



HAL
open science

Oeufs d'helminthes et environnement : le modèle d'oeufs d'ascaris

Jean-Louis Stien

► **To cite this version:**

Jean-Louis Stien. Oeufs d'helminthes et environnement : le modèle d'oeufs d'ascaris. Biologie animale. Université Paul Verlaine - Metz, 1989. Français. NNT : 1989METZ003S . tel-01776873

HAL Id: tel-01776873

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01776873v1>

Submitted on 24 Apr 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-theses-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>

UNIVERSITE DE METZ

1989

**OEUF D'HELMINTHES ET ENVIRONNEMENT :
LE MODELE OEUF D'ASCARIS**

THESE

présentée et soutenue publiquement

le 18 septembre 1989

pour obtenir le

Doctorat de l'Université de Metz

Mention "Chimie et Microbiologie de l'Eau"

par

Jean-Louis STIEN



Membres du Jury :

- Président :** *Mme le Pr J. SCHWARTZBROD* (NANCY I)
Rapporteurs : *M. le Pr J.C. BLOCK* (METZ)
M. le Dr J.M. BARADEL (Laboratoire des Services
vétérinaires Nancy-Pixérécourt)
Examineurs : *M. BOUTIN P.* (Chef de division "Ressources en eau"
CEMAGREF-ANTONY)
M. POIRAUD G. (Délégation Centre Est ANRED -
Les Transformeurs)
Mme le Pr VASSEUR (METZ)

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19890065
Cote	S1M3 89/3
Loc	Magasin

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Madame le Professeur J. SCHWARTZBROD

Professeur de Microbiologie

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

(NANCY I)

Veillez trouver dans ces quelques lignes le témoignage de tous mes remerciements pour l'extrême patience que vous avez su témoigner à notre égard et pour l'intérêt que vous nous avez porté dans l'initiation et la réalisation de ce travail.

A NOS RAPPORTEURS DE THESE

Monsieur le Docteur J.M. BARADEL

Directeur du Laboratoire Vétérinaire départemental
de Meurthe-et-Moselle

Vous nous avez apporté avec beaucoup de gentillesse une aide matérielle efficace en la fourniture régulière de nos oeufs d'Ascaris.

Vous nous faites l'honneur de juger aujourd'hui notre travail de thèse.

Nous vous prions d'accepter ici, nos respectueux remerciements.

Monsieur le Professeur J.C. BLOCK

Professeur d'Hydrologie
Centre des Sciences et de l'Environnement (METZ)

Vous avez toujours manifesté beaucoup d'intérêt pour notre travail et vous nous avez toujours prodigué de judicieux conseils pour tempérer et canaliser notre esprit de critique et de recherche.

Veillez trouver ici, l'expression de notre profond respect ainsi que notre gratitude pour l'honneur que vous nous faites de juger cette thèse.

A NOS JUGES

Monsieur P. BOUTIN

Chef de la division Ressources en Eau
- CEMAGREF (Anthony)

Nous vous exprimons ici toute notre gratitude pour l'honneur que vous nous faites d'accepter de juger cette thèse.

Monsieur POIRAUD

Délégué CENTRE-EST
de l'Agence Nationale pour la Récupération
et l'Élimination des Déchets.

Nous vous sommes très reconnaissant de bien avoir voulu consacrer une parcelle de votre temps en acceptant de siéger au sein de notre jury de thèse.

Mademoiselle P. VASSEUR

Professeur de Toxicologie

Veuillez trouver ici le témoignage de nos plus vifs remerciements pour le plaisir que vous nous faites d'accepter d'apporter votre jugement sur ce travail de thèse.

A mes parents sans qui rien de ce travail n'aurait été fait, ils furent une aide précieuse tout au long de ce long parcours, jalonné de sacrifices toujours surmontés avec humour et philosophie.

A tous ceux qui m'ont apporté une aide aussi bien technique que financière et qui, dans l'ombre, ont assumé une grande part du travail.

A Monsieur le Professeur L. SCHWARTZBROD pour l'aide matérielle apportée au cours de ce travail.

A mon Assistante-Ingénieur préférée qui illumina par un beau matin de janvier une vision quelque peu obscurcie par les vapeurs d'anisol ...

