau du Dy au niveau de l'émissaire a aussi été prélevé.

Le troisième, à Ver sur mer, classé B, est sous l'influence du Paisty Vert (environ 5 L/s) et de la Provence (environ 50 L/s) qui reçoit les effluents de la STEP de Ver sur mer à environ 300 m du rejet en mer (cf. Figure 22). De mauvais branchements existent en amont du Paisty Vert, ces pollutions sont remobilisées en cas d'apports importants d'eau en provenance de la Provence et peuvent stagner dans le marais. Une zone ostréicole est exploitée à proximité, des huîtres et des moules ont été prélevés aux extrémités Ouest et Est de cette zone. Des moules se développant à la sortie de l'embouchure du Paisty Vert ont également été récoltées. L'eau et les sédiments des rivières ont été prélevés au niveau des embouchures. Pour la Provence, ces mêmes types d'échantillons ont été prélevés en amont du rejet de la STEP.

2.2. Prélèvements et analyses : méthodologie

2.2.1. Méthode d'échantillonnage et calendrier des prélèvements

La campagne réalisée lors de ce stage a eu lieu du 23/01/12 au 24/04/12, période de pic épidémique hivernal des GEA. Les stations d'épuration dans lesquelles nous n'avons réalisé qu'un prélèvement sont Honfleur, Granville, Pirou, Agon-Coutainville, Touques, Barneville-Carteret et la Station Z. En revanche nous avons fait des prélèvements de confirmation aux STEP de Colleville sur mer, Dozulé, Le Bourg Dun et Veules les Roses.

Pour chaque station, des échantillons de 2 L d'effluent primaire, d'effluent secondaire lorsque c'était possible et d'effluent finaux ont été prélevés. Les effluents primaires sont tous des échantillons moyens sur 24 h réalisés par un préleveur automatique, à l'exception de Granville et de Colleville sur mer qui sont des échantillons ponctuels. Les échantillons d'effluents secondaires étaient tous ponctuels sauf à Dozulé. Enfin les échantillons d'effluents finaux (ou intermédiaires dans le cas des lagunes) sont aussi ponctuels utilisant le fait que le séjour dans la STEP permet une certaine homogénéité de l'effluent de sortie contrairement aux eaux usées brutes. Seuls les effluents finaux des stations membranaires sont des échantillons moyens sur 24h.

Pour les prélèvements d'eau et d'effluents, des flacons de 2 L considérés comme stériles, car scellés par un bouchon et un opercule (fournis par le LDA50) ont été utilisés. Dans le ruisseau du Boscq, les échantillons d'eau ont été prélevés en se plaçant à contrecourant pour éviter la contamination croisée due à la manipulation, et à au moins 20 cm de la surface de l'eau pour être plus représentatif de la masse d'eau.

Les sédiments ont été prélevés dans des bocaux en verre préalablement stérilisés à la vapeur (environ 100°C) pendant au moins 20 min. Le bocal est plongé verticalement dans les sédiments

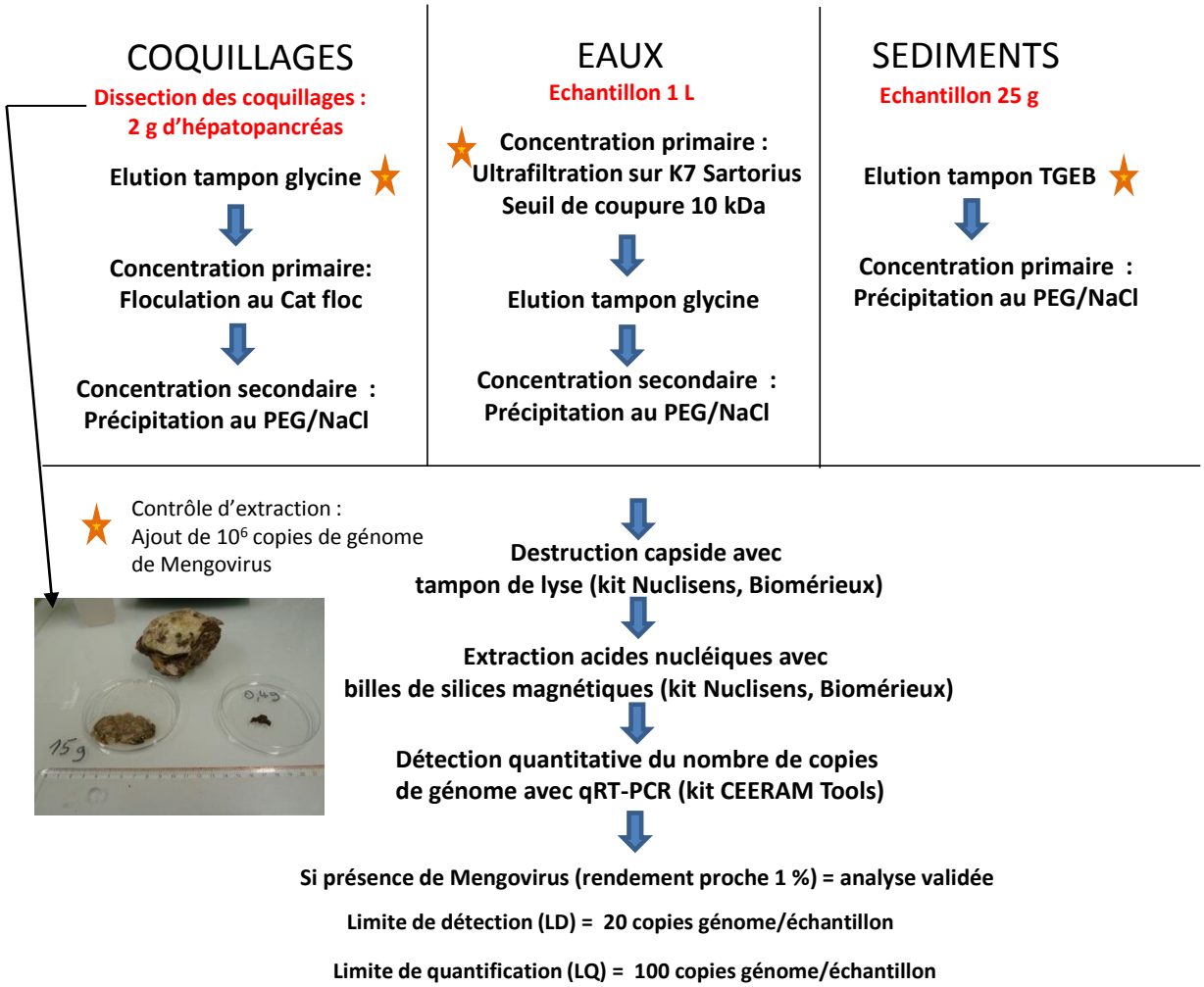


Figure 23 : Principes des méthodes de concentration et de détection CEERAM Tools utilisées par le LDA 50.

afin de prélever une carotte d'environ 5 cm d'épaisseur et rapidement refermé, sans contact bien sûr avec les mains du manipulateur.

Les huîtres du site de Granville ont été décrochées des rochers à l'aide d'un marteau et d'un burin tandis que les moules ont été décrochées manuellement. Les coquillages ont ensuite été placés dans des seaux ou des sacs plastiques. Les prélèvements d'huîtres et de moules ont eu lieu le 8 mars 2012 puis à deux reprises à deux semaines d'intervalle.

Tous les échantillons ont été conservés à une température < 8°C dans une glacière pendant moins de 6 h jusqu'au laboratoire d'analyse départemental de la Manche (LDA 50) situé à Saint Lô. Au laboratoire, les échantillons ont été placés à 4°C en attendant d'effectuer les analyses au plus tard 24 h après réception et moins de 12 h après réception pour le dénombrement *E.coli*.
N.B : les effluents de la STEP Z ont été congelés à -80°C durant 22 jours en raison d'un retard de livraison de matériel de laboratoire. Toutefois d'après les données de la littérature, la congélation de courte durée n'a qu'un impact mineur sur la résistance des virus (Lees, 2010).

2.2.2. Méthode de concentration des virus dans les trois matrices

Le principe de concentration pour les trois matrices échantillonnées, à savoir les sédiments, les eaux, les effluents et les coquillages est présenté Figure 23. Le Mengovirus, dont la structure et la composition physico-chimique sont proches du VHA, est utilisé comme témoin du bon déroulement des étapes de concentration.

Avant ouverture, les huîtres et les moules sont préalablement nettoyées et débarrassées des éventuels balanes sur leur coquilles. Puis une dizaine de coquillages sont ouverts aseptiquement et disséqués afin d'obtenir 2 g de tissus digestifs (hépatopancréas). Cette partie de l'animal, représente environ 10 % du poids des chairs, elle concentre en grande majorité les virus entériques (Le Guyader *et al.*, 2006). Les autres tissus des coquillages contiennent beaucoup d'inhibiteurs de PCR, en particulier les lipides, la dissection permet ainsi d'en limiter l'impact. Ces 2 g de tissus digestifs (TD) sont ensuite broyés en présence de tampon glycine à pH alcalin afin d'éluer les virus agrégés aux tissus, le Mengovirus est ajouté à cette étape. Les virus ainsi élués sont repris dans du Cat Floc® afin d'éliminer les impuretés par floculation des colloïdes. La dernière étape est la concentration au PEG/NaCl qui permet de piéger les virus. Le protocole utilisé pour les sédiments (dérivant du protocole utilisé pour les fruits et légumes) reprend grossièrement les mêmes principes, le tampon TGEB étant toutefois préféré au tampon glycine. Enfin, les effluents et les eaux subissent une concentration primaire par ultrafiltration sur une cassette calibrée Sartorius® avant de suivre les mêmes étapes de concentration secondaire que les deux autres matrices. Si l'eau à analyser est trop chargées en matières en suspension (eaux brute), une pré-filtration à 180 µm permet d'éliminer les plus grosses particules et éviter le colmatage du filtre. Le volume utilisé pour l'analyse peut aussi être réduit à 500 mL.

La méthode de détection par biologie moléculaire exige que la capside des virus soit désagrégée pour permettre la libération des brins d'acides nucléiques. La capside est donc digérée grâce au tampon de lyse du kit Nuclisens (Biomérieux, France).

Puis les acides nucléiques libérés sont capturés sélectivement, via plusieurs étapes de lavage, grâce aux billes de silice magnétiques (kit Nuclisens, cf. Annexe 2 pour le principe). A la fin des étapes de lavage, les acides nucléiques sont repris dans 100 µl de tampon d'élution et conservés à -4°C ou à -20°C jusqu'à l'analyse.

2.2.3. Méthode de détection des virus

Les virus sont détectés par la méthode de RT-PCR quantitative (q RT-PCR) avec le kit CEERAM Tools correspondant à chaque virus, 5 µl de la solution d'acide nucléique sont analysés pour chaque échantillon. La limite de quantification (LQ) est de l'ordre de 5 copies de génome/ tube soit environ 140 copies de génome/échantillon, et la limite de détection (LD) est d'environ 1 copie de génome/tube soit environ 20 copies de génomes/échantillon. L'incertitude de la mesure, due à l'accumulation des étapes de concentration et aux inhibiteurs, est plus élevée lorsque la

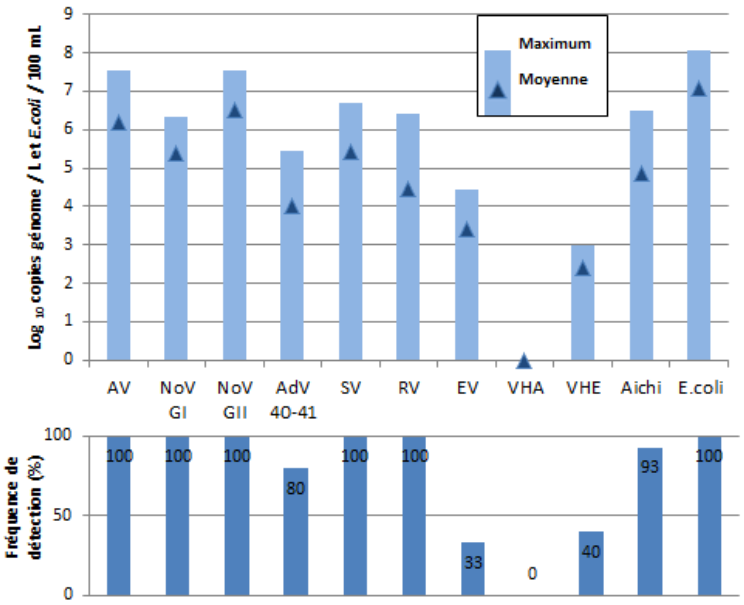


Figure 24 : Concentrations moyennes des valeurs positives mesurées et fréquences de détection dans les eaux brutes de 11 STEP du littoral Normand avec affinage microbiologiquede janvier à avril 2012.AV : Astrovirus ; NoV GI/GII : Norovirus Génogroupe 1/Génogroupe 2 ; AdV : Adénovirus ; SV : Sapovirus ; RV :Rotavirus ; EV :Entérovirus ; VHA : virus de l'hépatite A ; VHE : virus de l'hépatite E ; Aïchi : Aïchi virus.

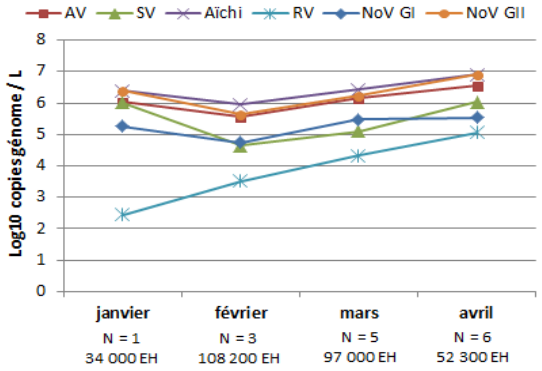


Figure 25: Evolution de la concentration en virus entériques dans les eaux brutes de 11 STEP du littoral Normand. N : nombre de STEP ; EH : cumul du nombre d'habitants rattachés aux STEP.

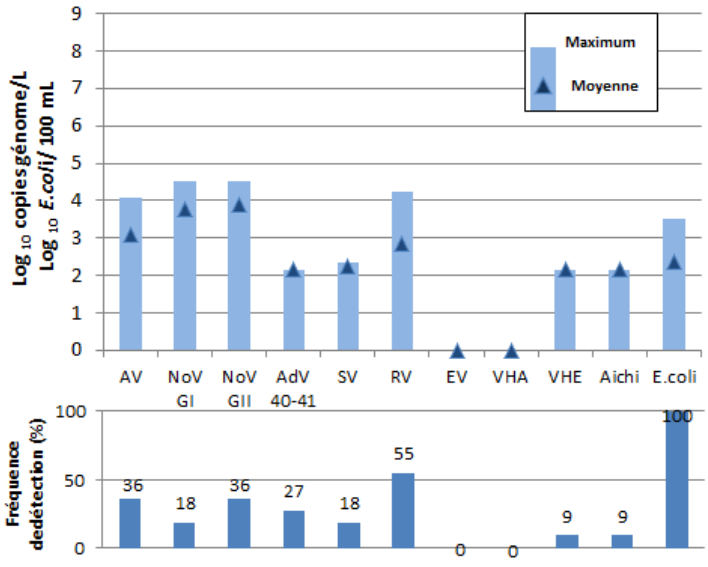


Figure 26 : Concentrations moyennes des valeurs positives mesurées et fréquences de détection dans les effluents finaux de 11 STEP du littoral Normand avec affinage microbiologique de janvier à avril 2012.

concentration virale est faible. L'incertitude est estimée à environ 0,5 U.log pour une concentration proche de la LQ et de 0,2 U.log lorsque la concentration est proche de 10^4 ou 10^5 copies de génomes (F. Loisy, communication personnelle, 2012). Le Mengovirus ajouté dans chacune des matrices avant les étapes de concentration doit être retrouvé lors des analyses pour témoigner du bon déroulement du protocole et obtenir des résultats interprétables. Les rendements d'extraction sont faibles (autour de 1%) car le Mengovirus n'a certainement pas le temps de s'agréger aux particules comme les virus environnementaux, il est donc certainement moins bien piégé lors des étapes que les virus déjà adsorbés dans le milieu naturel. Les résultats sont exprimés en copies de génome/L, en copies de génome / g de tissus digestifs (ou g TD) ou en copies génome / 25 g de sédiments.

2.2.4. Méthode de détection des E.coli

Les *E.coli* sont recherchés dans les coquillages selon la norme NF V08-106, par impédancemétrie directe. C'est une méthode alternative à la méthode de détection par NPP (Nombre le plus probable), le résultat est exprimé en *E.coli*/ 100 g de chair et de liquide intervalvaire (ou CLI). La norme ISO 9308-3, par la méthode NPP en microplaques, est utilisée pour la recherche de *E.coli* dans les eaux et les sédiments. Le résultat est exprimé en *E.coli*/ 100 mL et en *E.coli* / 100 g.

3. Résultats des campagnes de prélèvements

3.1. Caractérisation de la contamination virale des eaux brutes

Les concentrations en virus mesurées dans les effluents bruts (eaux usées après dégrillage) durant la période de janvier 2012 à avril 2012 sont présentées Figure 24. Seules les mesures positives ont été prises en compte pour le calcul de la moyenne géométrique. Les valeurs positives mais inférieures au seuil de quantification ont été considérée comme égale à celui-ci, soit 140 copies génome /L.

Pendant la période considérée, tous les virus recherchés ont été retrouvés dans les eaux brutes à l'exception du virus de l'hépatite A. La concentration maximale mesurée est celle d'Astrovirus à $3{,}7x10^7$ copies/L, la concentration moyenne des virus est de $5x10^4$ copies /L. Cinq virus sont détectés à l'entrée de 100 % des stations d'épuration : Astrovirus, Norovirus GI, Norovirus GII, Sapovirus et Rotavirus, leur concentrations moyennes étant respectivement de $1{,}5x10^6$ copies/L, $2{,}4x10^5$ copies/L, $3{,}3x10^6$ copies/L, $2{,}8x10^5$ copies/L et $2{,}8x10^4$ copies/L. Astrovirus et Norovirus GII ont les concentrations moyennes les plus élevées dans les eaux brutes étudiées. Aïchi virus et les Adénovirus sérotypes 40-41 sont détectés en entrée pour respectivement 93 % et 80 % des STEP à des concentrations moyennes respectives de $7{,}3x10^4$ copies/L et 10^4 copies/L. Le virus de l'hépatite E et les Entérovirus sont détectés en entrée respectivement pour 40 % et 33% des stations à des concentrations moyennes de 140 copies/L et 2600 copies/L. Pour comparaison, *E.coli* est bien sûr présent dans toutes les eaux brutes à une concentration moyenne de $1{,}2x10^7$ *E.coli* / 100 mL. La concentration en *E.coli* est au moins 10 à 100 fois supérieure à celle des virus présents.

3.2. Evolution de la concentration virale dans les eaux brutes

L'évolution des concentrations en virus entériques mesurés lors de nos campagnes de prélèvements sont présentés Figure 25. En janvier, un seul prélèvement d'eau brute a été effectué, ce point n'est donc que peu représentatif car il ne prend en compte qu'une population restreinte. En revanche, pour les mois de février à avril le nombre de prélèvement a été respectivement de 3, 5 et 6. Le nombre d'habitants pris en compte pour ces trois mois est également plus important donc plus représentatif. Globalement, la concentration de tous les virus considérés augmente dans les eaux brutes de février à avril d'un facteur 10 sauf pour Norovirus GI et Rotavirus. En effet, la concentration en Norovirus GI augmente d'un facteur 5 entre février et mars puis se stabilise. A

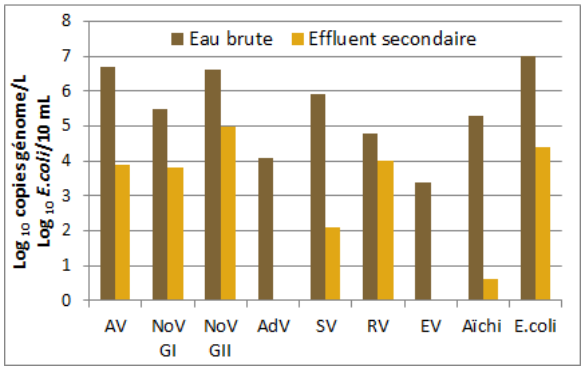


Figure 27 : Efficacité des installations avec boue activée à aération prolongée testées.