A Julien qui reste le plus beau résultat de mes années de recherche au sein du laboratoire.

A Vincent et Florent.

A mes Grands-Parents en gage de mon affection.

A cette arrière Grand-Mère qui nous manque tant.

SOMMAIRE

• INTRODUCTION	2
• ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1 - HELMINTHES ET EAUX USEES	5
1.1 - Helminthes retrouvés dans le milieu hydrique	5
1.1.1 - Aspects qualitatifs	5
1.1.2 - Concentration en oeufs d'helminthes dans les eaux usées et les boues	8
1.1.3 - Origine des oeufs d'helminthes dans les eaux usées	11
1.1.4 - Résistance des oeufs d'helminthes	14
1.1.4.1 - Dans l'environnement	14
i) Résistance des oeufs d'helminthes dans les eaux	14
ii) Résistance des oeufs d'helminthes dans les sols	15
iii) Survie des oeufs d'helminthes sur les végétaux	16
1.1.4.2 - Comportement des oeufs d'helminthes au cours des différents traitements d'épuration	23
2 - EVALUATION DU RISQUE INFECTIEUX	27
2.1 - Définition et caractéristiques du risque infectieux	27
2.2 - Enquêtes épidémiologiques	31
3 - LES DIFFERENTES LEGISLATIONS	35
4 - L'OEUF D'ASCARIS	39
4.1 - Structure	40
4.1.1 - Couche protéique	40
4.1.2 - Couche chitineuse	41
4.1.3 - Couche lipidique	43
4.2 - Techniques de mise en évidence	43
• OBJECTIFS DU TRAVAIL	47
• MATERIEL ET METHODES	49
1 - MATERIEL	49
1.1 - Différents types de prélèvements	49
1.1.1 - Prélèvements d'eaux usées et de boues	49

1.1.1.1 - Prélèvements effectués à la station d'épuration de NANCY-MAXEVILLE	49
i) Caractéristiques de la station	49
ii) Types de prélèvement	51
iii) Rythme de prélèvements	51
1.1.1.2 - Prélèvements effectués à la station d'épuration de BACCARAT	52
i) Caractéristiques de la station	52
ii) Type et rythme de prélèvements	53
1.1.1.3 - Prélèvements effectués sur le site de Barcelone	53
i) Caractéristiques des lieux de prélèvements	53
ii) Types et rythme de prélèvements	55
1.1.2 - Prélèvements de sol	56
1.1.3 - Prélèvements de végétaux	56
1.2 - Le matériel parasitaire	57
1.3 - La cellule de comptage	57
2 - METHODES	58
2.1 - Techniques de concentration	58
2.2 - Stratégie d'échantillonnage	64
2.2.1 - Test de SHAPIRO-WILK	64
2.2.2 - Test de PEARSON	65
2.2.3 - Test de COCHRAN	65
2.2.4 - Analyse de variance du plan pyramidal	66
2.3 - Méthodes d'études de la viabilité	68
2.3.1 - Méthode en gélose simple	69
2.3.2 - Méthode de HUBERT et KERBOEUF	69
2.3.3 - Méthode de CLARKE et PERRY	70
• ETUDE METHODOLOGIQUE	72
1 - ETUDES AVEC LES TECHNIQUES COPROLOGIQUES CLASSIQUES	72
1.1 - Processus de quantification	72
1.1.1 - Estimation du ménisque	72
1.1.2 - Estimation des culots de centrifugation	74
1.1.3 - Formules de quantification	74
1.2 - Etudes des paramètres (types, lieu, jour de prélèvement) par analyse de variance	75

1.2.1 - Résultats bruts	75
1.2.2 - Vérification des hypothèses de normalités et d'égalité des variances des séries statistiques	78
1.2.3 - Résultats de l'analyse de variance	79
1.3 - Influence de la charge parasitaire	80
1.3.1 - Résultats expérimentaux	81
1.3.2 - Etude statistique	87
1.4 - Etude de la viabilité	88
1.4.1 - Evolution de la suspension d'oeufs d'Ascaris au cours du temps	88
1.4.2 - Impact des réactifs de concentration sur la viabilité des oeufs d'Ascaris	90
2 - TECHNIQUE PERSONNELLE	91
2.1 - Pouvoir discriminant du n-butanol	91
2.2 - Méthodes de concentration proposées	92
2.2.1 - Protocole expérimental	93
2.2.2 - Détermination de la formule de quantification	94
2.2.3 - Etude statistique	98
2.2.4 - Sensibilité de la technique	99
• ETUDES SUR LE TERRAIN	103
1 - DEVENIR DES OEUFS D'HELMINTHES AU COURS D'UN CYCLE D'EPURATION	103
1.1 - Résultats obtenus sur le site de NANCY-MAXEVILLE	103
1.2 - Résultats obtenus sur le site de BACCARAT	111
2 - OEUFS D'HELMINTHES APRES REJET EN MER DE BOUES RESIDUAIRES	112
2.1 - Etude préliminaire	112
2.2 - Etude systématique	113
3 - RECHERCHE D'OEUFS D'ASCARIS DANS DES SOLS ET DES VEGETAUX ARTIFICIELLEMENT CONTAMINES	123
3.1 - Analyse de sol	123
3.2 - Analyse de végétaux	125
• ETUDE PROSPECTIVE	128
1 - ACTION DES DIFFERENTES ENZYMES	128
2 - DETERMINATION DE L'ACTIVITE OVICIDE DE SOUCHES DE CHAMPIGNONS TELLURIQUES	130
3 - EMPLOI DES ECOSYSTEMES PRESENTS DANS LES BOUES	131
• CONCLUSION	135
• BIBLIOGRAPHIE	141

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'eau représente un élément essentiel pour l'homme. Celui-ci l'utilise pour son alimentation, ses activités domestiques et industrielles et la rejette sous forme d'eaux usées. Celles-ci contiennent des polluants chimiques très variés, ainsi que de très nombreux micro-organismes d'origine humaine et animale. Il est donc nécessaire de les épurer avant de les restituer à l'environnement.

Dans les pays développés des traitements des eaux usées sont effectivement mis en oeuvre avec comme conséquence la production de quantités considérables de boues. Ainsi pour la communauté économique européenne, HANNAN et COLLINS (1983) font état d'une production exprimée en matière sèche de 6 millions de tonnes et d'une estimation de 10 à 20 millions de tonnes pour les années 1990. Ces boues, réceptacle des différents polluants de l'eau en particulier des métaux lourds, détergents, micro-organismes, sont riches en composés organiques et minéraux intéressants en vue d'une valorisation agricole. Le tableau n° 1 permet de dresser le bilan de l'utilisation des boues dans différents pays industrialisés (PAHREN et al., 1979 ; PIKE et CARRINGTON, 1979 ; FELICIANO, 1982 ; HANNAN et COLLINS, 1983 ; VINCENT et CRICHTLEY, 1983).

PAYS	PRODUCTION X 1000 T M.S.	R E P A R T I T I O N (%)				
		Agric.	Epan.	Incin.	Mer	Autre
U.K.	1.200	39	27	4	30	-
BELGIQUE	70	15	83	2	-	-
DANEMARK	130	45	45	10	-	-
FRANCE	840	30	50	20	-	-
ALLEMAGNE	2.200	39	49	8	2	2
GRECE	3	-	100	-	-	-
IRLANDE	20	4	51	-	45	-
ITALIE	1.200	20	55	-	-	20
LUXEMBOURG	11	90	10	-	-	-
PAYS BAS	230	60	27	2	11	0
AUTRICHE	140	peu	bcp	30	-	-
FINLANDE	130	40	45	-	-	15
NORVEGE	55	18	82	-	-	-
ESPAGNE	45	60	----	20----	20	-
SUEDE	210	60	----	30----	-	10
SUISSE	50	80	10	10	-	-
U.S.A.	8.000	42	15	27	4	12

Tableau n° 1 : Production annuelle et utilisation des boues dans différents pays industrialisés.