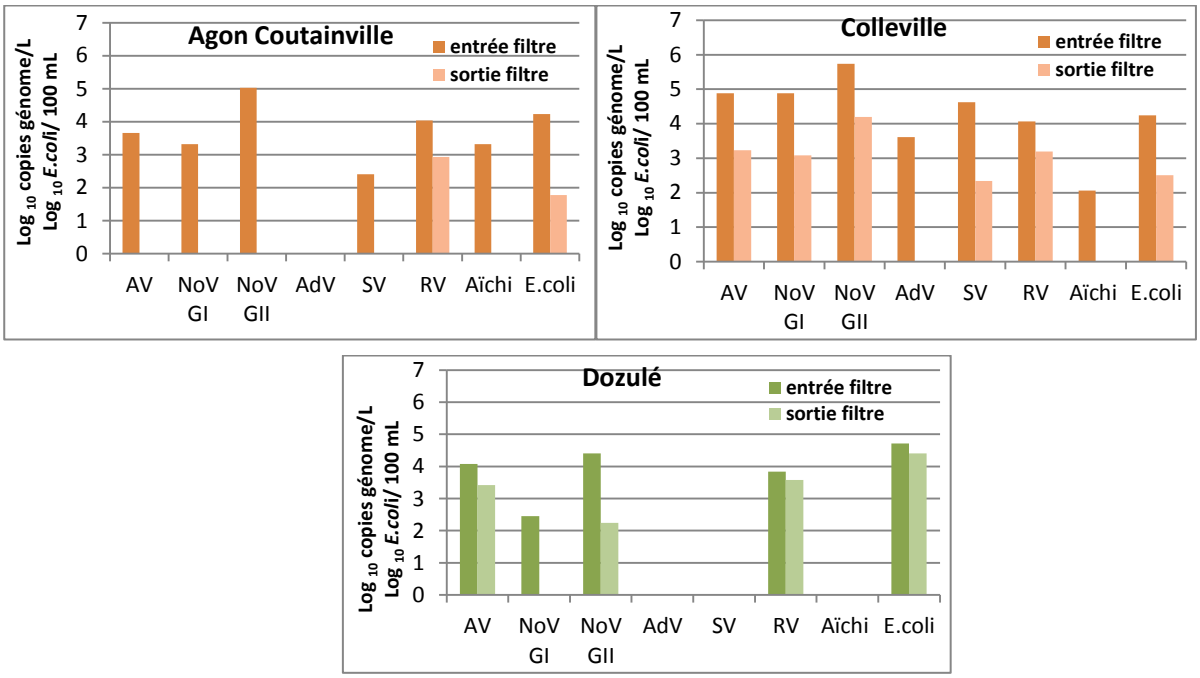


Figure 28 : Efficacité des filtres à sable et du filtre planté de roseaux. Colleville : filtre à sable de Loire 2 m ; Agon : filtre à sable dunaire 3 à 6 m ; Dozulé : FPR

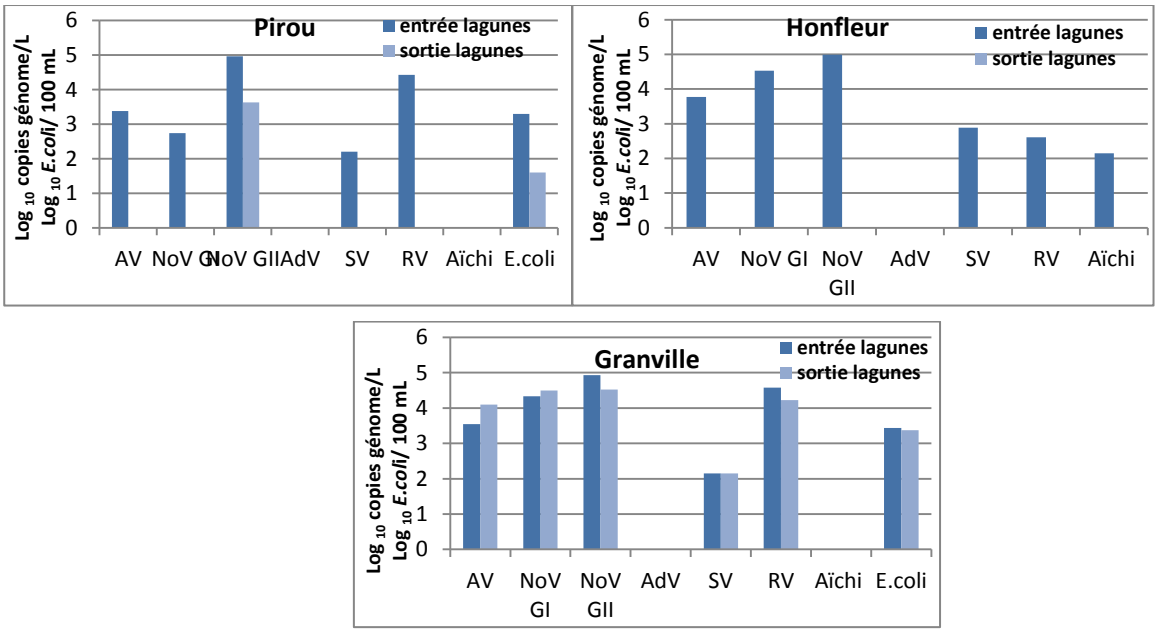


Figure 29 : Efficacité des lagunages de finition. Honfleur et Granville : lagunage en chapelet avec bassins effilés (TS = 3 jours); Pirou : lagunage avec bassins rectangulaires (TS = 30 jours).

l'opposé, la concentration moyenne en Rotavirus dans les eaux brutes passe de 300 copies/L à 10^5 copies/L, soit une augmentation d'un facteur 100 à 1000 de janvier à avril.

3.3. Caractérisation de la contamination virale des effluents traités

Les concentrations en virus mesurées dans les effluents traités durant la période de janvier à avril 2012 sont présentés Figure 26. La station d'épuration utilisant le traitement UV a été écartée car la méthode par qRT-PCR ne rend pas compte de l'effet virucide de cette technique (génome insuffisamment dégradé pour empêcher l'amplification du génome) et induirait une sur-estimation du nombre de virus en sortie.

Les virus sont retrouvés dans les effluents traités à une concentration maximale de $3{,}2x10^4$ copies/L (pour NoV GI et NoV GII) et à une concentration moyenne de 580 copies/L. Rotavirus est retrouvé le plus fréquemment en sortie puisque il est présent dans 55 % des effluents traités à une concentration moyenne de 680 copies/L. Pourtant, sa concentration en entrée de STEP n'est pas la plus élevée (cf.3.2).

AV et NoV GII sont retrouvés dans 33 % des effluents finaux à une concentration moyenne respective de 1300 copies/L et de 8100 copies/L. Ce sont les virus ayant les concentrations les plus élevées dans les eaux brutes. NoV GI est retrouvé dans 18 % des effluents à une concentration moyenne de 6200 copies/L.

AdV, SV, VHE et Aïchi sont à une concentration de 140 copies/L, mais AdV et SV sont retrouvés plus fréquemment, dans 27 % et dans 18 % des effluents finaux respectivement.

Le virus de l'hépatite E et Aïchi virus sont retrouvés dans 9 % des effluents. Ces deux virus présentent les mêmes concentrations et les mêmes fréquences de détection alors que dans les eaux brutes VHE est moins présents qu'Aïchi virus. Enfin, Entérovirus et le virus de l'hépatite A sont absents des effluents traités. EV était peu présent dans les eaux brutes (33%) et VHA en était absent. *E.coli* est présent dans 100 % des effluents de sortie à une concentration moyenne de 230 /100 mL.

3.4. Efficacité de rétention des virus par les filières de traitement

3.4.1. Traitements secondaires : boue activée et disques biologiques

Nos campagnes de mesure nous ont permis de récolter des données sur l'efficacité de rétention des boues activées et des disques biologiques, les concentrations moyennes géométriques et les abattements obtenus sont présentés Figure 27. Les STEP équipées de traitement membranaires sont exclues de ce chapitre car le traitement secondaire et le traitement de désinfection y sont fusionnés, il n'y a donc pas d'étape intermédiaire entre le bassin d'aération et l'effluent filtré.

Les sensibilités des virus au traitement par boues activées sont disparates. Les virus les mieux retenus semblent être Aïchi virus et Adénovirus avec une réduction moyenne de 4,7 U.log et >4,1 U.log. Viennent ensuite Entérovirus et Sapovirus avec des réductions respectives de >3,4 U.log et 3,8 U.log. Au contraire, les virus qui semblent être les mieux retenus par la boue activée sont Norovirus GII, Norovirus GI et Rotavirus avec respectivement 1,6 U.log, 1,7 U.log et 0,8 U.log de réduction. Le taux de rétention d'Astrovirus, à 2,8 U.log, est similaire à celui mesuré pour *E.coli.* (2,7 .log). L'abattement moyen des virus par les boues activées est de 2,5 U.log.

L'étage de biodisques de Colleville sur mer réduit très peu à lui seul la concentration en virus entériques (la décantation primaire n'est pas prise en compte). Au vue de la précision de la technique, les différences d'abattement entre les virus sont faibles puisque les abattements sont entre 0 et 0,4 U.log. Aïchi virus, Rotavirus et Astrovirus ne subissent aucun abattement, tandis que Sapovirus et Norovirus GII subissent un abattement de 0,4 U.log. L'abattement moyen mesuré est de 0,2 U.log. Seul *E.coli* subit un abattement de 2,2 U.log.

3.4.2. Traitement tertiaires extensifs

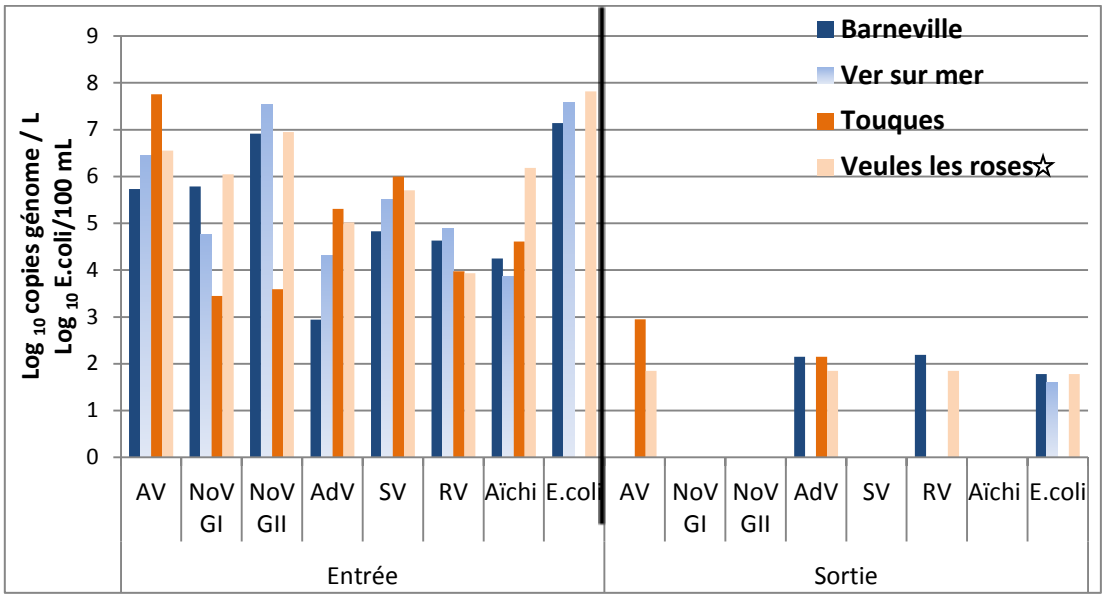


Figure 30 : Efficacité des bioréacteursmembranaires(l'étape de traitement biologique par boues activées fait partie intégrante du système). Bleu :BRM à plaques; Orange : BRM à fibres creuses**. ☆ :** moyenne de deux échantillons.

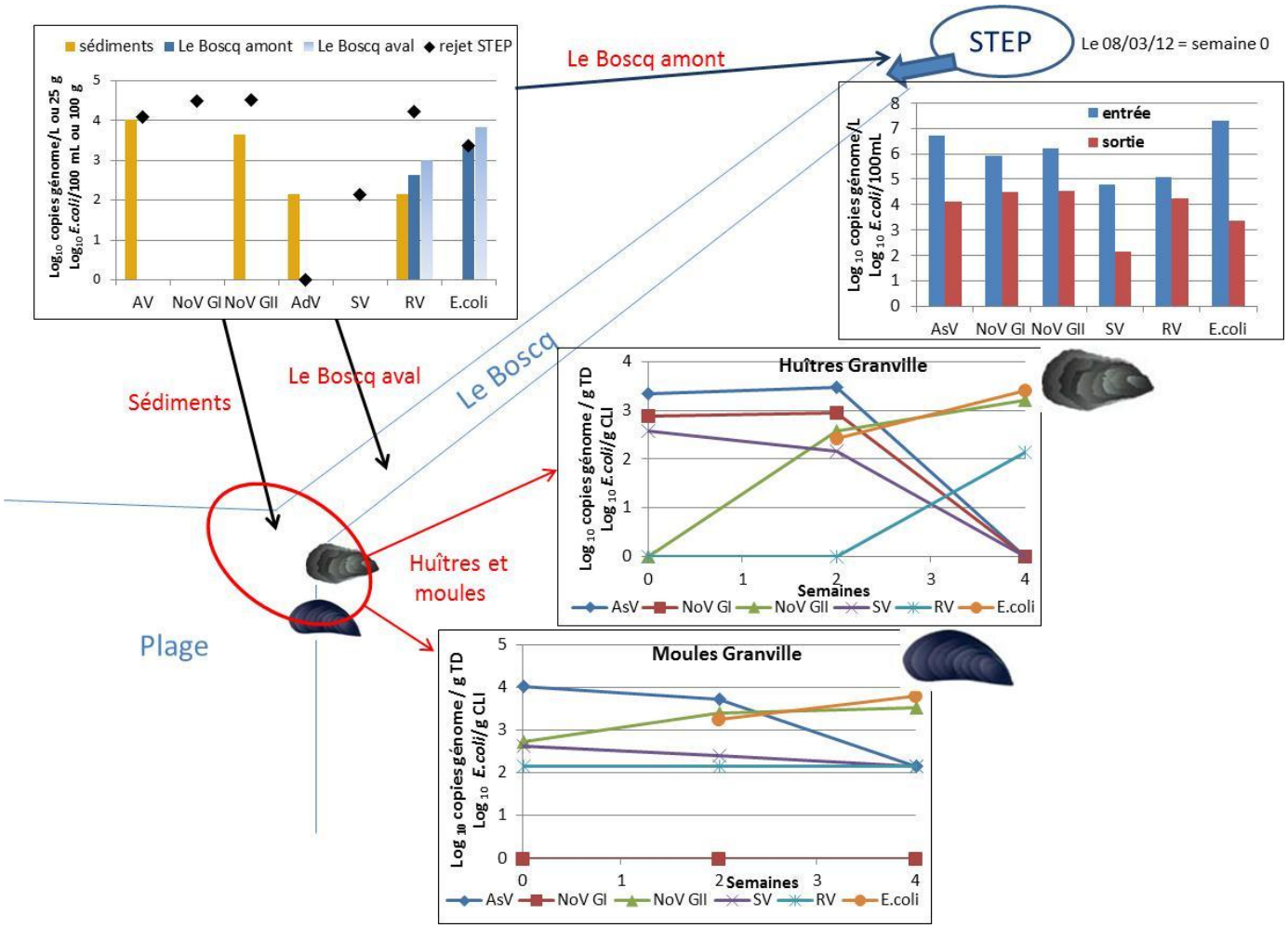


Figure 31 : Contamination du site de Granville à la Pointe du Roc (50). TD : tissu digestif, CLI : chair et liquide intervalvaire.

Les trois virus avec une fréquence de détection dans les eaux brutes inférieure à 50 % (cf.3.1) n'ont pas été représentés par souci de lisibilité.

La Figure 28 présente les concentrations en virus entériques mesurées dans des stations équipées de filtres. Les concentrations en virus dans les eaux brutes ne sont pas comparables pour les trois STEP. Agon présente les concentrations en entrée les plus élevées avec en moyenne $5x10^5$ à 10^6 copies/L. Le sable dunaire planté de roseaux de 4 m d'épaisseur en moyenne permet d'abattre au minimum 1 U.log de Rotavirus, jusqu'à 5 U.log de Norovirus GII et 2,9 U.log en moyenne sur les virus. Seul Rotavirus est encore détecté dans l'effluent.

La station d'épuration de Colleville sur mer (filtre à sable vertical de 2 m d'épaisseur) présente des concentrations en virus dans l'effluent brut plus faibles qu'à Agon avec un minima à 4000 copies/L pour RV et un maxima à $5x10^6$ copies/L pour NoV GII. Les virus Aïchi ne sont pas retrouvés en entrée. Le filtre à sable ne permet pas d'abattement sur RV, mais AV subit une réduction de 1,5 U.log et jusqu'à 2,5 U.log pour SV, AdV quant à lui, est complètement éliminé. En moyenne le filtre à sable de Colleville permet un abattement de 1,8 U.log. Donc les filtres à sable testés permettent un abattement moyen de 1,6 U.log pour 2 m d'épaisseur de sable.

A la station d'épuration de Dozulé, les concentrations en virus sont plus disparates à l'entrée du filtre. Les deux filtres plantés de roseaux (FPR) permettent un abattement plus minime que les filtres à sable avec des abattements de 0,5 U.log pour AV, 0,2 U.log pour NoV GII et RV. En revanche, NoV GI et NoV GII subissent environ 2 U.log de chute. En moyenne, l'efficacité virucide de Dozulé est de 1 U.log. L'abattement de *E.coli* est de seulement 0,3 U.log grâce au filtre planté.

La Figure 29 présente les concentrations en virus entériques mesurés dans des stations équipées de lagunages de finition. Honfleur et Granville étant des lagunages en chapelet avec des bassins effilés, et Pirou ayant des bassins rectangulaires découlant d'un ancien lagunage naturel. Les concentrations en virus dans les eaux brutes sont comparables d'une station à une autre, à l'exception de Rotavirus et NoV GI. La concentration en Rotavirus est de 280 copies/L à Honfleur, de $1,2x10^5$ copies/L à Granville et de $2,5x10^6$ copies/L à Pirou. La concentration en NoV GI est de $1,8x10^5$ copies/L à Honfleur, de $8x10^5$ copies/L à Granville et de $3,2x10^5$ copies/L à Pirou. Les lagunes de finition d'Honfleur semblent très efficaces puisque aucun virus n'est retrouvé dans l'effluent final, soit des abattements de 1,7 U.log pour Aïchi virus, à 5 U.log pour NoV GII et 3,2 U.log d'abattement en moyenne. Les lagunes de finition de Granville ne sont que peu efficaces sur les virus. Aucun abattement n'est observé sauf pour NoV GII avec 0,4 U.log et pour RV avec 0,3 U.log, d'ailleurs la concentration en *E.coli* reste stable aussi à 2000/100 mL après passage dans les bassins. Les lagunes de Granville permettent un abattement moyen de 0,2 U.log. Les lagunes de finition de Pirou donnent 1,3 U.log d'abattement pour les NoV GII et jusqu'à 4,4 U.log d'abattement sur Rotavirus, en moyenne elles permettent un abattement de 2,6 U.log. Leur efficacité est donc comparable aux lagunes d'Honfleur mais avec un temps de séjour théorique 10 fois plus long. L'abattement obtenu pour *E.coli* est d'environ 1,5 U.log, tandis que les lagunes d'Honfleur permettent un abattement d'environ 2 U.log (suivis 2007-2010 AESN). En moyenne, les trois lagunages de finition testés permettent un abattement de 2 U.log.

3.4.3. Traitements tertiaires intensif s

A la STEP du Bourg Dun utilisant des lampes UV basse pression l'abattement mesuré sur les virus par qRT-PCR est négligeable avec 0,2 U.log d'abattement en moyenne. Les abattements sur les virus se situent entre 0,1 U.log pour SV et 0,5 U.log pour NoV GII et AV. Comme mentionné en introduction, la dégradation photo-chimique des virus engendrée par les UV n'est pas détectable par la PCR. Les UV ont un effet bactéricide sur *E.coli* avec 2,6 U.log d'abattement.

L'efficacité des traitements membranaires est présentée Figure 30. Les données de la STEP de Touques sont celles des suivis réalisés en 2011 et non en 2012 car les membranes ayant subi une usure prématurée, les valeurs de 2012 ne reflètent pas la réelle efficacité du système avec membranes en bon état (chute de rendement >1,5 U.log constatée sur *E.coli*).