* Dans les pays en voie de développement, les ressources en eaux sont souvent limitées. Dans ce contexte, l'utilisation des eaux usées brutes à des fins agricoles est souvent réalisée avec comme conséquence des risques non négligeables de contamination des produits destinés à l'alimentation humaine ou animale. Si dans le domaine bactériologique et virologique, les informations sont nombreuses, en ce qui concerne le risque parasitaire, les données sont plus rares, plus parcellaires. Il paraît donc important de pouvoir évaluer ce risque dans les meilleures conditions et pour ce faire il est nécessaire de disposer d'un "indicateur parasitaire" et d'une méthodologie adaptée à la mise en évidence de celui-ci.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

1 - HELMINTHES ET EAUX USEES

Les eaux usées sont susceptibles de véhiculer un grand nombre d'helminthes parasites d'origine humaine ou animale. Dans ce chapitre, sont successivement étudiées la diversité et les quantités de parasites retrouvés dans les eaux usées et/ou les boues ; ces données sont ensuite confrontées à différentes informations concernant l'épidémiologie et la résistance de ces parasites.

1.1 - Helminthes retrouvés dans le milieu hydrique

1.1.1 - Aspects qualitatifs

La pollution parasitaire des eaux usées résulte du rejet d'oeufs d'helminthes avec les matières fécales de l'homme ou des animaux.

Les helminthes pathogènes excrétés avec les matières fécales sont regroupés dans le tableau n° 2.

HELMINTHES	MALADIES	TRANSMISSION	REPARTITION GEOGRAPHIQUE
ANCYLOSTOMA DUODENALE	ANKYLOSTOMOSE	HOMME -> SOL -> HOMME	SURTOUT DANS CLIMATS CHAUDS ET HUMIDES
ASCARIS LUMBRICOIDES	ASCARIDIOSE	HOMME -> SOL -> HOMME	COSMOPOLITE
CLONORCHIS SINENSIS	OPISTORCHIASE	HOMME OU ANIMAL --> MOLLUSQUE AQUATIQUE --> POISSON -> HOMME	ASIE DU SUD-EST
DIPHYLLOBOOTHRIUM LATUS	TAENIASIS	HOMME OU ANIMAL -> COPEPODE -> POISSON -> HOMME	FOYERS EN REGIONS TEMPEREES
ENTEROBIUS VERMICULARIS	OXYUROSE	HOMME -> HOMME	COSMOPOLITE
FASCIOLA HEPATICA	FASCIIOLOSE	MOUTON --> MOLLUSQUE AQUATIQUE -> VEGETATION -> HOMME	REGIONS D'ELEVAGE DE MOUTONS
FASCIOLOPSIS BUSKI	DISTOMATOSE INTESTINALE	HOMME OU PORC --> MOLLUSQUE AQUATIQUE --> VEGETATION AQUATIQUE -> HOMME	ASIE DU SUD-EST SURTOUT LA CHINE
GASTRODISCOIDES HOMINIS		PORC -> MOLLUSQUE AQUATIQUE --> VEGETATION AQUATIQUE -> HOMME	INDE, BANGLADESH VIETNAM, PHILIPPINES
HETEROPHYES HETEROPHYES	DISTOMATOSE	CHIEN OU CHAT -> MOLLUSQUE D'EAU, SAUMATRE -> POISSON D'EAU SAUMATRE -> HOMME	MOYEN-ORIENT EUROPE DU SUD
HYMENOLEPIS NANA	TAENIASIS	HOMME OU RONGUEUR	COSMOPOLITE
METAGONIMUS YOKOGAWAI	DISTOMATOSE	CHIEN OU CHAT --> MOLLUSQUE AQUATIQUE -> POISSON D'EAU DOUCE --> HOMME	ASIE DE L'EST SIBERIE
NECATOR AMERICANUS	ANKYLOSTOMOSE	HOMME -> SOL -> HOMME	SURTOUT DANS CLIMATS CHAUDS ET HUMIDES
OPISTORCHIS	OPISTORCHOSE	CHAT OU HOMME -> MOLLUSQUE AQUATIQUE -> POISSON	URSS THAÏLANDE
PARAGONIMUS WESTERMANI	PARAGONIMOSE	PORC, HOMME, CHIEN, CHAT OU D'AUTRES ANIMAUX --> MOLLUSQUE AQUATIQUE --> CRABE OU ECREEVISSE -> POISSON --> HOMME	ASIE DU SUD-EST FOYERS DISPERSES EN AFRIQUE ET AMERIQUE DU SUD
SCHISTOSOMA HAEMATOBIIUM	BILHARZIOSE	HOMME --> MOLLUSQUE AQUATIQUE --> HOMME	AFRIQUE, MOYEN-ORIENT INDE
S. JAPONICUM	BILHARZIOSE	ANIMAUX OU HOMME --> MOLLUSQUE --> HOMME	ASIE DU SUD-EST
S. MANSONI	BILHARZIOSE	HOMME --> MOLLUSQUE AQUATIQUE -> HOMME	AFRIQUE, MOYEN-ORIENT AMERIQUE CENTRALE ET SUD
STRONGYLOIDES STERCORALIS	ANGUILLULOSE	HOMME -> HOMME --> POISSON --> HOMME	SURTOUT CLIMATS CHAUDS ET HUMIDES
TAENIA SAGINATA	TAENIASIS	HOMME -> VACHE -> HOMME	COSMOPOLITE
T. SOLIUM	TAENIASIS	HOMME -> PORC (OU HOMME) -> HOMME	COSMOPOLITE
TRICHURIS TRICHURIA	TRICHOCEPHALOSE	HOMME -> SOL -> HOMME	COSMOPOLITE

Tableau n° 2 : Helminthes excrétés dans les matières fécales
(d'après FEACHEM et al., 1983)

Dans les eaux usées et les boues sont mis en évidence différents oeufs d'helminthes appartenant aux classes des Némathelminthes (Nématodes, Acanthocéphales) et des Plathelminthes (Trématodes-Cestodes). Les différents genres retrouvés sont rassemblés dans le tableau n° 3.

CLASSE	SOUS-CLASSE	FAMILLE	GENRE	HOTE DEFINITIF
N E M A T H E L M I N T H E S	NEMATODES	Ascarididae	Ascaris	Homme, porc...
			Toxocara Toxascaris	Chien, chat...
		Trichuridae	Trichuris	Homme, ruminants, chien, chat, porc
			Capillaria	Mouton, chèvre, ruminants, etc.
		Oxyuridae	Enterobius	Homme, rongeur, cheval, lapin...
		Ancylostomidae	Necator Ancylostoma	Homme...
		Strongyloidae	Strongyloides	Homme...
	ACANTHOCE- PHALES		Moniliformis	Homme, rongeur
P L A T H E L M I N T H E S	CESTODES	Hymenolepididae	Hymenolepis	Homme, rat, souris
		Cyclophyllidae	Taenia	Homme, chien, chat
		Pseudophyllidae	Diphyllobothrium	Mouton, vache, lapin, homme, chien, chat
	TREMATODES	Schistosomidae	Schistosoma	Homme
		Douves	Fasciola Dicrocoelium	Homme, mouton Homme, mouton

Tableau n° 3 : Différents types d'oeufs d'helminthes retrouvés dans les boues et les eaux usées (d'après KOWAL, 1985)

1.1.2 - Concentration en oeufs d'helminthes dans les eaux usées et les boues

Les valeurs d'oeufs d'helminthes dans les eaux usées rapportées dans la littérature sont groupées dans le tableau n° 4.