Il ne semble pas y avoir de différence de pouvoir de rétention entre les BRM à plaques et les BRM à fibres creuses. Les concentrations en virus en entrée des stations divergent d'une installation

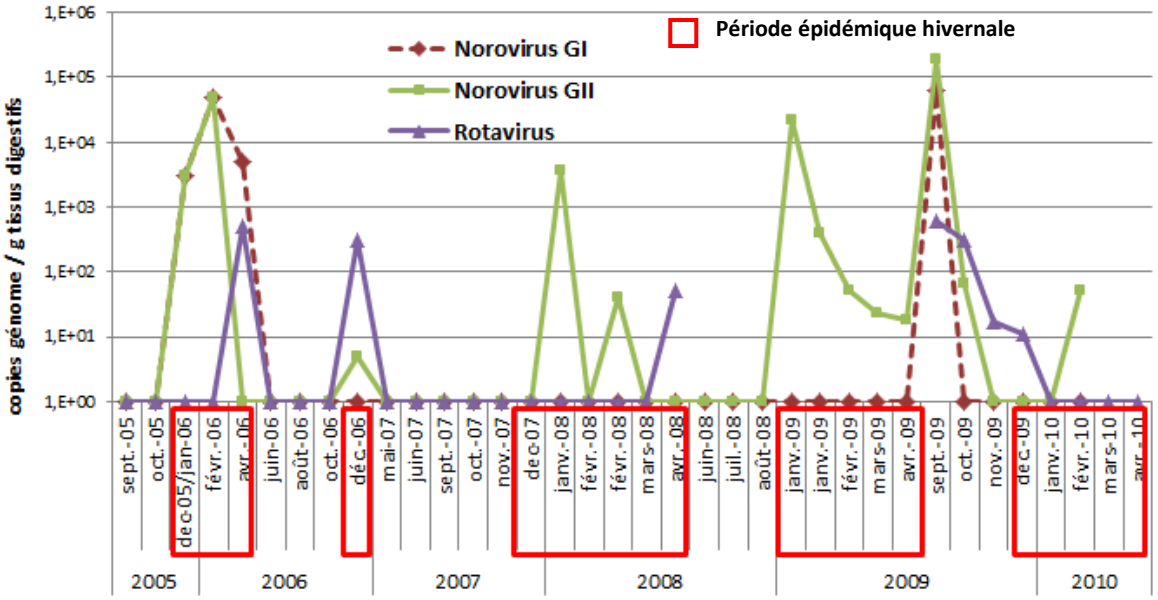


Figure 32 : Contamination en NoV GI, NoV GII et RV des huîtres à la Pointe du Roc à Granville (50) de septembre 2005 à avril 2010. (ARS 50)

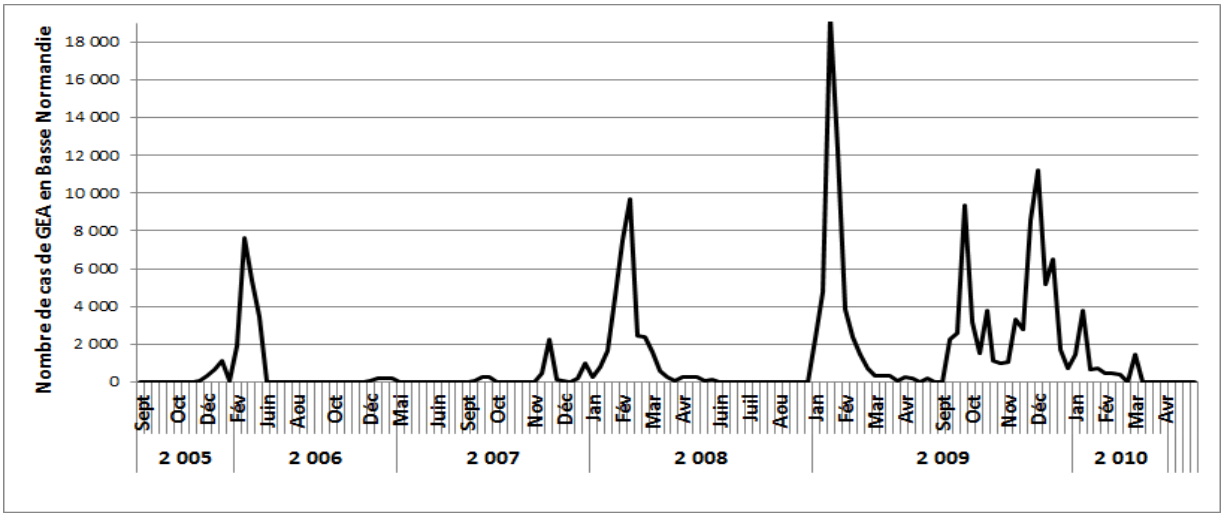


Figure 33 : Nombre de cas de GEA recensés en Basse Normandie de septembre 2005 à avril 2010. (Sentiweb)

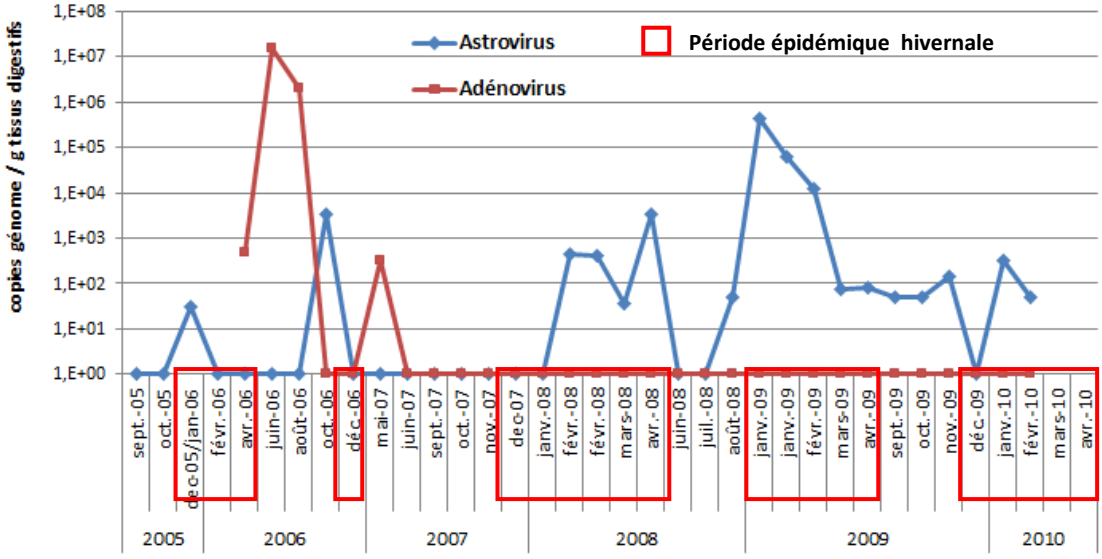


Figure 34 : Contamination en Astrovirus et Adénovirus des huîtres à la Pointe du Roc à Granville (50) de septembre 2005 à avril 2010. (ARS 50)

à l'autre, toutefois cela ne semble pas influer sur l'efficacité de ce traitement de désinfection. En effet, AV, RV et AdV sont retrouvés à une concentration proche du seuil de quantification malgré leur différence de concentration en entrée. AdV subit le plus faible abattement à Barneville avec 0,8 U.log de réduction, l'abattement maximum est celui de NoV GII à la STEP de Ver sur mer avec un abattement de 7,5 U.log. L'abattement moyen est de 4,4 U.log.

3.5. Contamination de sites littoraux par les virus entériques

3.5.1. Contamination à Granville, Pointe du Roc de mars à avril 2012

La Figure 31 présente les résultats des analyses réalisées sur le site de la Pointe du Roc avec une représentation schématique des points de prélèvement.

La STEP de Granville, avec boues activées et lagunes de finition en chapelet, permet un abattement des virus de 2,7 U.log en moyenne le jour du prélèvement.

Parmi les germes présents dans l'effluent épuré, seuls RV et *E.coli* sont retrouvés dans l'eau de la rivière. Toutefois, ces germes sont aussi retrouvés en amont de la STEP. Les AV et NoV GII, absents de l'eau du Boscq, sont retrouvés dans les sédiments au niveau du rejet avec respectivement des concentrations de $4x10^4$ copies /25g et 4000 copies/25g respectivement. AdV et RV sont aussi présents dans les sédiments mais leur concentration sont moins significatives (140 copies/25g). D'ailleurs RV est le seul virus à être à la fois présent dans l'eau de rivière, le rejet de STEP et les sédiments le jour du prélèvement.

Par souci de clarté, seuls les virus retrouvés dans au moins un des bivalves sont représentés Figure 31. Les courbes de concentration des virus suivent les mêmes tendances pour les deux bivalves. Les concentrations en AV, NoV GI et SV diminuent tandis que les concentrations en *E.coli* et NoV GII augmentent d'un facteur 10. Les concentrations en virus dans les huîtres à t0 sont proches de 1000 copies/g de TD[1] pour les trois virus retrouvés, alors que les concentrations en virus dans les moules sont plus disparates allant de 140 copies/g de TD à 10^4 copies/g de TD. Astrovirus est le virus le plus concentré dans les coquillages, le premier jour sa concentration est à 10^4 copies/g de TD dans les moules et à 2000 copies/g de TD dans les huîtres.

Les virus présents dans les coquillages sont absents de l'eau du Boscq le jour du prélèvement, sauf RV qui lui est retrouvé dans les moules et dans les huîtres quatre semaines plus tard. Quant aux virus retrouvés en sortie de station d'épuration, ils sont tous retrouvés dans les mollusques, excepté NoV GI dans les moules (mais la contamination peut aussi bien provenir de la traversée de la zone urbaine ou en amont).

Un des objectifs du suivi des coquillages était de pouvoir appréhender un « T90 » pour les virus étudiés, malheureusement aucune cinétique nette n'a pu être observée. C'est pourquoi les travaux de C. Laspougeas (2007) encadrée par l'ARS 50 et poursuivis par S. Allix ont été utilisés afin d'apporter un début de réponse.

3.5.2. Contamination à Granville, Pointe du Roc de 2005 à 2010

La Figure 32 présente le suivi de la concentration en NoV GI, NoV GII et RV dans les huîtres à Granville Pointe du Roc entre 2005 et 2010, les méthodes de concentration et de détection sont les mêmes que celles présentées en 2.2.3.

Les virus entériques se concentrent dans les huîtres au moment des pics épidémiques hivernaux, en particulier le pic à NoV GII à partir de décembre ou janvier, et le pic à RV plutôt à partir d'avril. En effet, ce dernier semble en général détecté deux à trois mois après le pic à NoV. La Figure 33, présentant le nombre de cas de GEA recensés en Basse Normandie par le réseau Sentinelles (Sentiweb, Inserm, UPMC) est le parfait miroir des contaminations virales observées dans les huîtres à Granville. D'un point de vue quantitatif, il ne semble pas y avoir de corrélation

[1] Tissus digestifs

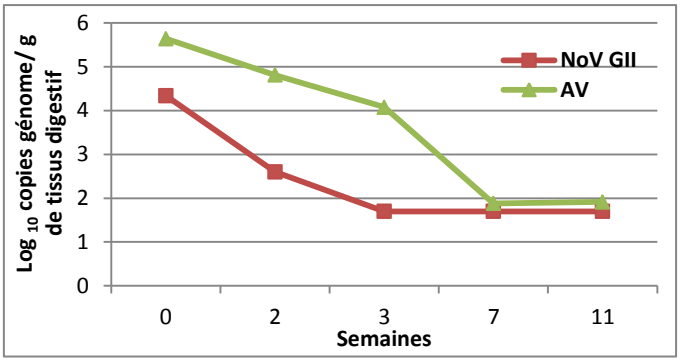


Figure 35 : Suivi de l'élimination de Norovirus GII et Astrovirus dans les huîtres de la Pointe du Roc à Granville.

Tableau 10 : Contamination du site de Pirou plage. TD : tissus digestifs ; CLI : chair et liquide intervalvaire

Unités	Echantillons	AV	NoV GII	RV	*E.coli*
copies de génome/ L *E.coli*/ 100 mL	Rejet STEP de Pirou			4,3E+03	4,0E+01
	Eau Le Dy embouchure		3,0+E03		8,0+E01
copies de génome/ 25 g *E.coli*/ 100g	Sédiments Le Dy amont STEP				3,6E+03
	Sédiments Le Dy Aval STEP	7,0+E02			1,5E+03
	Sédiments Le Dy embouchure				8,0E+01
copies de génome / g de TD *E.coli*/ g de CLI	Moules			1,4+E02	4,1+E02

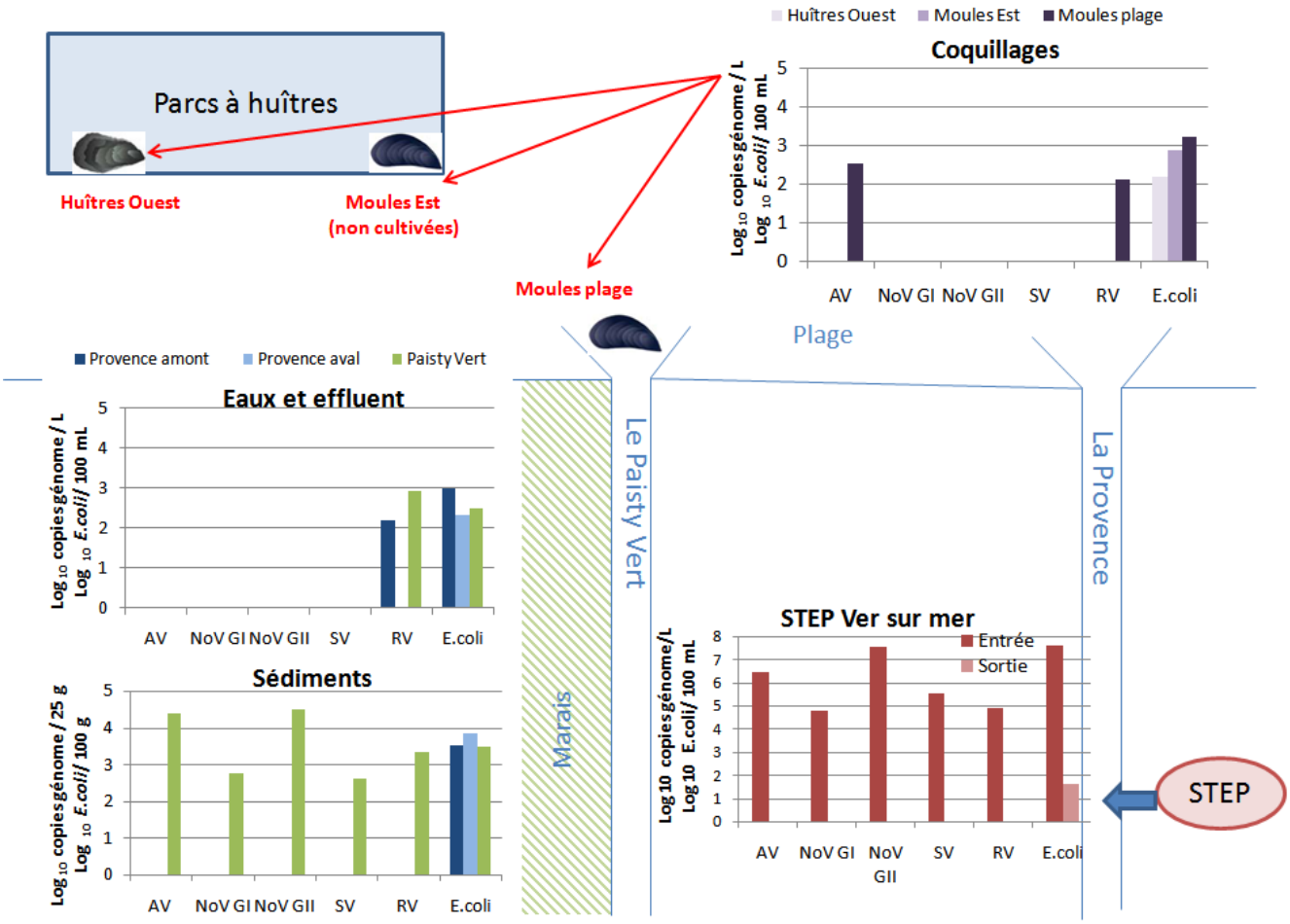


Figure 36 : Contaminations au site de Ver sur mer. cg : copies de génome ; g de TD : gramme de tissus digestifs.

entre l'importance des pics épidémiques de GEA recensés par le réseau Sentinelles et la concentration en NoV retrouvée dans les huîtres. Car entre janvier et février 2009 plus de 18000 cas de GEA sont enregistrés, pourtant la concentration en NoV GII mesurée dans les huîtres à cette époque est similaire à la concentration de février 2006 où il y avait 10 fois moins de GEA. Les concentrations maximales se situent entre $2x10^3$ et $5x10^5$ copies/g de TD.

La contamination des huîtres en Astrovirus et en Adénovirus (Figure 34) a aussi été suivie durant l'étude. Les pics de concentration en AV dans les huîtres suivent eux aussi la même tendance que les pics de GEA, en revanche les virus se concentrent dans les huîtres bien avant l'apparition du pic de GEA notifiées (Sentiweb) de l'hiver 2009. De 2005 à 2009, la concentration d'AV dans les huîtres est du même ordre de grandeur que NoV GI et GII. Dans le cas d'AdV, il n'est détecté que quatre fois au cours de la période de prélèvement, et ce en dehors de la période hivernale. Il est intéressant de noter que sa concentration en juin 2006 est extrêmement élevée ($1,5x10^7$ copies/g TD) mais corrélée à une épidémie de GEA de petite ampleur avec environ 400 cas répertoriés en Normandie d'après les données de Sentiweb.

Le pic important de GEA en janvier 2009 donne une cinétique de décroissance de NoV GII et d'AV chez les huîtres jusqu'à avril. En estimant que la contamination en janvier 2009 fut à la fois ponctuelle est importante, il est possible d'approcher une cinétique d'élimination de NoV GII et AV dans les huîtres à cette période (Figure 35). En supposant qu'il n'y ait pas eu de contaminations supplémentaires à bas bruit entre temps, il semble que 11 semaines ne suffisent pas à éliminer totalement NoV GII et AV à des concentrations initiales respectives de $2,2x10^4$ et de $4,4x10^5$ copies/g de TD. Pour NoV GII, la cinétique d'élimination serait d'environ 0,8 U.log par semaine puis après trois semaines, les virus restent présents à une concentration inférieure au seuil de quantification. Pour AV la cinétique apparente semble plus erratique, l'auto-épuration serait d'environ 0,4 à 0,7 U.log par semaine avec une évolution asymptotique après trois semaines.

3.5.3. Contamination à Pirou plage

Les résultats de la campagne de prélèvement sont présentés Tableau 10. RV est le seul virus retrouvé à la fois dans l'effluent rejeté par la STEP à une concentration de 4300 copies/L et dans les moules à 140 copie/g de TD. La concentration en *E.coli* dans les sédiments suit un gradient, la concentration en amont de la STEP est plus importante qu'à l'aval au niveau de l'embouchure (3600 *E.coli*/100g en amont du rejet et 80 *E.coli*/100g à l'émissaire). Le seul virus retrouvé dans les sédiments est AV en aval de la STEP à 700 copies/ 25 g. Enfin, l'eau du Dy à l'embouchure était légèrement plus chargée en *E.coli* que l'effluent avec 80 *E.coli*/100mL contre 40 *E.coli*/100 mL pour l'effluent. C'est également la seule matrice dans laquelle les NoV GII sont détectés à 3000 copies/L.

3.5.4. Contamination à Ver sur mer

Seuls les virus présents dans au moins une des matrices sont représentés dans les graphiques de la Figure 36. La STEP de Ver sur mer rejette un effluent ne contenant aucun virus malgré leur concentration en entrée très élevée, confirmant l'efficacité des membranes, seul *E.coli* est retrouvé à une concentration de 80 *E.coli*/100 mL.

Les huîtres du parc conchylicoles sont conformes au classement sanitaire du site puisque leur teneur en *E.coli* est bien inférieure à 4 600 *E.coli*/g de CLI correspondant au classement B (100 *E.coli*/ g de CLI). De plus, elles ne contiennent aucun virus. Un gradient de contamination en *E.coli* est mesuré dans les coquillages à mesure que l'on s'éloigne du Paisty Vert avec 2 000 *E.coli*/g de CLI à l'embouchure, 780 *E.coli*/g de CLI à l'extrémité Est des parcs et 100 *E.coli*/g de CLI à l'extrémité Ouest des parcs à un peu plus de 2 km du rejet. La forte concentration en *E.coli* des moules à l'embouchure (inférieure tout de même à 4600 *E.coli*/g de CLI) coïncide avec la présence d'AV et RV à respectivement 350 copies/g de TD et 140 copies/g de TD.

Seul RV est retrouvé dans les eaux de rivière, dans la Provence en amont du rejet de la STEP à une concentration de 140 copies/L et dans le Paisty Vert à 800 copies/L. La concentration en *E.coli* décroît entre l'amont et l'aval de la Provence, elle passe de 1000 à 200 *E.coli*/100 mL, celle en sortie du Paisty Vert est similaire avec 300 *E.coli*/100 mL. En revanche, les sédiments du Paisty Vert sont contaminés en virus. AV, NoV GI, NoV GII, SV et RV sont présents entre 400 copies/25 g et $3x10^4$ copies/25 g. Au contraire, aucun virus n'est retrouvé dans les sédiments de la Provence. Les concentrations en *E.coli* dans les sédiments sont similaires pour les deux rivières, entre 3000 et 6000 E.coli/100 mL.

Discussion

Efficacité des méthodes de détection

Aujourd'hui de nombreux progrès ont été faits quant à la connaissance des virus entériques. Il y a encore peu de temps leur impact sanitaire était largement sous-estimé en raison de la difficulté à les détecter et surtout à les quantifier. Pourtant, les techniques de détection et de quantification actuelles ne sont pas entièrement satisfaisantes. La culture cellulaire est longue et fastidieuse, et son seuil de détection est peut-être insuffisamment sensible pour être applicable sur les échantillons environnementaux où les virus sont dispersés. Sans compter que les virus dont l'impact sanitaire est le plus important, Norovirus et Rotavirus, sont non cultivables pour le premier, et difficilement pour le second. A noter cependant que deux équipes aurait réussi à cultiver Norovirus dans des cellules, mais avec un protocole complexe (Straub *et al.*, 2007 ; Leung *et al.*, 2010). La culture de ce virus semble être le challenge des virologues pour ces prochaines années. Heureusement, la biologie moléculaire nous permet de détecter ces virus, mais un autre obstacle apparaît très vite, la différenciation du génome viral et des virus infectieux. Car les virus nus sont certes résistants dans l'environnement, mais la dégradation de leur capside ou même un simple défaut engendré par une mutation les rend incapable d'infecter une cellule hôte. En effet, il faut garder à l'esprit que les virus mutent facilement, de fait il apparaît souvent des erreurs lors de leur multiplication dans la cellule hôte et le ratio virus infectieux/virus non infectieux peut être parfois aussi faible que 1/100 voire 1/1000 au moment de la lyse cellulaire (http://www.virologie-uclouvain.be). Pour parer à cela, des méthodes ont été mise au point comme par exemple l'utilisation de marqueurs pour discriminer les capsides dégradées (Graiver *et al.*, 2010), l'ICC-PCR présentée en introduction ou encore la mesure du taux de protéines de capside oxydées permettant de voir une décroissance de virus infectieux au sein d'un échantillon (Sano *et al.*, 2010). Mais la perte du caractère infectieux des virus n'est pas seulement liée à l'intégrité de la capside, les acides nucléiques qu'elle contient doivent eux aussi être opérationnels et pour le moment aucune méthode (à part la culture cellulaire) ne permet de faire le lien entre la dégradation du génome et la perte du caractère infectieux.

Donc la méthode applicable au plus grand nombre de virus et qu'il convient de développer est actuellement la PCR. D'ailleurs le groupe CEN/WG6/TAG4, qui devrait rendre un rapport final prochainement, a choisi cette méthode pour la détection des virus entériques dans les matrices alimentaires. Toutefois, en plus de la grande part d'incertitude due au ratio infectieux/non infectieux, un autre problème vient se greffer : l'incertitude de la méthode de concentration des virus. Car, comme dans toute extraction, il devrait être possible de quantifier quel est le pourcentage de virus réellement extrait de la matrice afin d'y appliquer un facteur correcteur. Or même avec l'utilisation du Mengovirus comme témoin d'extraction, il est impossible de quantifier la perte induite lors de la concentration.