PAYS	PARASITES			REFERENCES
	Types	Valeurs Moyenne L ⁻¹ EXTRÊME L ⁻¹		
AFRIQUE DU SUD AFRIQUE DU SUD	ASC. TEN. TRI. ASC.	219 19		GRABOW et NUPEN (1972) NUPEN et VILLIERS (1975)
ALLEMAGNE DE L'EST	ASC. ENT. TRI. TEN.	27	6 - 57	KNAACK et RITSCHERL (1975)
ALLEMAGNE DE L'OUEST ALLEMAGNE DE L'OUEST	HELMINTHES ASC	2200 38		PIEKARSKI et PELSTER (1980) FEACHEM <u>et al.</u> (1983)
BRESIL PARAIBA CAMPINO GRANDE " "	ASC. ANK. NEC. TRI. ASC. TRI. ANK. ASC. TRI. ANK. ASC. TRI. ANK. HYM.	1490 1330 446	250 - 2710 320 - 2680 135 - 960	MARA et SILVA (1978) MARA et SILVA (1986) MARA <u>et al.</u> (1987) AYRES <u>et al.</u> (1989)
CANADA (ONTARIO)	TRI. ASC.		40 - 120	VAJDIC (1978)
FRANCE NANCY	ASC. TOX. TRI. HYM. TEN.	8		STIEN et SCHWARTZBROD (1987)
INDE NAGPUR CALCUTTA	ASC. ANK. NEC. HYM. ASC.		4 - 246 200 - 2130	PANICKER et KRISHNAMOORTHY (1981) BHASKARAN <u>et al.</u> (1956)
JAPON TOKYO	ASC. TRI. TEN. HELMINTHES		25 - 110 10 - 80	SHEPHARD (1971) LIEBMANN (1964)
JORDANIE	ASC. ANK. TRI.	362	130 - 800	SALEM <u>et al.</u> (1988)
MAROC AGADIR MARRAKECH	ASC. TEN. HYM. DICRO. ASC. TEN. TRI. HYM.	4010 11	2 - 37	STIEN et SCHWARTZBROD (1987) BOUHOUM et HIMMI (1986)
PORTO-RICO	ASC. TRI. ASC. SCHIS.	79 298	130 - 404	ROWAN et GRAM (1959) ROWAN (1964)
SYRIE ALEPPO	ASC. HYM. TRI.	2950	1000 - 8000	BRADLEY et HADIDY (1981)
URSS IRKUTSH MOSCOU URSS	HELMINTHES ASC. TRI. ENT. BOTH. TEN.	19 1933 1		SHEPHARD (1971) SHEPHARD (1971) WILKENS (1981)
USA DENVER CHICAGO	ASC. HELMINTHES ASC. TOX. TEN. TRI. ENT. ASC.	30 62 2330 21	0 - 6330	WANG et DUNLOP (1954) FOSTER et ENGELBRECHT (1974) FOX et FITZGERALD (1977) LARKIN <u>et al.</u> (1978)

Tableau n° 4 : Concentration en oeufs d'helminthes dans les eaux usées : Données bibliographiques.

ACANT. : ACANTHOCÉPHALE ; ANK. : ANKYLOSTOMA ; ASC. : ASCARIS ; BOTH. : BOTRIOCÉPHALE ; DICRO. : DICROCOELIUM ; ENT. : ENTEROBIUS ; HYM. : HYMENOLEPIS ; NEC. : NECATOR ; SCHIS. : SCHISTOSOMA ; TEN. : TAENIA ; TOX. : TOXOCARA ; TRI. : TRICHURIS.

Les chiffres retrouvés sont très dispersés avec des valeurs extrêmes allant de 0 à 6330 oeufs d'helminthes par litre. Les types d'oeufs retrouvés appartiennent aux genres Ascaris, Ankylostoma, Diphyllobothrium, Dicrocoelium, Enterobius, Hymenolepis, Necator, Schistosoma, Taenia, Toxocara et Trichuris. Les concentrations et les variétés d'oeufs retrouvées sont fonction de divers facteurs climatiques, socio-économiques et démographiques.

Au niveau des boues, les données bibliographiques ne sont pas toujours facilement exploitables (Tableau n° 5). En effet, la nature de l'échantillon (boues brutes, digérées, semi-déshydratées...) n'est pas toujours précisée ; de plus les résultats sont exprimés soit par gramme de boues humides, soit par gramme de boues sèches.

Les nombres d'oeufs retrouvés s'échelonnent de 0 à 22.638 pour 100 g de boues.