Plusieurs équipes de recherche publiques et privées (Ifremer, CEERAM, LCPME, ADRIA Normandie,…) cherchent à répondre à ces interrogations.

Contamination virale des eaux résiduaires urbaines

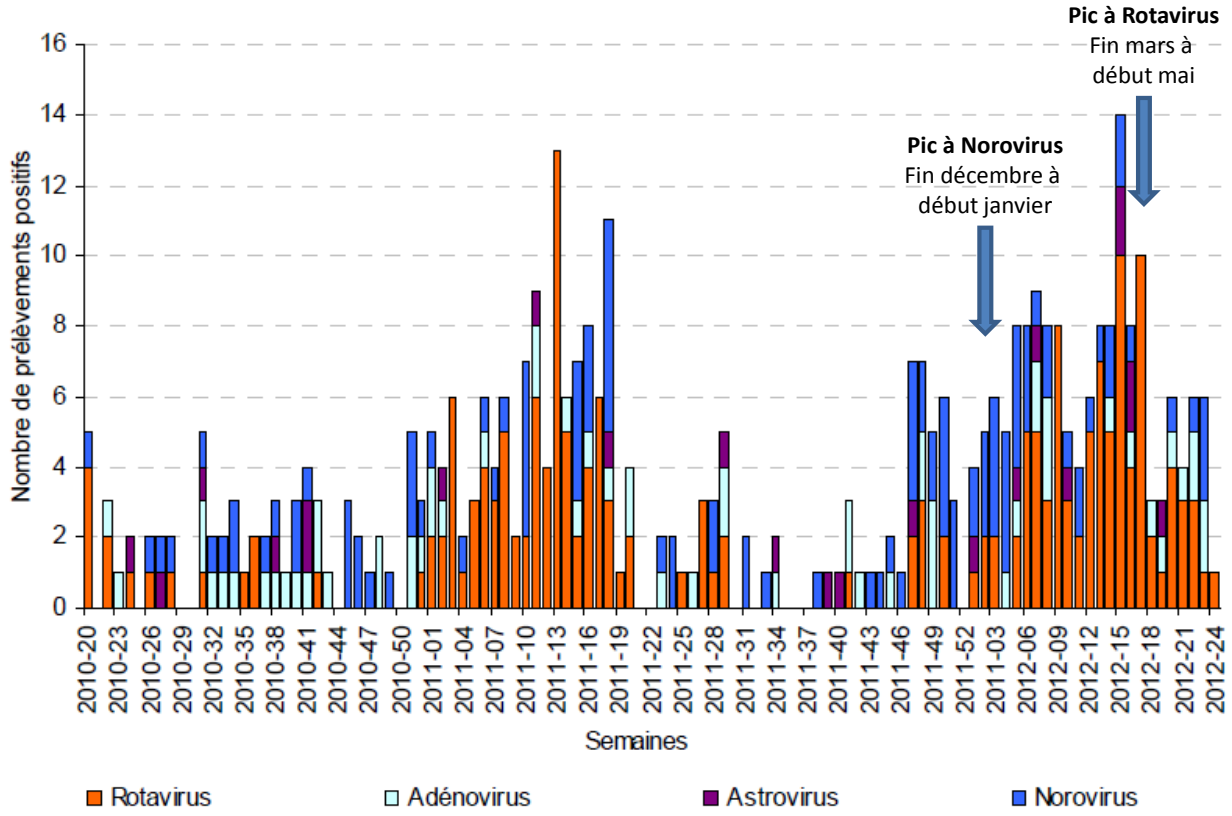


Figure 37 : Evolution hebdomadaire du nombre de prélèvements positifs aux virus entériques, Laboratoire de virologie du CHU de Rennes, tous âges confondus. (Invs, 2012**)**

Cinq virus ont été retrouvés dans 100 % des eaux brutes prélevées entre janvier et avril, en accord avec la saisonnalité des virus entériques.
Les deux virus de la famille des *Caliciviridae,* SV et NoV, sont parmi les plus concentrés avec des concentrations entre 10^5 et 10^6 copies de génome / L. En ce qui concerne NoV GI, les publications montrent que sa concentration en entrée de STEP est très variable même en période hivernale avec une courbe de concentration en « dents de scie » (da Silva *et al*., 2007 ; Flannery *et al*., 2012) comme nos mesures le confirment d'ailleurs Figure 25 où l'évolution de sa concentration semble moins régulière que les autres. Katayama *et al.* (2008) trouvent eux aussi une concentration à $2x10^5$ copies/L dans les eaux brutes entre janvier et avril 2004 ce qui appuie nos résultats. Quant à NoV GII, da Silva *et al*. (2007) mesurent des concentrations similaires, entre 10^6 et 10^7 copies/L en entrée de quatre stations d'épuration. Le fait que NoV GII soit le virus retrouvé en plus forte concentration dans les eaux usées Normandes corrobore les données de l'Invs indiquant que cette année encore, le principal agent responsable de l'épidémie de GEA hivernale était NoV GII.4.

Astrovirus, qui est la deuxième cause de GEA chez les enfants après RV (de Benedictis *et al*., 2011), est présent dans toutes les eaux brutes à une concentration de l'ordre de 10^6 copies/L tout comme Simmons *et al*. (2011) qui retrouve $5x10^6$ copies/L. A noter que ce virus est détecté non seulement pendant les pics épidémiques hivernaux, mais aussi tout au long de l'année (Le Cann *et al*., 2004 ; Suivis AESN 2007-2010). Cela suggère que ce virus est très répandu dans la population, les adultes le propage certainement de manière asymptomatique puisque seuls les enfants (et les personnes immunodéprimées) développent des symptômes de GEA. Sa fréquence d'apparition tout au long de l'année pourrait potentiellement le rendre intéressant comme témoin d'efficacité de traitement.

Rotavirus a été également retrouvé dans toutes les eaux brutes durant le prélèvement à une concentration moyenne de $2,8x10^4$ copies/L. Li *et al*. (2011) a comparé la concentration en RV infectieux mesurée par ICC-qRT-PCR et le nombre de copies de génome par qRT-PCR comme lors de cette étude. La méthode par ICC-PCR se révèle beaucoup plus sensible et détecte 1,6 fois plus d'échantillons positifs que la qRT-PCR, ce qui semble indiquer que les concentrations mesurés par PCR lors de notre étude sont peut être sous estimées dans les eaux brutes. Un autre point en ce qui concerne les RV est à souligner, les données du réseau Sentinelles relayées par les médecins généralistes semblent correspondre majoritairement aux épidémies de GEA liées à NoV, le pic lié à RV semble quant à lui sous-estimé par une probable sous notification (lassitude des médecins pour le signalement ?) ou peut être en raison de symptômes moins apparents. Car comme le montre la Figure 6 et comme le confirme nos mesurent Figure 25, le pic épidémique lié à RV est fortement décalé par rapport à celui dû à NoV. (pic le plus important lié à NoV de décembre à janvier, second pic lié à RV en avril) Le CHU de Rennes qui effectue des recherches plus poussées sur les agents responsables de GEA, confirme également ce phénomène sur patients hospitalisés en 2012 (cf. Figure 37), tout comme les CHU de Rouen et de Caen.

Adénovirus 40-41 est retrouvé à une concentration moyenne dans les eaux brutes de 10^4 copies/L moins fréquemment que les précédents virus décrits (dans 80 % des effluents). Nos valeurs semblent inférieures à celles décrites dans la littérature plutôt comprises entre 10^5 et 10^6 copies/L (Simmons *et al.*, 2011 ; Katatyama *et al*., 2007) Il semble donc que l'occurrence d'AdV en Normandie soit plus faible qu'au Japon et qu'au Canada où ont été réalisées ces études, ou bien que la taille des STEP étudiées sur nos sites n'était pas suffisamment importante pour être tout à fait représentative de la circulation générale de ce virus. Contrairement aux autres virus entériques étudiés, il ne semble pas apparaître dans la population sous forme de pic épidémique mais plutôt de façon ponctuelle (AFSSA, 2007) ou comme un bruit de fond (cf. Figure 6 et la Figure 37).

Le virus Aïchi est retrouvé dans les eaux brutes à une concentration de $7,3x10^4$ copies/L. Il est difficile de comparer ces valeurs avec les données de la littérature car il a été peu recherché auparavant. La séroprévalence importante de ce virus dans la population décrite par Reuter *et al*. (2011), est en accord avec la fréquence de détection importante (93 %) dans les eaux usées urbaines. D'après Ambert-Balay *et al*. (2006), le taux d'incidence d'AïV dans les cas de GEA pédiatrique est faible (0,9 %), en revanche, ils sont présents lors d'infections mixtes avec d'autres

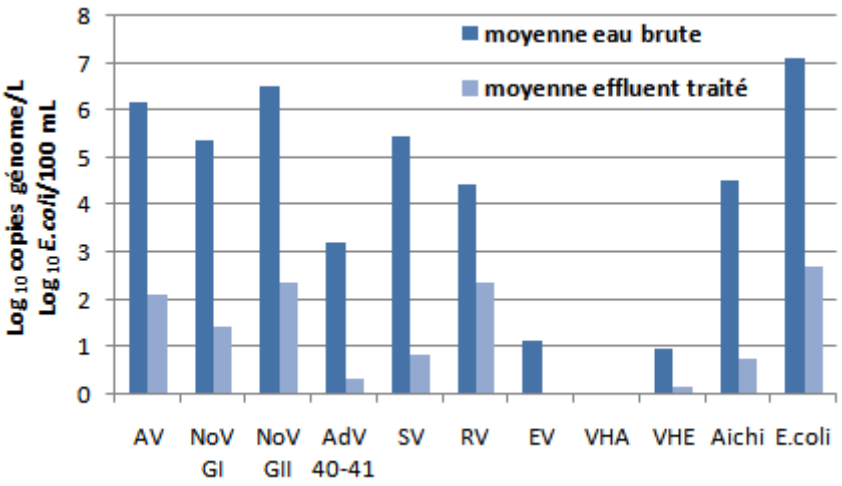


Figure 38 : Concentrations moyennes des virus entériques en entrée et en sortie des onze STEP de janvier à avril 2012.

virus entériques. Il y a donc un paradoxe entre la concentration importante en Aïchi virus dans les eaux brutes et leur fréquence d'apparition par rapport à leur apparente absence dans les cas de GEA. Reuter *et al*. (2011) suggèrent qu'Aïchi virus pourrait circuler dans la population de façon asymptomatique ou bien que les symptômes engendrés ne nécessitent pas une visite médicale, c'est pourquoi des investigations semblent nécessaires pour mieux comprendre ce décalage.

Entérovirus est retrouvé à une concentration moyenne de 2600 copies/L et dans seulement 33 % des eaux brutes. Madeline (2003), trouve EV à la STEP de Caen en Normandie à une concentration de l'ordre de 10^2 UFP/L (soit environ 1000 virus/L par extrapolation avec l'équivalence des UFP) et Katayama *et al*. (2008) retrouve EV à une concentration de 20 copies/mL (soit $2x10^4$ copies/L par extrapolation) ce qui rejoint les résultats de nos mesures. EV étant rarement retrouvé dans les effluents des STEP étudiées, nous n'avons pas pu estimer sa saisonnalité, d'après les résultats de Katayama *et al*., sa concentration dans les eaux brutes serait stable tout au long de l'année.

Le virus de l'hépatite E (VHE) est retrouvé dans 40 % des eaux brutes à une concentration moyenne de 240 copies/L. En 2008, le nombre de cas d'hépatite E recensé en France était d'environ 200 avec une répartition selon un gradient croissant Nord-Sud, la séroprévalence allant de 1 à 5 % dans les pays développés. Le fait de retrouver VHE dans 40 % des eaux usées, donc à une fréquence supérieure à ce que pourrait laisser supposer la séroprévalence, indique que l'incidence pourrait être sous-évaluée. D'ailleurs près de la moitié des cas seraient asymptomatiques (Purcell & Emerson, 2008) et la séropositivité à VHE n'est certainement pas recherchée en routine.

Le virus de l'hépatite A n'a jamais été retrouvé dans les eaux usées lors de nos investigations. Cela confirme la faible prévalence actuelle de cet agent dans l'environnement et dans la population avec une incidence annuelle de 2 cas pour 100 000 habitants en 2009 (AFSSA, 2010). Tout comme VHE, l'hépatite A est le plus souvent asymptomatique. Les dernières épidémies recensées en France étaient dues en 2007 à une consommation d'huîtres provenant de la baie de Paimpol (stockage à proximité d'un rejet accidentel d'eau usée), et fin 2009 début 2010 à des tomates séchées importées de Turquie (zone endémique). Le VHA est donc à surveiller, mais il ne semble pas être le virus entérique le plus inquiétant en circulation dans la population française.

Contamination des effluents traités

Même s'il est encore trop onéreux de contrôler en routine la concentration en virus entériques rejetée dans les effluents, il est capital de maîtriser cette source de pollution pour protéger les milieux sanitairement sensibles.

Il est rassurant de voir que seul *E.coli* est retrouvé dans 100 % des effluents traités à une concentration comprise entre 60 et plus de 1000 *E.coli* / 100 mL (cf. Figure 26).

Les concentrations moyennes géométriques des virus étudiés (prenant en compte également les concentrations égales à zéro) sont présentés Figure 38. Il apparaît que la plupart des virus subissent environ 4 U.log d'abattement au cours de la filière de traitement. NoV GII subit bien 4 U.log de chute mais sa concentration élevée en entrée fait que sa concentration dans l'effluent de sortie reste encore significative (100 copies/L en moyenne). En revanche, la concentration en RV n'est réduite que de 2 U.log au cours des traitements (RV est retrouvé dans 55 % des effluents traités). RV semble donc être le virus le moins bien retenu de ceux que nous avons testé. Cela peut s'expliquer par deux facteurs, son génome est constitué d'un ARN double brin donc moins sensible aux mutations et sa capside comporte trois couches. Toutefois ce n'est pas parce que son génome est mieux protégé, donc plus souvent détecté que celui des autres virus, qu'il a conservé son caractère infectieux. Si la capside est dégradée en surface et ne peux plus être reconnue par les récepteurs cellulaire de la cellule hôte, il ne pourra pas pénétrer la cellule.

La concentration en Adénovirus est réduite de 2,5 U.log au cours des traitements. Comme pour RV, sa persistance au cours de la filière de traitement pourrait être expliquée par la résistance intrinsèque de son génome composé d'un ADN double brin. L'ADN est plus résistant que l'ARN, et les doubles brins plus résistants que les simples brins.

VHE semble bien résister aux traitements car sa concentration moyenne en entrée est très faible mais il est encore détecté en sortie. Enfin, aucune conclusion ne peut être donnée sur la rétention de VHA car absent des eaux brutes.

En bref, les virus entériques à surveiller semblent être Norovirus (et en particulier le génogroupe 2) en raison de sa présence en forte concentration en période épidémique dans les eaux usées entraînant un plus grand risque de contamination des eaux traitées et Rotavirus qui semble être le peu retenu par les traitement.

Efficacité des systèmes de traitements des ERU

Il existe de nombreux systèmes dont les principaux ont été présentés dans la première partie de ce rapport. L'Agence de l'Eau a été le financeur de plusieurs rapports s'intéressant au pouvoir de désinfection des systèmes de traitement, Viovi (2004) et Lecourtois (2006) ont notamment amorcé un travail de synthèse du pouvoir de désinfection de certains traitements. De nombreuses publications scientifiques font également état du pouvoir virulicide de certaines installations. Toutefois, à notre connaissance, aucun rapport n'a comparé l'efficacité virucide des systèmes de traitement des eaux usées urbaines avec affinage microbiologique. Nous pouvons rapprocher nos résultats des données disponibles dans la bibliographie afin de pouvoir estimer quels sont les meilleurs traitements d'affinage microbiologique.

En ce qui concerne l'efficacité virulicide ou de rétention des systèmes de désinfection extensifs étudiés, nous pouvons conclure que le filtre à sable est sans surprise plus efficace que le filtre planté de roseaux. En effet, le FPR de Dozulé ne permet qu'un abattement de l'ordre de 0,5 U.log sur les virus et *E.coli*, à l'exception de NoV GI et GII qui subissent plus de 2 U.log d'abattement donnant ainsi un abattement moyen sur les virus de 1 U.log (2 jours de temps de séjour). Cependant, la littérature indique plutôt un abattement de l'ordre de 0,4 U.log pour 2 jours de temps de séjour sur bactériophages (Chendorain *et al.*, 1998).

Dans le filtre à sable vertical de Colleville, dont la granulométrie est beaucoup plus fine pour une épaisseur similaire, l'abattement est de 1,8 U.log en moyenne (0,9 à 3,6 U.log). Et la filtration par le sable dunaire à Agon, dont l'épaisseur est deux fois plus importante qu'à Colleville (4 m au lieu de 2 m), permet un abattement moyen de 2,9 U.log. Les charges hydrauliques appliquées étant similaires, nous pouvons supposer que comme avec *E.coli* l'abattement moyen des virus est proportionnel à l'épaisseur de sable utilisé tout comme semble le confirmer la littérature avec environ 0,5 U.log de chute pour 60 cm de sable (Torrens *et al*., 2009 ; Jenkins *et al*., 2011).

En ce qui concerne les lagunages tertiaires ou de finition, la configuration des systèmes est extrêmement importante pour garantir la rétention des virus. Le lagunage tertiaire d'Honfleur représente en quelque sorte le lagunage de finition idéal avec un cheminement sinueux, l'effluent exploitant tout l'espace, les bassins sont peu profond pour permettre la pénétration des UV, l'organisation en spirales optimise l'espace alloué et évite les court-circuits par le vent. Les virus présents à une concentration aussi importante que 10^5 copies/L sont totalement éliminés. Aucun virus n'est retrouvé dans l'effluent de sortie, soit un abattement moyen de 3,2 U.log. Toutefois, il faut être prudent car ce n'est qu'un prélèvement ponctuel ne prenant pas en compte tout à fait les mêmes masses d'eau (même si la boue activée homogénéise l'effluent). D'ailleurs, la concentration en *E.coli* est habituellement réduite de 2 U.log et les abattements sur les virus sont plutôt de l'ordre de 1 à 2 U.log (Suivis AESN 2007-2010), ce qui confirme bien que ces résultats sont certainement surestimés. A Granville, les lagunes sont conçues sur le même modèle que celles d'Honfleur mais il existe des courts-circuits hydrauliques, le temps de séjour est moindre (1,5 jours au lieu de 2,5 pour Honfleur) et la profondeur des bassins est plus importante. Ces différences semblent influer sur l'efficacité puisque l'abattement des virus n'excède pas 0,4 U.log et l'abattement de *E.coli* est de seulement 0,1 U.log. Mais les suivis AESN montrent qu'en avril 2009 l'abattement moyen des virus était de 1,5 U.log et de 2 U.log pour les *E.coli*, les mesures de 2012 sont peut être sous-estimées par le caractère ponctuel du prélèvement. Rappelons également que les faibles températures de la saison hivernale favorisent la persistance des virus et des bactéries dans l'effluent.

Enfin la STEP de Pirou permet des abattements similaires à la STEP d'Honfleur avec 2,6 U.log en moyenne alors que son temps de séjour théorique est 10 fois plus élevé. Cela est dû à la forme des bassins non optimisée pour une circulation de l'eau en « piston » et au nombre de bassins réduits.

Nous pouvons donc retenir que l'efficacité virulicide des lagunes de finition est au moins de 1,5 U.log d'après les suivis AESN (2007-2010), car lors de nos prélèvements ponctuels les abattements apparents ont atteint 5 U.log. L'abattement des virus est sans doute sous-estimé car le principal mécanisme virulicide en jeu dans ces lagunes sont les UV, or la méthode par PCR ne permet pas de détecter les dommages induits par ces radiations. Pour preuve, Pecson *et al*. (2011) mesure 4 U.log de réduction des phages MS2 par culture classique, et seulement 0,1 log de réduction par PCR avec la même dose UV. Leur configuration est le point essentiel de ce système, les lagunes d'Honfleur sont à prendre comme modèle. Non seulement ces systèmes permettent un abattement microbiologique (virulicide et bactéricide), mais ils jouent également un rôle de tampon avec le milieu récepteur en cas de départ accidentel de boues du traitement secondaire, permettent une intégration environnementale de la STEP, demande peu d'entretien et ne produisent évidemment pas de sous-produits toxiques. Il serait intéressant de faire un suivi régulier rapproché sur un site pilote pour définir avec plus de précisions l'efficacité de ces systèmes prometteurs (via l'installation d'un préleveur automatique en entrée et en sortie des lagunes par exemple).