PAYS	TYPES DE BOUES	PARASITES			REFERENCES
		TYPES	MOYENNE 100 G ⁻¹	EXTREME 100 G ⁻¹	
ALLEMAGNE DE L'EST	BOUES FRAÎCHES	TRI. TEN. ASC. ENT. ANK. STRO.	300		MULLER (1980)
ALLEMAGNE DE L'OUEST	BOUES FRAÎCHES	ASC. TRI. TOX. TEN. COC.	396		PIEKARSKI et PELSTER (1980)
ANGLETERRE LIVERPOOL LIVERPOOL	BOUES FRAÎCHES	NEMATODES	180		CREWE (1977)
	BOUES BRUTES	ASC. TRI. TOX. TAS. HYM. TEN.	608		CREWE (1984)
	BOUES	ASC. TRICH. TEN.	2	0 - 4	WATSON <u>et al.</u> (1983)
CANADA LAKEVIEW	BOUES BRUTES	ASC. TRI.	70		GRAHAM (1981)
	BOUES DIGÉRÉES	ASC. TRI. TOX.	54		
FRANCE	BOUES BRUTES	ASC. TRI. TOX. HYM. TEN.	120		SCHWARTZBROD <u>et al.</u> (1986)
	BOUES DIGÉRÉES	ASC. TRI. TOX. HYM.	100		STIEN et SCHARTZBROD (1987) BARBIER <u>et al.</u> (1989)
	BOUES SEMIDÉSHYDRATÉES	ASC. TRI. TOX. HYM. TEN.	159	113 - 194	
	BOUES SEMIDÉSHYDRATÉES		650	260 - 1600	
MAROC	AGADIR BOUES DÉCANTÉES (ENTRÉE)	ASC. TRI. TEN. HYM. DIC. SCHIS.	7180		STIEN et SCHWARTZBROD (1987)
	MARRAKECH BOUES DÉCANTÉES (SORTIE) BOUES BRUTES	ASC. TRI. TEN. HYM. ASC. TRI. TEN. HYM. ACAN. COC.	1200 190	25 - 375	BOUHOUM et HIMMI (1986)
NORVEGE	BOUES FRAÎCHES SANS EAUX D'ABATTOIRS	ASC. TRI. TEN. ENT. TOX. TAS.	51	0 - 338	BERGSTROM (1981)
	AVEC EAUX D'ABATTOIRS	ASC. TRI. MON. COC.	1803	10 - 22638	
USA	BOUES ACTIVÉES	HELMINTHES	20		FOSTER et ENGELBRECHT (1974)
CHICAGO	BOUES BRUTES	ASC. TOX. TAS. TRI. TEN.	222	112 - 928	FITZGERALD et ASHLEY (1977)
	BOUES DIGÉRÉES	ASC. TOX. TAS. TRI. TEN.	321		HAYS (1977)
	BOUES BRUTES	ASC.	10		THEIS <u>et al.</u> (1978)
CHICAGO	BOUES DIGÉRÉES	ASC.	5000MS*		
CHICAGO	BOUES DIGÉRÉES	ASC. TOX. TRI. TAS.	460		ARTHER <u>et al.</u> (1981)
	BOUES PRIMAIRES	ASC. TRI. TOX. HYM.	10860MS		PEDERSON (1981)
	BOUES SECONDAIRES	ASC. TRI. TOX. HYM.	17000MS		
	BOUES PRIMAIRES ET SECONDAIRES				
	SANS EAUX D'ABATTOIRS	ASC. TRI. TOX.	1120		REIMERS <u>et al.</u> (1981)
	AVEC EAUX D'ABATTOIRS	ASC. TRI. TOX.	8390		
	BOUES DIGÉRÉES	ASC. TRI. TOX.	1440	0 - 5040MS	
	BOUES	ASC.	282	10 - 3800	FELICIANO (1982)
	BOUES BRUTES	ASC. TRI. TOX. TAS.	11	6 - 21	
	BOUES DIGÉRÉES	ASC. TRI. TOX.	10	5 - 17	KABRICK et JEWELL (1982)
(AÉROBIOSE)					
THACA	BOUES DIGÉRÉES (ANAÉROBIOSE)	ASC. TRI. TOX.	10	7 - 20	
	BOUES BRUTES	ASC.	10MS		WALLIS et LEHMANN (1983)

Tableau n° 5 : Concentration en oeufs d'helminthes dans les
boues de station d'épuration :
données bibliographiques.
(/ 100 g de boues humides sauf M S)

ACANT. : ACANTHOCÉPHALE ; ANC. : ANKYLOSTOMA ; ASC. : ASCARIS ; COC. : COCCIDIE ;
DI. : DICROCOELIUM ; ENT. : ENTEROBIUS ; HYM. : HYMENOLEPIS ; MON. : MONEZIA ;
SCHIS. : SCHISTOSOMA ; STRO. : STRONGYLOÏDES ; TAS. : TOXASCARIS ; TEN. : TAËNIA ;
TOX. : TOXOCARA ; TRI. : TRICHURIS
MS : MATIÈRE SÈCHE.