Enfin, les deux types de bioréacteurs étudiés confirment les données rapportées dans la littérature. La grande différence de ce système par rapport aux installations extensives est la constance de l'efficacité pour tous les virus, comparable d'ailleurs à celle mesurée pour *E.coli*. Il est intéressant de voir que NoV GI et NoV GII, les virus les plus souvent incriminés dans les cas de GEA, sont totalement éliminés par les BRM étudiés. Les trois virus retrouvés en sortie (à des concentrations proches de la limite de détection) sont AV, AdV et RV. Pourtant ce système de filtration membranaire fonctionne comme une barrière et AdV étant le plus grand des virus mesurés, nous aurions pu nous attendre à ce qu'il soit le premier retenu. Les caractéristiques physico-chimiques de sa capside expliquent sans doute le fait qu'il ne soit pas retenu par le filtre. Les BRM à fibres creuses, développés après les BRM à plaques, ne sont pas pour autant plus efficaces que ces derniers. Pourtant, le seuil de coupure des BRM à plaques est plus important que celui des fibres creuses (0,4 µm contre 0,1 µm). La formation d'un « gateau » plus important à la surface des membranes plaques explique certainement ce phénomène, car les plaques ne subissent pas de cycles de rétrolavage[2] comme les fibres creuses. Les BRM à plaques semblent moins sensibles à l'usure prématurée des membranes (notamment les membranes dont une seule extrémité est fixée favorisant les frottements) pouvant induire une perte d'efficacité. Néanmoins les fibres creuses sont plus tolérantes aux variations de débit, et les rétrolavages fréquents évitent une surconsommation d'énergie pour compenser la perte de perméabilité transmembranaire. A priori les membranes plaques sont indiquées pour les STEP de petite à moyenne importance car moins compactes que les fibres creuses, plus adaptées quant à elles aux grosses installations (capacités de filtration plus intensives).

Nous ne pouvons pas conclure sur les traitements de désinfection sans dire quelques mots des traitements secondaires, ceux-ci conditionnent la qualité de la désinfection. Le traitement par boues activées contient des flocs abritant la biomasse épuratrice. Ces flocs forment des entrelacs complexes maintenus par des polymères bactériens, les virus s'y retrouvent piégés par des interactions hydrophobes et électrostatiques. La littérature indique que l'abattement des virus entérique grâce à la boue activée est d'environ 1,5 à 2 U.log. D'après nos prélèvements, nous observons que la rétention des différentes familles de virus à ce traitement est assez variable. Il semblerait que le virus le moins retenus soit RV avec seulement 0,8 U.log d'abattement, et NoV avec environ 1,5 U.log d'abattement. Astrovirus subirait la même réduction qu'*E.coli* avec 2,8

[2] Injection d'eau propre à contre courant à haute pression pour limiter la formation de biofilm à la surface de la membrane. Pour les membranes à plaques ce sont des cycles de relaxation qui sont utilisés, l'aspiration est stoppée momentanément pour faire baisser la pression transmembranaire.

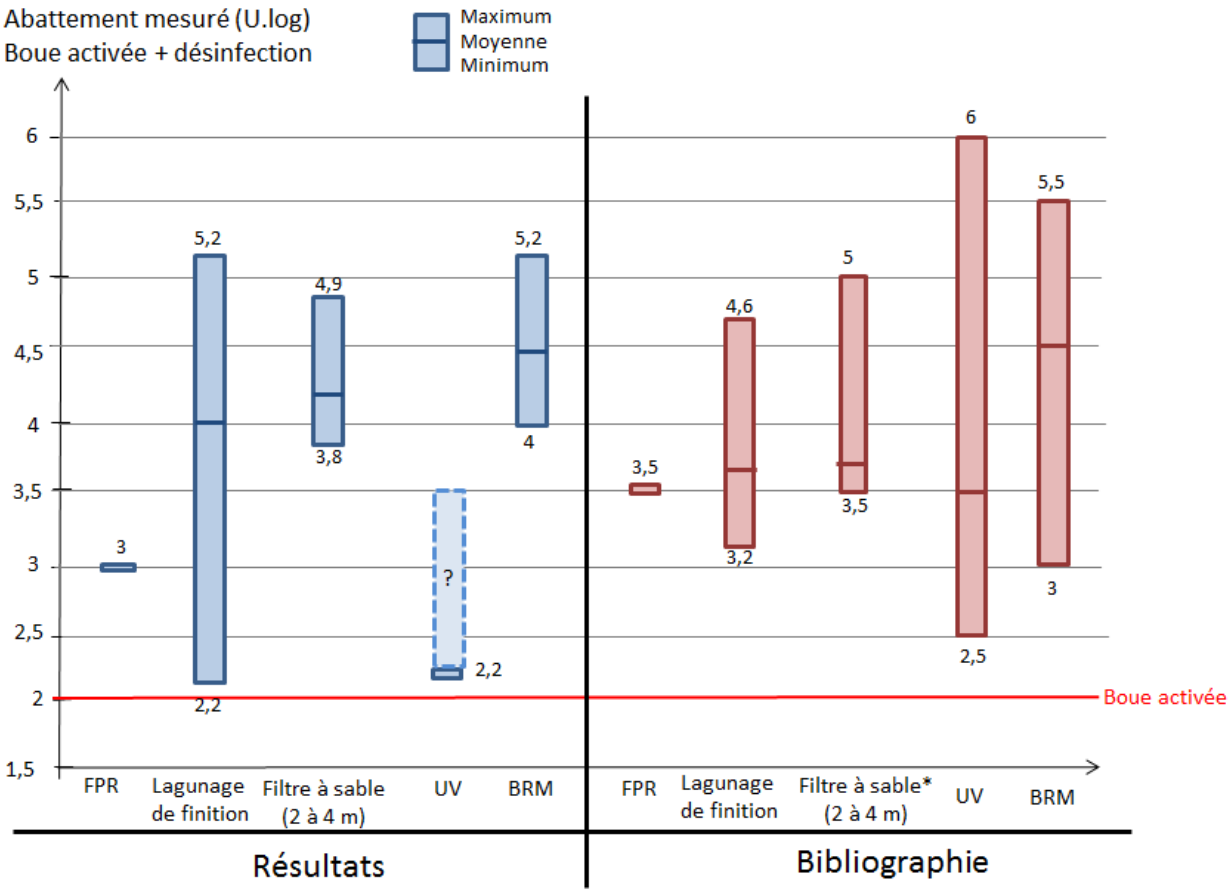


Figure 39 : Efficacités moyennes des onze stations d'épurations du littoral Normand (mesurées par q RT-PCR) comparées à l'efficacité mesurée dans la bibliographie présentée en introduction (toutes méthodes de mesures confondues cf. 1.4).* : extrapolation par rapport à une épaisseur de 0,6 m.

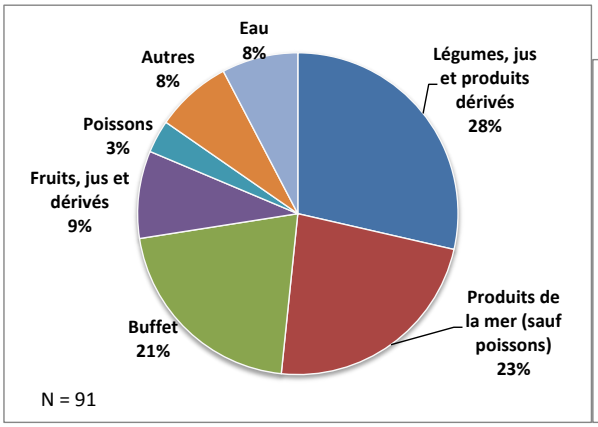


Figure 40 : Détail des types d'aliments responsables des infections à Calicivirus d'origine alimentaire en Europe entre 2009-2010 (EFSA, 2012 a)

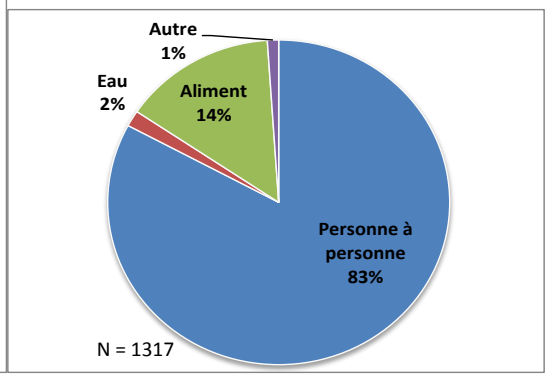


Figure 41 : Répartition des modes de transmission des gastroentérites à NoV en Europe de 2001 à 2006. (Kroneman *et al., 2008*)

U.log tandis que les autres virus sont mieux retenus encore qu'*E.coli* avec des abattements allant de 3,8 U.log à 4,7 U.log. Les virus les plus résistants sont dans l'ordre décroissant :
Rotavirus > Norovirus (GI/GII) > Astrovirus > Entérovirus > Sapovirus > Adénovirus > Aïchi virus
Les taux moyens d'abattement associés seraient de :
0,8 U.log 1,5 U.log 2,8 U.log 3,4 U.log 3,8 U.log 4,1 U.log 4,7 U.log

L'efficacité de la boue activée est donc intéressante puisqu'elle est en moyenne de 2,5 U.log.

En revanche, le traitement par disques biologique est moins efficace puisque l'abattement maximum observé est de 0,4 U.log et de 0,2 U.log en moyenne. Cependant nous n'avons pas tenu compte du traitement primaire en amont qui permettrait sans doute d'atteindre 0,7 U.log comme signalé dans l'introduction. Leur efficacité est donc certes inférieure à la boue activée mais ils restent intéressants pour les petites installations, au même titre que les lits bactériens, car ils ne demandent que peu d'entretien et de surveillance (contrairement à la boue activée dont l'équilibre est fragile pouvant conduire à des pertes de boues en cas de dysfonctionnements).

Un graphique récapitulatif Figure 39 compare l'efficacité des filières de traitement mesurée lors de cette étude par rapport à la littérature. Pour se placer au même niveau de traitement que les BRM dont le traitement secondaire fait partie intégrante du système, nous avons supposé qu'un traitement secondaire par boue activée permettant 2 U.log de rétention des virus est appliqué en amont de la désinfection (procédé le plus répandu en France). Nos mesures correspondent aux données de la littérature. Il apparaît que la filtration lente sur sable sur 2 à 4 m d'épaisseur permet de retenir autant de virus que le traitement par filtration membranaire (les taux de réduction des virus semblent proportionnels à l'épaisseur de sable) pour un coût beaucoup plus faible et une maintenance beaucoup plus simple. Cette méthode pourrait être facilement employée pour les installations de petite ou de moyenne taille disposant de sable en place ou d'espace suffisant. La méthode de détection par PCR ne nous a pas permis de vérifier l'efficacité des UV rapportée par la littérature, les taux d'abattement sur les virus sont d'ailleurs très variables selon le virus cible.

Contamination virale des coquillages

La contamination des effluents peut entraîner une contamination des eaux environnementales en virus entériques lors des périodes à risque. La principale crainte des autorités sanitaires est que les virus se concentrent dans les bivalves qui sont une des principales voies de contamination après le contact de personne à personne (cf. Figure 40 et 41). Leur faculté à filtrer de grandes quantités d'eau pour subvenir à leur besoins nutritifs (jusqu'à 13 L/h pour la moule), les exposent à un risque accru de contamination virale. Les virus les plus souvent impliqués dans les TIAC sont les Norovirus, cela est en parti expliqué par leur affinité particulière aux tissus de l'huître. Les différentes publications et le suivi des huîtres à Granville effectué par l'ARS 50 (cf. Figure 35) suggèrent que le temps nécessaire pour qu'une huître élimine les virus se situe grossièrement entre deux semaines et un mois et demi en fonction du virus, de la température de l'eau, de la charge polluante ou encore de la physiologie de l'huître (Le Guyader *et al*., 2008 ; Loisy *et al*., 2005 ; Dore *et al.*, 2010). Il est proposé pour purifier les huîtres contaminées de les placer dans des zones de reparquage littorales dont la qualité des eaux est sûre. Cependant cette approche pose problème dans la pratique, car il peut être difficile de trouver une zone dont la salubrité est réellement sûre et la mise à l'écart jusqu'à deux mois d'huîtres en âge d'être commercialisées entraîne de grosses pertes économiques pour les professionnels. Sans compter que la contamination virale n'est détectée qu'à la suite des premiers cas de GEA dans la population, ce qui est encore une fois préjudiciable aux conchyliculteurs et à l'image de leur activité qui fait l'objet d'une exportation importante. La meilleure solution consiste donc à prévenir la pollution par une maîtrise de rejets urbains en amont et par une surveillance accrue des zones conchylicoles. La meilleure compréhension des mécanismes en jeu à l'échelle de sites littoraux est donc primordiale.

Lors de cette étude nous nous sommes penchés sur trois sites littoraux Normands, en nous appuyant également sur le suivi des huîtres de Granville par l'ARS 50 de 2005 à 2010 afin d'apporter des éléments de réponse aux questions suivantes :

- ✓Les virus rejetés dans les effluents sont-ils retrouvés dans les coquillages en aval ?
- ✓Quels sont les virus les plus retrouvés dans les coquillages ?
- ✓Est-ce majoritairement NoV, impliqué dans les cas de TIAC, où y en a-t-il d'autres ?
- ✓Quel est le T90 des virus entérique dans les huîtres ?

Sur le site de Ver sur mer, la STEP rejette au milieu un effluent de très bonne qualité puisqu'il n'y a aucun virus détecté, les huîtres du parc conchylicole ne contiennent d'ailleurs aucun virus. Sur ce site, c'est le Paisty Vert qui est contaminé par des eaux brutes provenant de mauvais branchements (stagnation dans le marais). Son débit étant faible (environ 10 fois plus faible que la Provence) aucun virus n'est retrouvé au niveau du parc conchylicole. Sur le site de Pirou, l'effluent rejeté par la STEP est aussi de bonne qualité, néanmoins RV est à la fois retrouvé dans l'effluent et dans les moules, mais la proximité d'une colonie d'oiseaux le jour du prélèvement pourrait peut-être expliquer cette contamination. Sur le site de Granville, ce sont sans doute les rejets urbains diffus contaminant le Boscq lors du passage par la ville ou des rejets plus en amont qui sont à l'origine de la contamination virale des huîtres.

Dans les coquillages, étudiés nous n'avons retrouvé NoV que sur le site classé D de Granville, les huîtres avaient retenu NoV génogroupe 1 et 2 tandis que les moules ne contenaient que NoV GII ; SV a également était détecté uniquement sur ce site. En revanche, RV a été retrouvé dans les coquillages des trois sites mais à chaque fois à une concentration inférieure à la limite de quantification (considéré sur les figures comme égal à la LQ). Ce virus était également présent dans les eaux (eau de rivière ou effluent). AV a quant à lui été retrouvé sur le site de Ver sur mer et le site de Granville.

Le facteur de concentration des virus dans les sédiments ne peut pas être déterminé sur des échantillons ponctuels car la masse d'eau d'une rivière est hétérogène et en mouvement, il faut un suivi régulier. Madeline (2003) estime qu'en moyenne (suivi mensuel sur 2 ans) les sédiments de l'Orne seraient 400 fois plus concentrés que l'eau en Entérovirus. D'après nos mesures, la variété de virus concentrée dans les sédiments est plus importante que celle rencontrée pour les coquillages, ceci laisse à penser que les sédiments jouent un rôle d' « enregistreurs » plus important encore que les coquillages. A ce titre, les sédiments du site de Pirou mettent en évidence la quasi absence de contamination (appuyant l'hypothèse d'une contamination aviaire pour les moules).

S'agissant de temps nécessaire aux huîtres pour éliminer les virus, la cinétique de décroissance mesurée de janvier à avril 2009 par l'ARS 50 (cf. Figure 35) rejoint les estimations de la littérature soit un T90 d'environ 2 semaines et environ un mois et demi pour atteindre le bruit de fond. La concentration en NoV GII dans les huîtres semble corrélée aux pics de GEA notifiés (un peu moins pour AV), l'absorption des virus par les huîtres serait donc suffisamment rapide pour témoigner de cas de GEA dans la population. Et effectivement, Flannery *et al.* (2012), ayant placé des huîtres à proximité directe des effluents d'une STEP, observent une très bonne corrélation entre la concentration en NoV GII de l'effluent et des huîtres, avec des décalages de moins d'une semaine. De plus, le suivi de l'ARS 50 met en évidence trois pics dû à RV (avril 2006, décembre 2006 et avril 2008) sous-estimés par le réseau Sentinelles, tout comme pendant notre étude où RV a atteint un pic en avril (cf. Figure 6), ce qui a été vérifié par l'augmentation des concentrations de ce virus dans les eaux brutes et sa présence dans les coquillages. Les huîtres pourraient donc être utilisées comme sentinelles pour détecter et caractériser (ce que ne fait pas le réseau Sentinelles) les pics de GEA de façon plus sensible. Des casiers d'huîtres pourraient être placés en amont des zones conchylicoles sensibles et suivis régulièrement pour détecter les risques de contaminations virales avant l'apparition des premiers cas de GEA. Maintenant que les techniques de détection ont évolué vers un seuil de détection suffisamment faible et une approche quantitative, cette démarche est parfaitement envisageable. Une concentration inférieure à 100 copies/g de TD est probablement suffisamment faible pour ne pas provoquer de GEA d'après l'EFSA (2012) qui suggère que 200 copies de génome /g de tissus digestifs pourraient être le seuil limite acceptable pour les NoV.

Dans l'optique d'une protection des zones conchylicoles la note de service DGAL/SDSSA/N2011-8278 de décembre 2011 propose un protocole de gestion des zones exposées au risque NoV. Le protocole consiste à « mettre en place un dispositif de vigilance Norovirus afin d'acquérir des données quantitatives sur la contamination du milieu autour et durant la période à risque. Ce dispositif pourra permettre d'appréhender un 'niveau de base' de contamination dans les coquillages dans la zone sans lien connu avec des TIAC avérées et d'en tirer des éléments d'évaluation en cas d'incidents. ». Le test d'un tel dispositif se termine en ce moment au bassin de Thau et la Ria d'Etel (fin mai 2012), deux autres zones sont programmées et les résultats devraient être connus pour la fin 2012. La maîtrise de la contamination virale des zones conchylicoles est en marche.

Conclusions - Perspectives

- Lors de notre campagne de prélèvement de janvier à avril 2012 les concentrations en virus dans les eaux usées ont atteint jusqu'à $3{,}4 \times 10^7$ copies de génome /L. Astrovirus, Norovirus, Sapovirus et Rotavirus étaient présents dans les eaux brutes des dix stations d'épuration testées. Norovirus et Rotavirus semblent être les virus les plus intéressants à surveiller du fait de leur fréquence de détection et de leurs concentrations plus élevées que les autres virus dans les effluents finaux.
- Nous avons noté une augmentation notable de la concentration en Rotavirus dans les eaux brutes de janvier à avril qui concordait avec un pic épidémique à Rotavirus observé par les CHU de Caen et de Rouen mais non répertorié par le réseau Sentinelles (UPMC, Inserm).
- Le traitement biologique secondaire par boues activées à aération prolongée permet de retenir en moyenne 2 à 2,5 U.log de virus.
- Les disques biologiques associés au traitement primaire permettent une réduction des virus d'environ 0,7 U.log.
- Les bioréacteurs membranaires à plaques et à fibres creuses montrent une rétention des virus l'ordre de 4 à 6 U.log pour les deux types de membranes malgré la différence de seuil de coupure, sans doute grâce l'adsorption similaire sur la couche colmatante se formant sur les membranes.
- Les lagunes de finition en chapelet (au moins 5 bassins) avec 3 jours de temps de séjour permettent un abattement similaire aux lagunes rectangulaires « classiques » avec 30 jours de temps de séjour occupant 10 fois d'espace. L'abattement moyen pour les lagunes bien configurées est compris entre 1,5 et 3 U.log.
- Les filtres à sable d'au moins 2 m d'épaisseur permettent un abattement de 1,8 U.log et jusqu'à 3 U.log pour une épaisseur de 4 m. Associés à un traitement par boues activées à aération prolongée, leur efficacité de rétention vis-à-vis des virus est similaire à celle de la filtration membranaire.
- La désinfection photochimique des UV ne semble pas mesurable par la PCR, les dommages du génome sont certainement suffisants pour induire une inactivation du virus mais insuffisamment étendus pour qu'ils soient détectés par la PCR. D'après la bibliographie, son efficacité virulicide est très variable allant de 0,5 à 4 U.log d'abattement pour une dose de 20 à 35 mWs/cm^2.
- Les coquillages et les sédiments concentrent les virus (1 à 2 logs pour les coquillages et 2 à 3 logs pour les sédiments) semblent jouer un rôle d' « enregistreur », témoignant de contaminations antérieures.
- Les virus ne sont détectés dans la chair des coquillages qu'en cas de pic épidémique. Le T90 apparent chez les huîtres semble être de l'ordre de 1 à 2 semaines. En cas de contamination virale de l'ordre de 10^4 à 10^5 copies de génome / g de tissus digestifs, une période d'un mois et demi semble nécessaire pour atteindre une concentration inférieure au seuil de quantification de la technique.

- Les huîtres pourraient être utilisées pour compléter le système de surveillance en permettant de différencier les virus en cause dans les pics de GEA, en particulier ceux à Rotavirus dont l'impact semble sous-estimé par le réseau Sentinelles.
- Enfin, la détermination d'une corrélation entre virus à caractère infectieux ou non infectieux par PCR reste à ce jour un enjeu majeur pour faire de la PCR un outil efficient de l'évaluation du risque viral.

Liste des Figures

Figure 1 : Organisation des six Agences de l'Eau par bassins hydrographiques et secteurs de l'Agence de l'Eau Seine Normandie. (http://www.eau-seine-normandie.fr). 4 bis

Figure 2 : Chronologie des lois sur l'eau et des outils de gestion des eaux. ..... 4 bis

Figure 3 : Cycle de transmission des virus responsables de gastro-entérites. (Madeline, 2003, P. Pothier, CNR Dijon) ..... 6 bis

Figure 4 : Taux d'incidence des GEA en France entre décembre 2010 et juin 2012. (Sentiweb, INSERM, UPMC) ..... 6 bis

Figure 5 : Evolution du nombre de GEA ayant entraîné une consultation chez le médecin généraliste en Normandie. (InVS, Cire Normandie, 2012) ..... 6 bis

Figure 6: Nombre de selles positives à RV ou AdV (test rapide immunologique) dans les CHU de Caen (14) et de Rouen (76) de janvier à mai 2012. (CHU de Caen et de Rouen) ..... 6 bis

Figure 7 : Schéma des principales étapes nécessaires à la détection de virus entériques dans l'environnement. ..... 8 bis

Figure 8 : Culture en milieu liquide de cellules BGM infectées par Entérovirus (x400). (Madeline, 1999) 8 bis

Figure 9 : Schéma de principe des étapes de prétraitement des eaux usées et photo d'un tamis rotatif à mailles rondes. (http://geseaumar.e-monsite.com/pages/dossier/les-solutions-apportees.html) ..... 9 bis

Figure 10 : Schéma de principe du fonctionnement d'une filière à boues activées et bassin d'aération en fonctionnement. (Agences de l'Eau, 1998) ..... 9 bis

Figure 11 : Schéma de principe de la filière à disques biologiques et exemple d'une installation. (http://www.oieau.org et Cg29-DEE-SATEA, 2008) ..... 9 bis

Figure 12 : Schéma de principe d'une filière de traitement par lit bactérien et exemple d'un lit bactérien avec pouzzolane. (http://www.oieau.org et Cg29-DEE-SATEA, 2008) ..... 10 bis

Figure 13 : Schéma de principe du lagunage aéré et exemple de configuration pour la lagune d'aération. (Agences de l'Eau, 1979 et Cg29-DEE-SATEA, 2008) ..... 10 bis

Figure 14 : Schéma de principe d'un lagunage naturel complet. (www.univ-lehavre.fr) ..... 10 bis

Figure 15 : Schéma de principe d'un filtre planté à écoulement vertical et à écoulement horizontal. (AESN-CEMAGREF, 1998). ..... 10 bis

Figure 16:Vue en coupe d'un filtre à sable et alimentation d'un filtre à sable. (SATESE 29 et Agences de l'Eau, 1993) ..... 11 bis

Figure 17 : Illustration d'un BRM à fibres creuses et zoom sur un des modules ; module de BRM à plaques dans l'encadré. (Vinci Environnement, 2012 ; Communauté de Communes Coeur Côte Fleurie, STEP de Touques (14) ; OIEau) ..... 12 bis

Figure 18 : Exemple de configuration de lagunes de finition en chapelet (STEP de Granville). ..... 13 bis

Figure 19 : Situation géographique des STEP du littoral Normand étudiées de janvier à avril 2012. ..... 13 bis

Figure 20 : Situation géographique du site de prélèvement à la Pointe du Roc à Granville (50). ..... 15 bis

Figure 21 : Situation géographique du site de prélèvement à Pirou plage (50). ..... 15 bis

Figure 22 : Schéma de la situation géographique du site Z. ..... 15 bis

Figure 23 : Principes des méthodes de concentration et de détection CEERAM Tools utilisées par le LDA 50. ..... 16 bis

Figure 24 : Concentrations moyennes des valeurs positives mesurées et fréquences de détection dans les eaux brutes de 11 STEP du littoral Normand avec affinage microbiologique de janvier à avril 2012..... ..... 17 bis

Figure 25: Evolution de la concentration en virus entériques dans les eaux brutes de 11 STEP du littoral Normand..... 17 bis

Figure 26 : Concentrations moyennes des valeurs positives mesurées et fréquences de détection dans les effluents finaux de 11 STEP du littoral Normand avec affinage microbiologique de janvier à avril 2012..... 17 bis

Figure 27 : Efficacité des installations avec boue activée à aération prolongée testées. ..... 18 bis

Figure 28 : Efficacité des filtres à sable et du filtre planté de roseaux. Colleville : filtre à sable de Loire 2 m ; Agon : filtre à sable dunaire 3 à 6 m ; Dozulé : FPR ..... 18 bis

Figure 29 : Efficacité des lagunages de finition. Honfleur et Granville : lagunage en chapelet avec bassins effilés (TS = 3 jours); Pirou : lagunage avec bassins rectangulaires (TS = 30 jours). ..... 18 bis

Figure 30 : Efficacité des bioréacteurs membranaires (l'étape de traitement biologique par boues activées fait partie intégrante du système). Bleu :BRM à plaques; Orange : BRM à fibres creuses. : moyenne de deux échantillons..... 19 bis

Figure 31 : Contamination du site de Granville à la Pointe du Roc (14). TD : tissu digestif, CLI : chair et liquide intervalvaire. ..... 19 bis

Figure 32 : Contamination en NoV GI, NoV GII et RV des huîtres à la Pointe du Roc à Granville (14) de septembre 2005 à avril 2010. (ARS 50)..... 20 bis

Figure 33 : Nombre de cas de GEA recensés en Basse Normandie de septembre 2005 à avril 2010. (Sentiweb) ..... 20 bis

Figure 34 : Contamination en Astrovirus et Adénovirus des huîtres à la Pointe du Roc à Granville (14) de septembre 2005 à avril 2010. (ARS 50)..... 20 bis

Figure 35 : Suivi de l'élimination de Norovirus GII et Astrovirus dans les huîtres de la Pointe du Roc à Granville..... 21 bis

Figure 36 : Contaminations du site Z. ..... 21 bis

Figure 37 : Evolution hebdomadaire du nombre de prélèvements positifs aux virus entériques, Laboratoire de virologie du CHU de Rennes, tous âges confondus. (Invs, 2012)..... 23 bis

Figure 38 : Concentrations moyennes des virus entériques en entrée et en sortie des onze STEP de janvier à avril 2012. ..... 24 bis

Figure 39 : Efficacités moyennes des onze stations d'épurations du littoral Normand (mesurées par qRT-PCR) comparées à l'efficacité mesurée dans la bibliographie présentée en introduction (toutes méthodes de mesures confondues cf. 1.4). ..... 27 bis

Figure 40 : Détail des types d'aliments responsables des infections à Calicivirus d'origine alimentaire en Europe entre 2009-2010 (EFSA, 2012 a)..... 27 bis

Figure 41 : Répartition des modes de transmission des gastroentérites à NoV en Europe de 2001 à 2006. (Kroneman *et al., 2008*) ..... 27 bis

Liste des Tableaux

Tableau 1: Récapitulatif des caractéristiques des virus entériques (AFSSA, 2007 ; de Benedictis *et al.*, 2011 ;Reuter *et al.*, 2011 ; BEH n°38, 2010)..... 5 bis

Tableau 2: Taux d'abattements observés pour des lagunages naturels. ..... 10 bis

Tableau 3: Traitements de chloration appliqués sur des effluents secondaire et taux d'abattement de différents virus mesurés par culture cellulaire. ..... 11 bis

Tableau 4 : Taux d'abattement de différents virus après traitement d'ozonation (mesurés par culture cellulaire). ..... 12 bis

Tableau 5 : Doses UV appliquées sur des effluents secondaire et taux d'abattement des différents virus (mesurés par culture cellulaire). ..... 12 bis

Tableau 6 : Taux d'abattement totaux observés pour les deux types de BRM (Bioréacteurs membranaires). ... . 12 bis

Tableau 7 : Récapitulatif des abattements des virus dans les lagunes de finition du littoral Normand. (Suivis AESN 2007-2010)..... 13 bis

Tableau 8 : Caractéristiques des installations extensives choisies pour cette étude. ..... 14 bis

Tableau 9 : Caractéristiques des installations intensives choisies pour cette étude..... 14 bis

Tableau 10 : Contamination du site de Pirou plage. TD : tissus digestifs ; CLI : chair et liquide intervalvaire ..... 21 bis

Sommaire annexes

Annexe 1 : Présentation détaillée des virus entériques du milieu hydrique....35
- Les Norovirus (NoV)....35
- Sapovirus (SaV)....35
- Rotavirus (RV)....35
- Astrovirus (AV)....36
- Adénovirus (AdV)....36
- Entérovirus (EV)....36
- Aïchi virus (AiV)....37
- Virus de l'hépatite A (VHA)....37
- Virus de l'hépatite E (VHE)....37

Annexe 2 : Classement sanitaire des coquillages....39

Annexe 3 : Méthodes de concentration et de détection des virus dans l'eau, les coquillages et les sédiments....40
- Détail des méthodes de concentration....40
- Les méthodes de détection....41

Annexe 4 : Avantages et inconvénients des filières de traitement....43
- Les filières de traitement extensives....43
- Les filières de traitement intensives....44

Annexe 5 : Caractéristiques des Bioréacteurs membranaires distribués en France....45

Annexe 1 : Présentation détaillée des virus entériques du milieu hydrique

- Les Norovirus (NoV)

Famille : *Caliciviridae*
Genre : *Norovirus*
Génogroupes « humains » : GI et GII

Le Norovirus (NoV) est un virion de 30 à 34 nm de diamètre représenté Figure. Il possède une capside de symétrie icosaédrique formée de 90 dimères de la protéine VP1.Une de ces caractéristiques est sa grande variabilité génétique. Son génome est composé d'un ARN de 7,7 kilobases (ou kb, les bases composants les acides nucléiques).La période d'incubation va de 24 à 48 heures et les symptômes disparaissent souvent spontanément au bout de 2 à 3 jours.Une gastroentérite à NoV est caractérisée par d'importants vomissements. La dose infectieuse (DI) précise n'est pas connue, mais on estime que celle-ci est d'environ 10 particules virales. L'excrétion fécale est importante, allant de 10^7 à 10^{10} particules virale/g de selles pendant environ 7 à 10 jours. Les NoV sont la principale cause de gastro-entérites aigües (GEA) non bactérienne dans le monde, tous âges confondus. Les CDC (Centers for Disease Control) estiment que 23 millions de personnes à travers le monde sont touchées chaque année par une gastro-entérite à Norovirus, ce chiffre est d'ailleurs certainement bien en-deçà de la réalité car toutes les personnes ne vont pas consulter et les pays émergents qui ne réalisent pas de diagnostic. Les taux de prévalence dans la population (personnes ayant déjà étaient en contact avec ce virus) vont de 11 % (Pays-Bas) à 20% (France, Finlande, Japon, Etats-Unis). Pour le moment, aucun cas de zoonose n'a été recensé, mais cette possibilité n'est pas exclue du fait de la forte variabilité génétique de ce virus et de la proximité génétique des génotypes. La sensibilité des personnes à NoV va aussi dépendre de leur groupe sanguin, plus précisément les carbohydrates des antigènes des groupes sanguins. Et chaque souche aura une affinité différente pour ces antigènes.

- Sapovirus (SaV)

Famille : *Caliciviridae*
Genre : Sapovirus
Génogroupes « humain » : GI à GV sauf GIII (souche porcine)

La composition de sa capside (protéines VP1) et sa taille sont identique à NoV, seule la forme en Etoile de David les différencie. Son génome est aussi un ARN de 7,7 kb.A la différence de NoV, Sapovirus (SaV) va principalement être responsable de GEA chez les jeunes enfants (<3 ans) et les personnes âgées. Les épidémies ayant lieu dans des « communautés » (crèches, écoles maternelles, maisons de retraite), la voie de contamination privilégiée sera les mains. La prévalence dans les pays varie de 0,3 % à 9 %. A priori, il n'existe pas de risques de zoonose, la souche GIII infectant le porc est supposée trop éloignée génétiquement pour présenter un risque. Contrairement à NoV où l'acquisition des anticorps ne permet pas une bonne immunité en raison de la grande variabilité génétique, les anticorps acquis contre SaV dans l'enfance semblent plus efficaces aux vues du faible nombre d'épidémies reportées.

- Rotavirus (RV)

Famille : *Reoviridae*
Genre : Rotavirus
Génogroupe « humain » : A

Les Rotavirus humains (HumanRotavirus, HRV) ont un diamètre d'environ 70 nm et sont constitués d'une triple capside (à troiscouches), c'est leur morphologie en forme de roue qui leur a valu leur nom. Leur génome est constitué de 11 segments d'ARN double brin codant pour 12 protéines au total. La DI est10 et 100particules virales. L'excrétion virale est importante, elle est estimée à 10^{11} particules virales/g de selles et le virus est éliminé de l'organisme spontanément au bout de 5 à 12 jours. La période d'incubation est quant à elle de 3 jours en moyenne. Les HRV sont les premiers agents responsables de GEA chez l'enfant, entraînant de nombreuses hospitalisations

avec des risques de mortalité élevés (responsables de plus de 50 % des gastroentérites hospitalisées). Cependant, la majorité des infections après 2 ans sont asymptomatiques excepté chez les personnes immunodéprimées.Les zoonoses sont possibles car la barrière inter-espèces est fragile.Il existe deux vaccins sur le marché (GlaxoSmithKline et Pasteur) efficaces pour prévenir les diarrhées sévères.

- Astrovirus (AV)

Famille : *Astroviridae*
Genre : *Astrovirus*
Sérogroupes "humains":1 à 8

Les Astrovirus (AV) possèdent une capside de forme icosaédrique d'un diamètre compris entre 28 et 30 nm.Il y aurait 3 à 4 protéines structurales pour les souches humaines. Le génome est constitué d'un ARN mono-brin de 6,8 kb. La période d'incubation va de 1 à 4 jours, ce virus va principalement infecter les jeunes enfants et les personnes âgées, comme le RV. Les signes cliniques sont caractérisés par une diarrhée aqueuse durant 2 à 3 jours sans symptômes digestifs (pas de vomissements, crampes abdominales,...). La DI n'est pas connue. La fréquence d'infection à AV varie de 2,5 % à 9 %. Les AV sont retrouvés chez de nombreuses espèces animales (chats, chiens, veaux, chevreuil,...) mais les infections à AV sont spécifiques d'espèces, il n'y aurait pas possibilité de transmission à l'homme. Une immunité naturelle est acquise chez 50 % des enfants de 5 à 12 mois pour le sérotype 1, le plus souvent rencontré.

- Adénovirus (AdV)

Famille : *Adenoviridae*
Genre : *Mastadenovirus*
Sérotypes "humains": 40 et 41

Il existe 6 espèces d'Adénovirus (AdV) classés de A à F, les sérotypes 40 et 41 sont regroupés au sein de l'espèce F. Ils ont, contrairement aux autres virus présentés ici, un génome à ADN. Celui-ci est à double brin et linéaire de 35,9 kb. Sa capside est de forme icosaédrique, d'un diamètre allant de 70 à 90 nm. La période d'incubation va de 3 à 10 jours. Les manifestations cliniques durent généralement une dizaine de jours (10 à 12 jours). La dose infectieuse n'est pas connue. La particularité de l'infection par ce virus est qu'il y a des symptômes respiratoires associés dans 20 % des cas. Les épidémies ont lieu en particulier au sein des collectivités où la transmission se fait via les mains sales. Les sérotypes 40 et 41 sont le 3ème agent responsable de diarrhées infantiles après les RV. Aussi, il n'est pas étonnant d'observer que 50 % des enfants âgés de moins de 4 ans ont des anticorps contre AdV 40 et 41. Cette immunité les protège une fois adultes. Aucun cas de zoonose n'a été reporté, les sérotypes 40 et 41 sont exclusivement humains.

- Entérovirus (EV)

Famille : *Picornaviridae*
Genre : *Enterovirus*
Génogroupes"humains" : A à D

Les Entérovirus (EV) humains comptent 5 espèceset au moins 64 sérotypes.Ils sont classés en 4 génogroupes (A, B, C et D). Ce sont des virus d'un diamètre allant de 24 à 30 nm. Leur capside est formée de 60 capsomères chacun composés de 4 protéines structurales VP1, VP2, VP3 et VP4. Leur génome est constitué d'un ARN simple brin de 7,5 kb. Poliovirus fait également parti de ce genre,il est utilisé comme modèle car mieux connu que les autres souches mais ne conduit pas à des symptômes de gastroentérite aigüe (agent responsable de la poliomyélite). Les Entérovirus entraînent des symptômes divers comme des méningites, des infections généralisées, des atteintes respiratoires et cardiaques, dont des syndromes gastro-intestinaux. Mais dans 95 % des cas une infection à Entérovirus est asymptomatique. La période d'incubation est d'environ 1 semaine et le virus est excrété dans les selles pendant 4 à 6 semaines. La DI50, c'est à dire la dose induisant une

infection chez 50 % des personnes, correspondrait à 1000 particules virales. Un potentiel zoonotique n'est pas à exclure.

- Aïchi virus (AiV)

Famille : *Picornaviridae*
Genre : *Kobuvirus*
Génogroupe : un seul connu

Le virus Aïchi possède une capside de forme icosaédrique d'un diamètre de 30 nm. Un seul sérogroupe infectant les hommes est recensé pour le moment. Son génome est composé d'un ARN simple brin de polarité positive de 8,3 kb. Celui-ci code pour trois protéines de structure : VP0, VP1 et VP3.La séroprévalence, mesurée dans plusieurs pays européens (Allemagne, Espagne, France) et au Japon, est de 80 à 95 % pour les tranches d'âge de 30-40 ans. Mais cette immunité ne serait pas principalement acquise dans l'enfance puisque en France 25 % des enfants âgés de 7 mois à 9 ans sont immunisés. Cependant, lors de cas de gastroentéritesen France, ce virus n'a été détecté dans les selles des patients que dans 0,9 % à 2,2 % des cas. La séroprévalence élevée tranche avec la faible présence de ce virus dans les selles, Reuter *et al*. (2011) suggèrent pour répondre à ce paradoxe que ce virus serait ubiquitaire mais généralement asymptomatique. La dose infectieuse n'a pas pu être déterminée jusqu'ici.

- Virus de l'hépatite A (VHA)

Famille : *Picornaviridae*
Genre : *Hepatovirus*
Génogroupe "humain" : 90 % des souches GI et 10 % des souches GIII

Le virus de l'Hépatite A possède une capside de 28 à 30 nm de diamètre, formée de 60 capsomères composés chacun de 4 protéines. Son génome est un ARN mono brin linéaire de 7,5 kb. Ce virus est l'agent responsable de l'hépatite A, une infection aigüe le plus souvent bénigne qui évolue vers la guérison dans 95 % des cas. L'infection chez les enfants de moins de 5 ans sera généralement asymptomatique, alors qu'elle sera symptomatique dans 70 à 80 % des cas chez l'adulte. Le délai d'incubation est d'environ 1 mois. La séroprévalence peut aller jusqu'à 100 % dans les pays en voie de développement où les enfants sont exposés très tôt, mais celle-ci chute dans les pays industrialisés comme cela est illustré Figure. L'incidence en France en 2003 n'était que de 0,13 ‰. La DI est estimée entre 10 et 100 particules virales. Un vaccin existe, s'adressant aux personnes à risques tels les personnels de soins et les voyageurs. En effet, ce virus se transmet non seulement par voie féco-orale mais aussi par voie parentérale. Seul le singe peut aussi être porteur, mais l'homme serait peu réceptif à ces souches.

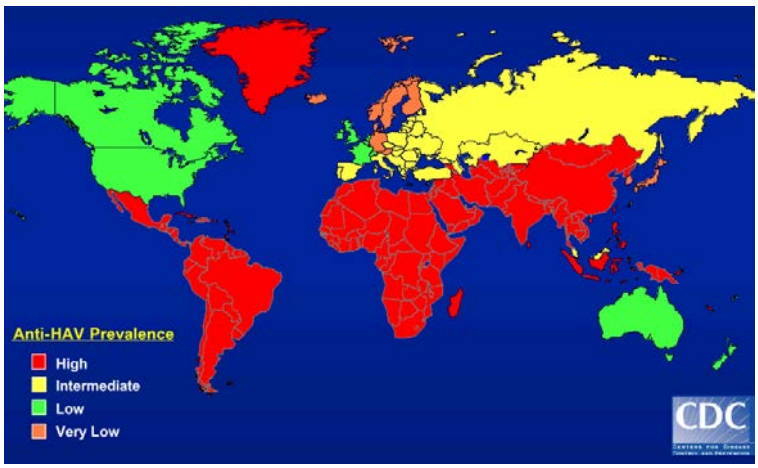


Figure 1: Répartition mondiale de la séroprévalence du virus de l'hépatite A. (CDC**)**

- Virus de l'hépatite E (VHE)

Famille : *Hepeviridae*
Genre : *Hepevirus*
Génogroupes « humains » : 1 à 9

Le virus de l'hépatite E est un virus sphérique d'un diamètre compris entre 27 et 33 nm. Son génome est un ARN mono brin d'environ 7,2 kb. Il existe 9 génotypes dont 4 majeurs. La période

d'incubation est estimée à 40 jours donnant lieu alors à une infection aigüe bénigne. Les femmes enceintes sont plus souvent sujettes aux formes sévères (40 % des cas évoluent en hépatite fulminante). Comme dans le cas du VHA, la séroprévalence est liée au statut socio-économique, elle varie de 10 à 50 % selon les pays, mais elle n'est que de 1 à 5 % dans les pays industrialisés. Il est démontré que l'hépatite E est une zoonose, le réservoir naturel de ce virus est constitué par de nombreuses espèces sauvages et domestiquées (notamment via le porc et la consommation de sa viande crue ou mal cuite). La dose infectieuse a été estimée à environ 100 particules virales.

Annexe 2 : Classement sanitaire des coquillages

Le rôle de sentinelle qu'ont les bivalves filtreurs (concentration des germes fécaux présents dans l'eau) va être exploité pour établir le classement des zones de production en différentes classes de salubrité présentées Figure. Les paramètres pris en compte seront la concentration en *Escherichia coli* mesurée pour 100g de chair et de liquide intervalvaire (ou CLI), et les concentrations en polluants chimiques. La commercialisation des mollusques quant à elle est régie par le règlement européen CE/854/2004 (abrogeant la directive 91/492 de 1991). C'est le REMI, réseau de surveillance microbiologique créé en 1989, qui a la charge de surveiller les zones de production de coquillages exploitées par les professionnels, permettant ainsi de détecter et suivre les épisodes de contamination microbiologique.

Le REMI est organisé en deux volets : la surveillance régulière et la surveillance en cas d'alerte. Pour le suivi régulier, des échantillons sont prélevés de façon mensuelle, bimestrielle ou ponctuelle si c'est une exploitation saisonnière. C'est grâce au traitement des données acquises sur les 10 dernières années qu'il est possible de suivre l'évolution des niveaux de contamination et de classer les zones comme A, B, C ou D. C'est également un outil pour les décideurs locaux qui souhaitent s'investir dans la reconquête de la qualité de leurs eaux côtières. Les situations d'alerte sont déclenchées par des événements facteurs de risques ou lorsqu'une contamination est détectée. Le seuil microbiologique déclenchant une surveillance renforcée est défini pour chaque classe de qualité : classe A →230 (depuis mars 2012) *Escherichia coli* /100 g de CLI ; classe B → 4 600 *Escherichia coli* /100 g de CLI ; classe C → 46 000 *Escherichia coli* /100 g de CLI. Les coquillages sont alors retirés des étals et la vente est interdite pendant le temps nécessaire jugé par les autorités. En France, le délai retenu pour la purification des coquillages de classe B en bassins est d'environ 48 h (parfois plus si nécessaire), les mollusques de classe C sont placés dans des zones de qualité suffisante pendant au moins 2 mois (Le Saux & Pommepuy, 2003).

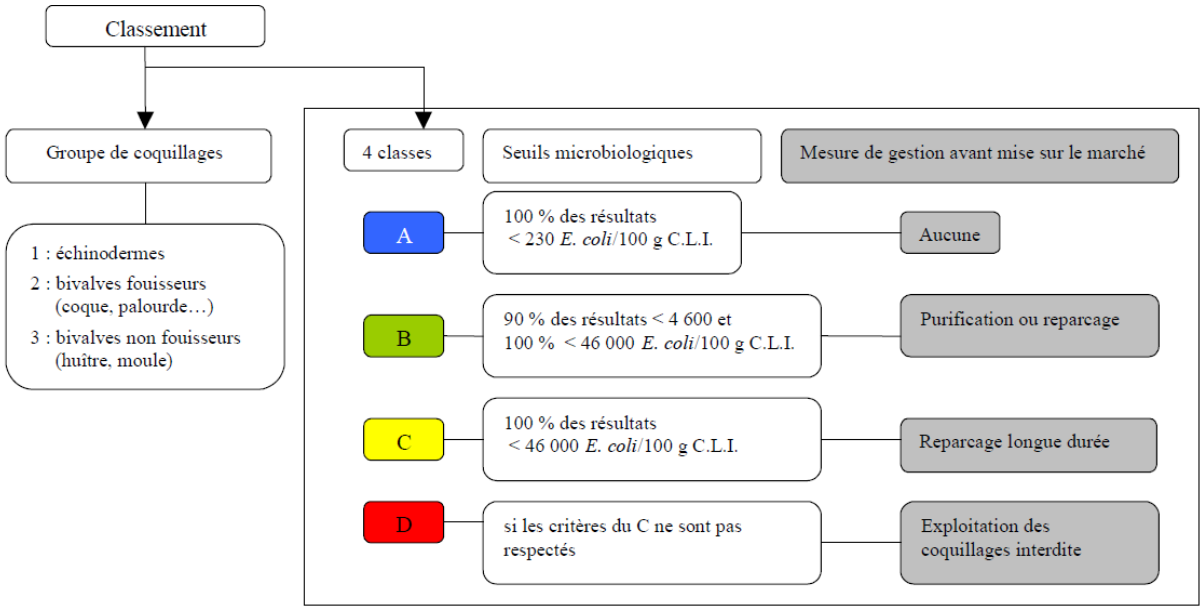


Figure 2 : Exigences réglementaires microbiologique de classement des zones. (Ifremer, 2011)

Annexe 3 : Méthodes de concentration et de détection des virus dans l'eau, les coquillages et les sédiments

- Détail des méthodes de concentration

Rappelons que les virus sont considérés comme chargés négativement à pH alcalin (pH 9-9,5) et chargés positivement à pH acide (pH 4). Les techniques de concentration d'eau exploitent ce phénomène en utilisant des supports attirant les virus en fonction de leur charge électrostatique. Les étapes de concentration sont résumées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Concentration primaire d'échantillons d'eau (AFSSA, 2007).

Etapes de concentration d'échantillons d'eau	Méthodes utilisées
Adsorption sur support (concentration primaire)	Cartouche ou ampoule contenant de la poudre de verre borosilicaté Verre borosilicaté Laine de verre sodo-calcique ensimée Filtres microporeux chargés négativement ou positivement (nylon ou cellulose)
Elution des virus (détachement du support)	Tampon glycine, borate ou phosphate à pH alcalin Extrait de bœuf à pH alcalin
Concentration secondaire	Précipitation des protéines Ultracentrifugation avec du PEG 6000 ou PEG 6000/NaCl Ultrafiltration Ultracentrifugation
Récupération du rétentat ou du culot	Mise en suspension dans tampon phosphate, glycine, PBS,…

En verre : supports chargés positivement→ échantillon à pH alcalin
En rouge : supports chargés négativement→ échantillon à pH acide
En bleu : support polyvalent →pas de tamponnage nécessaire de l'échantillon

Les méthodes de concentration des virus dans les coquillages et les sédiments comportent moins d'étapes :

- Elution :
  - Tampon glycine
  - Chloroforme/butanol
  - Cat floc
  - Extrait de bœuf

  } Répétition possible de cette étape en associant les produits

- Concentration :
  - Ultracentrifugation
  - Précipitation au PEG

  } Répétition possible de cette étape en associant les méthodes

Mais le principal problème posé est la concentration conjointe des inhibiteurs de PCR ou des molécules cytotoxiques dans les échantillons.

Les principaux inhibiteurs rencontrés dans les eaux sont l'urée, les matières organiques, les acides humiques et les ions. Dans les coquillages, les principaux inhibiteurs sont les polysaccharides et le glycogène (graisse). Tandis que dans les sédiments les inhibiteurs rencontrés seront principalement des acides phénoliques ou humiques. Des résidus de protéines provenant de la capside peuvent également subsister et gêner l'analyse de la PCR, leur élimination est nécessaire. Les méthodes et les réactifs nécessaires à l'élimination des inhibiteurs sont présentés Tableau 2. Un schéma de principe de la concentration des acides nucléiques par les billes de silice est présenté Figure 2.

Tableau 2 : Principales méthodes de décontamination utilisées et leur principe d'action. (AFSSA, 2007)

Méthodes de décontamination	Action visée
Immunocapture des virus Hybridation des ARN sur billes magnétiques recouvertes de silice	Sélection spécifique des virus
CTAB (cétyltriméthylammoniumbromide) Pro Cipitate	Elimination du glycogène et des polysaccharides
Phénol-chloroforme-isoamylique PEG Acide trichloroacétique 5% à chaud	Elimination des protéines
Chromatographie d'exclusion (Sephadex) Résine échangeuse d'ion (Chelex)	Elimination des ions et des acides humiques
Ultrafiltration Ultracentrifugation	Elimination des inhibiteurs de poids moléculaire supérieur à celui des virus
Glycérol DMSO (DuméthylSulfoxide) Protéine T4gene32 BSA (Bovine serum albumine)	Annulation/diminution de l'effet de la molécule inhibitrice

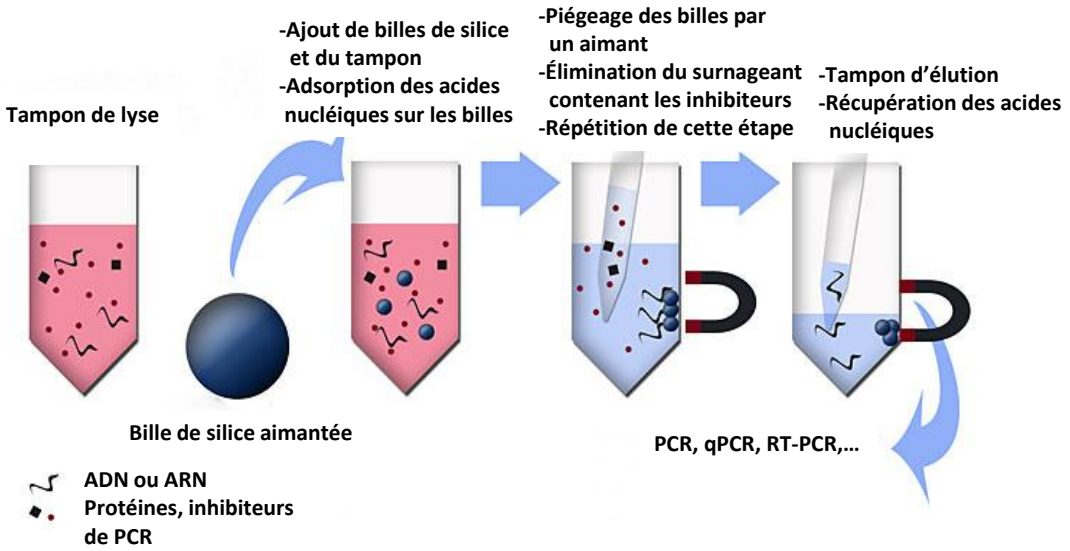


Figure 3 : Schéma de principe de la capture des acides nucléiques par des billes de silice. (www.abo.com.pl**)**

- Les méthodes de détection

➢ *Méthodes de détection indirectes : les bactériophages*

Les bactériophages indicateurs peuvent être une aide à la prise de décision dans le cadre d'un suivi de la contamination virale, à condition de connaître les caractéristiques de chaque famille de phages. Les avantages et inconvénients de l'utilisation des trois familles de phages les plus étudiées sont présentées dans le Tableau 3.

A noter que l'intérêt d'une nouvelle famille de phages est à l'étude, les entérophages, en référence à leur hôte bactérien *Enterococcus Faecalis*. Ils présentent l'avantage de discriminer de façon efficace les différentes origines de contamination fécale (Bonilla *et al.*, 2010 ; Purnell *et al.*, 2011),. Cependant, ils sont en faible concentration dans les eaux usées urbaines (17 à 774 PFU/100 mL d'après *Santiago* et al. (2010)) et à fortiori dans les effluents des stations d'épuration. Un autre frein est leur faible persistance dans l'environnement. En effet d'après l'étude de Santiago *et al.* (2010), leur concentration chute de 3 log en 6 jours et 11 jours respectivement dans l'eau douce et

dans l'eau de mer, soit deux fois plus que la concentration en coliphages somatiques. Reste donc à savoir s'ils pourraient être un bon indicateur de la présence de virus d'origine fécale, ce qui semble peu probable étant donné leur piètre résistance dans l'eau.

Tableau 3 : Résumé des avantages et inconvénients des trois familles de bactériophages retenues comme indicateurs de contamination virale d'origine fécale (AFSSA, 2007)

Indicateurs phagiques	Classification Génome	Avantages	Inconvénients
Coliphages somatiques	Familles *: Myoviridae, Siphoviridae, Podoviridae* et *Microviridae* Génome : ADN double brin	-rapidement et facilement dénombrables -corrélation avec indicateurs bactériens en eau de mer et en eau douce -grande persistance dans l'eau marine (> à celle des phages ARN-F) -indicateurs de la présence d'Entérovirus en eau de mer	-possibilité de multiplication -mauvais indicateurs dans les sédiments car moindre persistance qu'Entérovirus et Rotavirus -plus sensibles aux traitements que les indicateurs bactériens -ne sont pas le reflet d'une contamination fécale exclusivement humaine
Phages ARN-F spécifiques (dont phage MS2)	Familles : *Leviviridae* et *Inoviridae* Génome : ARN simple brin et ADN simple brin	-bon indicateur de contamination par Entérovirus dans les eaux douces -grande persistance dans l'eau douce par rapport aux autres indicateurs -possibilité de discrimination de l'origine (humaine ou animale) via le génogroupe -multiplication dans l'environnement quasi improbable (nécessité d'une température optimale de 30°C pour l'infection des bactéries) -phage MS2 est un bon indicateur des traitements de rétention et de traitements biocides	-mauvais indicateur de contamination par Entérovirus dans les eaux usées corrélation incertaine avec les indicateurs de contamination fécale (virale et bactérienne) dans l'eau de rivière et dans l'eau de mer -aucune corrélation avec la présence de génome de virus entérique dans les coquillages -les phages MS2 « autochtones » sont plus résistants aux traitements que ceux ajoutés lors des tests (2 à 3 log de différence)
Phages de *B.fragilis*	Famille : *Siphoviridae* Génome : ADN double brin	-excellente résistance dans les sédiments -pas de multiplication dans l'environnement -témoin de contamination fécale d'origine humaine	-faible persistance dans le milieu hydrique -difficile à cultiver -faible concentration dans l'environnement

Annexe 4 : Avantages et inconvénients des filières de traitement

- Les filières de traitement extensives

Tableau 4 : Récapitulatif des avantages et inconvénients des filières extensives. (Commission européenne, 2001)

Filière	Avantages	Inconvénients
Infiltration-percolation sur sable	• Excellents résultats sur la DBO_5, la DCO, les MES et nitrification poussée ; • Superficie nécessaire bien moindre que pour un lagunage naturel ; • Capacité de décontamination intéressante.	• Nécessité d'un ouvrage de décantation primaire efficace ; • Risque de colmatage à gérer ; • Nécessité d'avoir à disposition de grandes quantités de sables ; • Adaptation limitée aux surcharges hydrauliques.
Filtres plantés à écoulement vertical	• Facilité et faible coût d'exploitation. Aucune consommation énergétique si la topographie le permet ; • Traitement des eaux usées domestiques brutes ; • Gestion réduite au minimum des dépôts organiques retenus sur les filtres du 1er étage ; • Bonne adaptation aux variations saisonnières de population.	• Exploitation régulière, faucardage annuel de la partie aérienne des roseaux, désherbage manuel avant la prédominance des roseaux ; • Utiliser cette filière pour des capacités supérieures à 2 000 EH reste très délicat pour des questions de maîtrise de l'hydraulique et de coût par rapport aux filières classiques ; • Risque de présence d'insectes ou de rongeurs ;
Filtres plantés de roseaux à écoulement horizontal	• Faible consommation énergétique ; • Pas de nuisance sonore et bonne intégration paysagère ; • Aucune nécessité d'une qualification poussée pour l'entretien ; • Bonne réaction aux variations de charge.	• Forte emprise au sol, abords compris. Celle-ci est de l'ordre de 10 m²/EH (équivalente à l'emprise d'une lagune naturelle). • Une installation pour des tailles de 2000 à 15 000 EH peut s'envisager sous réserve d'une réflexion poussée des conditions d'adaptation des bases de dimensionnement et de l'assurance de la maîtrise de l'hydraulique
Lagunage naturel	• Un apport d'énergie n'est pas nécessaire si le dénivelé est favorable ; • L'exploitation reste légère mais, si le curage global n'est pas réalisé à temps, les performances de la lagune chutent très sensiblement ; • Elimine une grande partie des nutriments : phosphore et azote (en été). • Faibles rejets et bonne élimination des germes pathogènes en été ; • S'adapte bien aux fortes variations de charge hydraulique ; • Pas de construction "en dur", génie civil simple ; • Bonne intégration paysagère ; • Bon outil pour l'initiation à la nature ; • Absence de nuisance sonore ; • Les boues de curage sont bien stabilisée sauf celles présentes en tête du premier bassin.	• Forte emprise au sol (10 à 15 m²/EH) ; • Coût d'investissement très dépendant de la nature du sous-sol. Dans un terrain sableux ou instable, il est préférable de ne pas se tourner vers ce type de lagune ; • Performances moindres que les procédés intensifs sur la matière organique. Cependant, le rejet de matière organique s'effectue sous forme d'algues, ce qui est moins néfaste qu'une matière organique dissoute pour l'oxygénation du milieu en aval ; • Qualité du rejet variable selon les saisons ; • La maîtrise de l'équilibre biologique et des processus épuratoires reste limitée.
Lagunage aéré	• Tolérant aux variation de charges hydrauliques et/ou organiques importantes ; • Tolérant aux effluents très concentrés ; • Tolérant aux effluents déséquilibrés en nutriments (cause de foisonnement filamenteux en boues activées) ; • Traitement conjoints d'effluents domestiques et industriels biodégradables. • Bonne intégration paysagère ; • Boues stabilisées.	• Rejet d'une qualité moyenne sur tous les paramètres ; • Présence de matériels électromécaniques nécessitant l'entretien par un agent spécialisé ; • Nuisances sonores liées à la présence de système d'aération ; • Forte consommation énergétique.

- Les filières de traitement intensives

Tableau 5 : Récapitulatif des avantages et inconvénients des filières intensives. (Commission européenne, 2001)

Filière	Avantages	Inconvénients
Lit bactérien et disque biologique	• faible consommation d'énergie ; • fonctionnement simple demandant moins d'entretien et de contrôle que la technique des boues activées ; • bonne décantabilité des boues ; • plus faible sensibilité aux variations de charge et aux toxiques que les boues activées ; • généralement adaptés pour les petites collectivités ; • résistance au froid (les disques sont toujours protégés par des capots ou par un petit bâtiment).	• performances généralement plus faibles qu'une technique par boues activées. Cela tient en grande partie aux pratiques anciennes de conception. Un dimensionnement plus réaliste doit permettre d'atteindre des qualités d'eau traitée satisfaisantes ; • coûts d'investissement assez élevés (peuvent être supérieurs d'environ 20 % par rapport à une boue activée) ; • nécessité de prétraitements efficaces ; • sensibilité au colmatage ; • ouvrages de taille importante si des objectifs d'élimination de l'azote sont imposés.
Boue activée	• adaptée pour toute taille de collectivité (sauf les très petites) ; • bonne élimination de l'ensemble des paramètres de pollution (MES, DCO, DBO_5, N par nitrification et dénitrification) ; • adapté pour la protection de milieux récepteurs sensibles ; • boues (cf. glossaire) légèrement stabilisées ; • facilité de mise en œuvre d'une déphosphatation simultanée.	• coûts d'investissement assez importants ; • consommation énergétique importante ; • nécessité de personnel qualifié et d'une surveillance régulière ; • sensibilité aux surcharges hydrauliques ; • décantabilité des boues pas toujours aisée à maîtriser ; • forte production de boues qu'il faut concentrer.

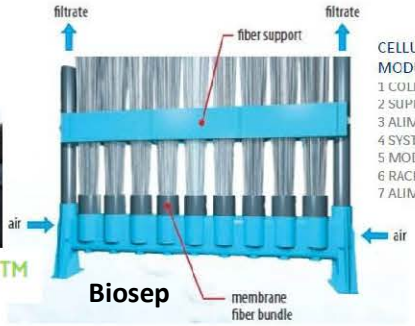
Tableau 6 : Récapitulatif des avantages et inconvénients des traitements de désinfection intensifs.

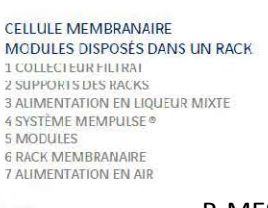
Procédé de désinfection	Avantages	Inconvénients
Bioréacteurs membranaires (BRM)	-très bonne efficacité de désinfection -rétention des MES -meilleur contrôle de l'âge des boues -très compact -pas de sous-produits toxiques -modulable à des STEP de 3000 à plus de 200 000 EH	-coût d'investissement et de fonctionnement très élevé -risque d'usure prématurée des membranes -haute technicité du matériel -utilisation d'acide et de javel pour les rétrolavages
Ozonation	-très bonne efficacité de désinfection -gaz produit sur place ne nécessite pas d'achat de réactif -dégradation des micropolluants	-production de sous-produits toxiques (ozonides, bromates, aldéhydes,…) -nécessité d'une filtration sur sable en amont -coûts d'investissement et de fonctionnement très élevés -emprise foncière conséquente
Chloration	-efficacité de désinfection moyenne à bonne -faible coût d'investissement et d'entretien -nécessite peu d'espace	-production de sous-produits toxiques (chloramines et organochlorés) -efficacité sur virus et sur kystes de protozoaires faible -achat régulier de réactif
UV	-bonne efficacité de désinfection -coût plus faible que les BRM ou l'ozone	-production possible de perturbateurs endocriniens -phénomènes de reviviscence -nécessité de changer les lampes une fois par an

Annexe 5 : Caractéristiques des Bioréacteurs membranaires distribués en France

Nom du procédé	Distributeur	Fabricant	Type de membrane	Porosité nominale (µm)	Porosité absolue (µm)	Concentration maximale de boues	Capacité EH	Capacité débit (m^3/j)	Matériau recouvrant la tresse
« Ultrafor »	Suez Environnement-Degrémont	Zenon	Fibres creuse Ø 1,9 mm	0,035	0,1	< 10 g/L	Sans limite	Sans limite	Polyvinylidene Fluoride (PVDF)
« Biosep »	Véolia eau-OTV	Puron, Mitsubishi	Fibres creuse Ø 2,6 mm	-	0,1	< 15 g/L	Sans limite	Sans limite	Avant 2010: Polyéthersulphone (PES) Après 2010 : PVDF
« R-MeS »	Sogea (filiale Vinci)	Memcor	Fibres creuse	0,04	0,1	<14 g/L	Sans limite	Sans limite	-
« Aqua-RM »	SAUR (Stereau)	Kubota	Plaques	0,1	0,4	< 15g/L	200 000	22 000	Propylène hydrophile
« Ultragreen »	Suez Environnement-Degrémont	Toray	Plaques	0,08	-	< 15 g/L	< 100 000	< 20 000	Polyvinylidene Fluoride (PVDF)







R-MES





Bibliographie

AESN (2000). Principaux procédés de désinfection. Documentation interne.

AFSSA. (2007). Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale. Editions Bialec, Nancy.

AFSSA. (2010). Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A : Recommandations pour l'amélioration de la maîtrise du risque. *Edition scientifique*.

Agence de Bassin Rhône-Méditerrannée-Corse (1982). Essais de désinfection des eaux usées urbaines-Synthèse. Ville de Montpellier, Agence bassin RMC, Ministère de l'environnement, 88p.

Agences de l'Eau. (1998). Guide des procédés épuratoires intensifs proposés aux petites collectivités.

Anjou Recherche. (1997). Suivi de l'unité de désinfection UV à Dieppe : Bilan annuel du suivi.

Agences de l'Eau (1979). Lagunage naturel et lagunage aéré : procédés d' épuration des petites collectivités. CTGREF d'Aix en Provence.

Audic, J.M. (1990). Evolution des technologies d'élimination des micro-organismes. *La Mer et les Rejets Urbains, Bendors. IFREMER, Actes de Colloques*, 11, 133-148.

Ambert-Balay, K., Lorrot, M., Bon, F., Giraudon, H., Kaplon, J., Wolfer, M., Lebon, P., Gendrel, D. & Pothier, P. (2008). Prevalence and genetic diversity of Aichi virus strains in stool samples from community and hospitalized patients. *Journal of Clinical Microbiology,* 46(4), 1252-1258.

Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH), 25 Août 2009, INVS, n°31-32

Belliot, G., Kamel, A. H., Estienney, M., Ambert-Balay, K. and Pothier, P. (2010) 'Evidence of Emergence of New GGII.4 Norovirus Variants from Gastroenteritis Outbreak Survey in France during the 2007-to-2008 and 2008-to-2009 Winter Seasons', *Journal of Clinical Microbiology,* 48(3), 994-998.

Bonilla, N., Santiago, T., Marcos, P., Urdaneta, M., Domingo, J. S. &Toranzos, G. A. (2010). Enterophages, a group of phages infecting Enterococcus faecalis, and their potential as alternate indicators of human faecal contamination. *Water Science and Technology,* 61(2), 293-300.

Boutin, C., Héduit, A. &Helmer, J.M. (2009). Technologies d'épuration en vue d'une réutilisation des eaux usées traitées (REUT). *Convention de partenariat ONEMA-Cemagref 2008, Domaine : Ecotechnologies et pollutions, Action : 28 « Réutilisation des eaux traitées ».*

Carbonnel, B. (1994). Diagnostic des unités de désinfection des eaux usées épurées sur le littoral bas-Normand. Mémoire de Master Eau Potable et Assainissement.

Chendorain, M., Yates, M. and Villegas, F. (1998) 'The fate and transport of viruses through surface water constructed wetlands', *Journal of Environmental Quality,* 27(6), 1451-1458.

Commission Européenne. (2001). Guide des procédés extensifs d'épuration des eaux usées adaptées aux petites et moyennes collectivités.

Commission européenne. (2006). Water reuse system - Management manual : AQUAREC. *Publications Office*.

Couturier, E. (2010). L'hépatite E: synthèse de l'épidémiologie humaine. *Bulletin épidémiologique Spécial zoonoses*, 38, 20-21.

De Benedictis, P., Schultz-Cherry, S., Burnham, A. & Cattoli, G. (2011). Astrovirus infections in humans and animals - Molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions. *Infection Genetics and Evolution,* 11(7), 1529-1544.

da Silva, A. K., Le Saux, J.-C., Parnaudeau, S., Pommepuy, M., Elimelech, M. & Le Guyader, F. S. (2007). Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment, using real-time reverse transcription-PCR: Different behaviors of genogroups I and II. *Applied and Environmental Microbiology,* 73(24), 7891-7897.

Dore, B., Keaveney, S., Flannery, J. & Rajko-Nenow, P. (2010). Management of health risks associated with oysters harvested from a norovirus contaminated area, Ireland, February-March 2010. *Eurosurveillance,* 15(19), 12-15.

EFSA Journal (2012). Scientific opinion on Norovirus (NoV) in oysters : methods, limits and control opinions.10(1):2500

EFSA Journal (2012). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010.10(3):2597

Finch, G. R. & Fairbairn, N. (1991). Comparative inactivation of poliovirus type-3 and MS2 coliphage in demand free phosphate buffer by using ozone. *Applied and Environmental Microbiology,* 57(11), 3121-3126.

Flannery, J., Keaveney, S., Rajko-Nenow, P., O'Flaherty, V. & Dore, W. (2012). Concentration of Norovirus during Wastewater Treatment and Its Impact on Oyster Contamination. *Applied and Environmental Microbiology,* 78(9), 3400-3406.

Gassilloud, B., Schwartzbrod, L. & Gantzer, C. (2003). Presence of viral genomes in mineral water: A sufficient condition to assume infectious risk?. *Applied and Environmental Microbiology,* 69(7), 3965-3969.

Gerba, C. P., Nokes, R. L., Karpiscak, M. M. & Sf (2000). Reduction of enteric organisms in small scale, subsurface flow constructed wetlands. *Proceedings of the Small Drinking Water and Wastewater Systems: Technology for the 21st Century*, 210-216.

Gilbert, R.G., Rice, R.C., Bouwer, H., Gerba, C.P., Wallis, C. & Melnick, J.L. (1976). Wastewater renovation and reuse: virus removal by soil filtration. *Science,* 192 (4243), 1004-1005.

Graiver, D. A., Saunders, S. E., Topliff, C. L., Kelling, C. L. & Bartelt-Hunt, S. L. (2010). Ethidium monoazide does not inhibit RT-PCR amplification of nonviable avian influenza RNA. *Journal of Virological Methods,* 164(1-2), 51-54.

Hamza, I. A., Jurzik, L., Uberla, K. & Wilhelm, M. (2011). Methods to detect infectious human enteric viruses in environmental water samples. *International Journal of Hygiene and Environmental Health,* 214(6), 424-436.

Hirneisen, K. A., Black, E. P., Cascarino, J. L., Fino, V. R., Hoover, D. G. & Kniel, K. E. (2010). Viral Inactivation in Foods: A Review of Traditional and Novel Food-Processing Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 9(1), 3-20.

Invs, Cire Normandie (2012).Point épidémiologique n°3 du 24/05/12

Jenkins, M. W., Tiwari, S. K. & Darby, J. (2011). Bacterial, viral and turbidity removal by intermittent slow sand filtration for household use in developing countries: Experimental investigation and modeling. *Water Research,* 45(18), 6227-6239.

Katayama, H., Haramoto, E., Oguma, K., Yamashita, H., Tajima, A., Nakajima, H. & Ohyaki, S. (2008). One-year monthly quantitative survey of noroviruses, enteroviruses, and adenoviruses in wastewater collected from six plants in Japan. *Water Research,* 42(6-7), 1441-1448.

Koivunen, J. & Heinonen-Tanski, H. (2005). Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments. *Water Research,* 39(8), 1519-1526.

Kroneman, A., Verhoef, L., Harris, J., Vennema, H., Duizer, E., van Duynhoven, Y., Gray, J., Iturriza, M., Bottiger, B., Falkenhorst, G., Johnsen, C., von Bonsdorff, C. H., Maunula, L., Kuusi, M., Pothier, P., Gallay, A., Schreier, E., Hohne, M., Koch, J., Szucs, G., Reuter, G., Krisztalovics, K., Lynch, M., McKeown, P., Foley, B., Coughlan, S., Ruggeri, F. M., Di Bartolo, I., Vainio, K., Isakbaeva, E., Poljsak-Prijatelj, M., Grom, A. H., Mijovski, J. Z., Bosch, A., Buesa, J., Fauquier, A. S., Hernandez-Pezzi, G., Hedlund, K. O. & Koopmans, M. (2008). Analysis of integrated virological and epidemiological reports of norovirus outbreaks collected within the Foodborne Viruses in Europe Network from 1 July 2001 to 30 June 2006. *Journal of Clinical Microbiology,* 46(9), 2959-2965.

Le Cann, P., Ranarijaona, S., Monpoeho, S., Le Guyader, F. & Ferre, V. (2004). Quantification of human astroviruses in sewage using real-time RT-PCR. *Research in Microbiology,* 155(1), 11-15.

Le Courtois, J. (2006). Désinfection des eaux épurées par les systèmes naturels extensifs : Bilan d'efficacité et critères de choix. *Documentation interne AESN*.

Lees, D. & Cen Wg, T. A. G. (2010). International Standardisation of a Method for Detection of Human Pathogenic Viruses in Molluscan Shellfish. *Food and Environmental Virology,* 2(3), 146-155.

Legnani, P.P., Leoni, E., Baraldi, M., Pinelli, G. & Bisbini, P. (1996). Evaluation of disinfection treatment systems for municipal wastewater reclamation and reuse. Zentralbl. Hyg. Umweltmed, 198 (6), 552-566.

Le Guyader, F. S., Bon, F., DeMedici, D., Parnaudeau, S., Bertone, A., Crudeli, S., Doyle, A., Zidane, M., Suffredini, E., Kohli, E., Maddalo, F., Monini, M., Gallay, A., Pommepuy, M., Pothier, P. & Ruggeri, F. M. (2006). Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. *Journal of Clinical Microbiology,* 44(11), 3878-3882.

Le Guyader, F. S., Le Saux, J. C., Ambert-Balay, K., Krol, J., Serais, O., Parnaudeau, S., Giraudon, H., Delmas, G., Pommepuy, M., Pothier, P. & Atmar, R. L. (2008). Aichi Virus, Norovirus, Astrovirus, Enterovirus, and Rotavirus Involved in Clinical Cases from a French Oyster-Related Gastroenteritis Outbreak. *Journal of Clinical Microbiology,* 46(12), 4011-4017.

Le Saux, J.C. & Pommepuy, M. (2003). La purification des coquillages. Risques sanitaires liés aux coquillages, Dossier S.I.A - pour le F.C.D.

Leung, W.K., Chan, P.K., Lee, N.L., & Sung, J.J. (2010). Development of an in vitro cell culture model for human noroviruses and its clinical application. *Hong Kong Med J*, 16, 18-21.

Li, D., Gu, A. Z., Zeng, S. Y., Yang, W., He, M. & Shi, H. C. (2011). Evaluation of the infectivity, gene and antigenicity persistence of rotaviruses by free chlorine disinfection. *Journal of Environmental Sciences-China,* 23(10), 1691-1698.

Loisy, F., Atmar, R. L., Le Saux, J. C., Cohen, J., Caprais, M. P., Pommepuy, M. & Le Guyader, F. S. (2005). Use of rotavirus virus-like particles as surrogates to evaluate virus persistence in shellfish. *Applied and Environmental Microbiology,* 71(10), 6049-6053.

Lucena, F., Duran, A. E., Moron, A., Calderon, E., Campos, C., Gantzer, C., Skraber, S. & Jofre, J. (2004). Reduction of bacterial indicators and bacteriophages infecting faecal bacteria in primary and secondary wastewater treatments. *Journal of Applied Microbiology,* 97(5), 1069-1076.

Madeline, M. (1999). Pré-étude sur la détection et le devenir des virus entériques présents dans les eaux et les coquillages. *Documentation interne AESN*.

Madeline, M. (2003). Etude qualitative et quantitative des virus entériques de l'Orne entre Caen et la mer. *Documentation interne AESN*.

Mandra, V., Lazarova, V. , Dumoutier, N. & Audic, J.M. (1996). Etude comparative de la désinfection des eaux résiduaires urbaines par l'acide péracétique, l'irradiation UV et l'ozone. Actes des « Journées Informations Eaux », Poitiers, 18-20/09/1996, Conférence n°6, 1-12.

McLeod, C., Hay, B., Grant, C., Greening, G. & Day, D. (2009). Inactivation and elimination of human enteric viruses by Pacific oysters. *Journal of Applied Microbiology,* 107(6), 1809-1818.

Nasser, A. M., Paulman, H., Sela, O., Ktaitzer, T., Cikurel, H., Zuckerman, I., Meir, A., Aharoni, A. & Adin, A. (2006). UV disinfection of wastewater effluents for unrestricted irrigation. *Water Science and Technology,* 54(3), 83-88.

O'Brien, R.T & Newman, J. (1979). Structural and compositional changes associated with chlorine inactivation of poliovirus. *Appl Environ Microbiol* , 38:1034–9.

Ogorzaly, L., Tissier, A., Bertrand, I., Maul, A. & Gantzer, C. (2009). Relationship between F-specific RNA phage genogroups, faecal pollution indicators and human adenoviruses in river water', *Water Research,* 43(5), 1257-1264.

Page, M. A., Shisler, J. L. & Marinas, B. J. (2010). Mechanistic Aspects of Adenovirus Serotype 2 Inactivation with Free Chlorine. *Applied and Environmental Microbiology,* 76(9), 2946-2954.

Pecson, B. M., Ackermann, M. & Kohn, T. (2011). Framework for Using Quantitative PCR as a Nonculture Based Method To Estimate Virus Infectivity. *Environmental Science & Technology,* 45(6), 2257-2263.

Purcell, R.H. & Emerson, S.U. (2008).Hepatitis E: An emerging awareness of an olddisease. *Journal of Hepatology*, 48, 494-503.

Purnell, S. E., Ebdon, J. E. & Taylor, H. D. (2011). Bacteriophage Lysis of Enterococcus Host Strains: A Tool for Microbial Source Tracking?. *Environmental Science & Technology,* 45(24), 10699-10705.

Quinonez-Diaz, M. D., Karpiscak, M. M., Ellman, E. D. & Gerba, C. P. (2001). Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a constructed wetland receiving untreated domestic wastewater. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering,* 36(7), 1311-1320.

Reuter, G., Boros, A. & Pankovics, P. (2011). Kobuviruses - a comprehensive review. *Reviews in Medical Virology,* 21(1), 32-41.

Sano , D., Pinto, R.M., Omura, T. & Bosch, A. (2010). Detection of oxidative damages on viral capsid protein for evaluating structural integrity and infectivity of human norovirus. *Environmental Science and Technologies*, 44, 808-812.

Santiago-Rodriguez, T. M., Davila, C., Gonzalez, J., Bonilla, N., Marcos, P., Urdaneta, M., Cadete, M., Monteiro, S., Santos, R., Domingo, J. S. & Toranzos, G. A. (2010). Characterization of Enterococcus faecalis-infecting phages (enterophages) as markers of human fecal pollution in recreational waters. *Water Research,* 44(16), 4716-4725.

Shin, G. A. & Sobsey, M. D. (2003). Reduction of Norwalk virus, poliovirus 1, and bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water. *Applied and Environmental Microbiology,* 69(7), 3975-3978.

Sima, L. C., Schaeffer, J., Le Saux, J. C., Parnaudeau, S., Elimelech, M. & Le Guyader, F. S. (2011). Calicivirus Removal in a Membrane Bioreactor Wastewater Treatment Plant', *Applied and Environmental Microbiology,* 77(15), 5170-5177.

Simmons, F. J., Kuo, D. H. W. & Xagoraraki, I. (2011). Removal of human enteric viruses by a full-scale membrane bioreactor during municipal wastewater processing. *Water Research,* 45(9), 2739-2750.

Straub, T. M., Bentrup, K. H. Z., Orosz-Coghlan, P., Dohnalkova, A., Mayer, B. K., Bartholomew, R. A., Valdez, C. O., Bruckner-Lea, C. J., Gerba, C. P., Abbaszadegan, M. & Nickerson, C. A. (2007). In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerging Infectious Diseases,* 13(3), 396-403.

Thurston-Enriquez, J. A., Haas, C. N., Jacangelo, J., Riley, K. & Gerba, C. P. (2003). Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology,* 69(1), 577-582.

Torrens, A., Molle, P., Boutin, C. and Salgot, M. (2009) 'Removal of bacterial and viral indicators in vertical flow constructed wetlands and intermittent sand filters', *Desalination,* 246(1-3), 169-178.

Tree, J. A., Adams, M. R. & Lees, D. N. (2005). Disinfection of feline calicivirus (a surrogate for Norovirus) in wastewaters. *Journal of Applied Microbiology,* 98(1), 155-162.

US EPA. (2003). UV Disinfection Guidance Manual. EPA 815-D-03-007

Van Cuyk, S., Siegrist, R. L. & Logan, A. J. (2001). Evaluation of virus and microbial purification in wastewater soil absorption systems using multicomponent surrogate and tracer addition. *On-Site Wastewater Treatment, Proceedings*, 30-40.

Vaughn, J.M., Chen, Y.S., Lindburg, K. & Morales, D. (1987). Inactivation of human and simian rotaviruses by ozone. *Applied Environmental Microbiology*, 53(9), 2218–2221.

Vidales, J. A., Gerba, C. P. & Karpiscak, M. M. (2003). Virus removal from wastewater in a multispecies subsurface-flow constructed wetland. *Water Environment Research,* 75(3), 238-245.

Vilagines, P., Sarrette, B., Pezzana, A., Le Guyader, M., Cun, C., Vilagines, R., Org Econ, C. & Dev (1997). Waterborne parasites and viruses still waiting for reliable indicators. *Biotechnology for Water Use and Conservation*, 157-161.

Viovi, A. (2004). Désinfection et réutilisation des eaux usées : critères de choix dans le contexte du littoral normand et dans une perspective de développement durable. Rapport de stage AESN-DEPEE-DLM.

Wyn-Jones, A. P., Carducci, A., Cook, N., D'Agostino, M., Divizia, M., Fleischer, J., Gantzer, C., Gawler, A., Girones, R., Holler, C., Husman, A. M. D., Kay, D., Kozyra, I., Lopez-Pila, J., Muscillo, M., Nascimento, M. S., Papageorgiou, G., Rutjes, S., Sellwood, J., Szewzyk, R. & Wyer, M. (2011). Surveillance of adenoviruses and noroviruses in European recreational waters. *Water Research,* 45(3), 1025-1038.

Wyn-Jones, A. P. & Sellwood, J. (2001). Enteric viruses in the aquatic environment. *Journal of Applied Microbiology,* 91(6), 945-962.

Webographie

http://www.virologie-uclouvain.be (consultation: mai 2012)
http://www.eau-seine-normandie.fr (consultation: mai 2012)
http://geseaumar.e-monsite.com/pages/dossier/les-solutions-apportees.html (consultation : mai 2012)
http://www.oieau.org (consultation : février 2012)
www.univ-lehavre.fr (consultation : juin 2012)
www.abo.com.pl (consultation : avril 2012)

RESUME

Les virus entériques, responsables de gastroentérites aigües (GEA) et d'hépatites, sont excrétés en grande quantité et durant de longues périodes par les malades, entraînant une forte contamination des eaux usées urbaines notamment en période hivernale. Entre janvier et avril l'efficacité de cinq procédés de désinfection a été mesurée par biologie moléculaire vis-à-vis de Norovirus, Astrovirus, Rotavirus, Adénovirus 40-41, Sapovirus, Entérovirus, Aïchi virus, des virus de l'hépatite A et E et d'*Escherichia coli* pour comparaison, dans onze stations d'épuration (STEP) du littoral Normand. D'autre part, la contamination virale de l'eau, des sédiments et des coquillages a été observée à l'échelle de trois sites littoraux, de la station d'épuration à la côte. Le traitement biologique par « boues activées » à aération prolongée en amont des traitements de désinfection permet un abattement moyen de 2 à 2,5 U.log sur les virus. La désinfection par filtration membranaire permet un abattement moyen de 4,5 U.log. Les lagunes de finition et les filtres à sable abattent 1,5 à 3 U.log, soit 3,5 à 5 U.log avec un traitement secondaire en amont. Le filtre à roseaux abat 1 U.log. La contamination des sites semble plus souvent provenir de pollutions diffuses urbaines plutôt que des STEP. Les sédiments peuvent jouer un rôle d' « enregistreur » de pollution au même titre que les coquillages en conservant la trace de contaminations antérieures. Dans les huîtres, le temps nécessaire à l'élimination des virus est de plusieurs semaines. Les coquillages provenant de sites classés B sur critère *E.coli* ne sont pas ou très peu contaminés par les virus en accord avec le classement sanitaire. Sur le site de Granville, classé D, le rôle de sentinelle des bivalves filtreurs a permis de mettre en évidence une épidémie à Rotavirus confirmée par les résultats d'analyse des hôpitaux mais sous-estimée par le réseau Sentinelles. A noter que le virus de l'hépatite A n'a pas été retrouvé lors des analyses, signe d'une endémicité très faible dans la région.

Mots clés : virus entériques, eaux résiduaires urbaines, désinfection, coquillages, sédiments

ABSTRACT

Enteric viruses are major gastroenteritis and hepatitis agents, quantity and duration of excretion by infected people is very important and inducing waste water contamination mainly during winter. A quantitative survey of Norovirus, Astrovirus, Rotavirus, Adenovirus 40-41, Sapovirus, Enterovirus, Aïchi virus, hepatitis A and E virus (and *Escherichia coli* for comparison) was performed between January and April in eleven wastewater treatment plants in Normandy (France) with five different disinfection types. Moreover, the presence of these viruses in river water, sediments and shellfish was evaluated in three coastal sites between wastewater plant facility (WWTP) and beach. An average of 2 to 2,5 log reduction is performed by activated sludge secondary treatment. Membrane bioreactor systems perform 4 to 6 log reduction. Tertiary lagoons and sand filters performed 1,5 to 3 log reduction (e.g. 3,5 to 5 log with activated sludge upstream). Reed bed performed 1 log reduction. Sites contamination seems coming mainly from urban diffuse pollution more than from WWTP effluents. Sediments and shellfish could play a role of "viral pollution recorder". In oysters, several weeks look necessary for virus depuration. Furthermore, shellfish from class B oyster breading area (with *E.coli* criteria) are no contaminated with enteric viruses, in accordance with their sanitary classification. In Granville class D area, shellfish watching highlights Rotavirus epidemic confirmed by some hospital precise statistics but undervalued by medical "Sentinelles" monitoring network. Hepatitis A virus was absent from our data, acting the very low endemicity in Normandy.

Key words: enteric viruses, waste water, disinfection, shellfish, sediments