1.1.3 - Origine des oeufs d'helminthes dans les eaux usées

La grande variété d'oeufs retrouvés et l'importante dispersion des concentrations dans les divers échantillons sont sous la dépendance de plusieurs facteurs :

- le nombre d'individus et/ou d'animaux infestés
- le nombre d'oeufs pondus quotidiennement par l'espèce d'helminthe
- le nombre d'oeufs éliminés par gramme de matière fécale humaine infestée.

En ce qui concerne le nombre d'individus parasités, les informations décrivant l'état sanitaire d'un pays ou seulement d'une région sont souvent très parcellaires à l'exception des données concernant l'ascaridiose et l'oxyurose (FEACHEM et al., 1983) comme le montre le tableau n° 6.

PARASITE	PAYS	AGE DES PORTEURS	PREVALENCE	NOMBRE DE CAS	AUTEURS
Helminthes	ALLEMAGNE	Tout âge	0,8 %		SCHUH <u>et al.</u> (1985)
Helminthes	MALAISIE		39,6 %		KAN (1982)
<u>Ascaris</u>	MONDE			700 - 1 milliard	FEACHEM <u>et al.</u> (1983)
	USA	Tout âge		4 M	KOWAL (1985)
	AFRIQUE	Tout âge	25 - 30 %		CROMPTON et STEPHENSON (1985)
	CHINE		40 - 80 %		FEACHEM <u>et al.</u> (1983)
	INDONÉSIE		80 %		ISMID <u>et al.</u> (1978)
<u>Trichuris</u>	USA	Tout âge		2 M,2	KOWAL (1985)
		Tout âge	0,01 %		FULMER et HUENPFNER (1965)
	HAÏTI	10-14 ans	85 %		RACCURT <u>et al.</u> (1977)
	MALAISIE		33 %		KAN (1982)
<u>Taenia</u>	USA	Tout âge		200 000	KOWAL (1985)
	USA		0,0005 %		HAMMERBERG <u>et al.</u> (1978)
	ANGLETERRE			80	HUGUES <u>et al.</u> (1985)
<u>Necator</u> <u>Ankylostoma</u>	USA			700 000	KOWAL (1985)
	HAÏTI	Tout âge	24 %		RACCURT <u>et al.</u> (1977)
	CÔTE D'IVOIRE	7-14 ans	73 %		NOZAIS <u>et al.</u> (1979)
<u>Enterobius</u>	USA			42 M	KOWAL (1985)
	MONDE			1 Milliard	FEACHEM <u>et al.</u> (1983)

Tableau n° 6 : Fréquence de quelques helminthiases

Quand au nombre d'oeufs pondus quotidiennement par les helminthes, il varie fortement selon l'espèce considérée comme l'indique le tableau n° 7.

PARASITES	NOMBRE OEUFS / JOUR	REFERENCE
<u>Ascaris lumbricoïdes</u>	200 000	FEACHEM <u>et al.</u> (1983)
<u>Ascaris suum</u>	200 000 - 450 000	PIKE (1982) STORM <u>et al.</u> (1981)
<u>Enterobius vermicularis</u>	ND*	
<u>Trichuris trichiura</u>	10 000 - 45 000	WATSON <u>et al.</u> (1983)
<u>Taenia saginata</u>	800 000 / Segment	KOWAL (1985)
<u>Necator americanus</u>	200 000	"
<u>Ankylostoma duodenale</u>	200 000	"

ND* : non déterminé

Tableau n° 7 : Nombre d'oeufs pondus par jour chez différentes espèces d'helminthes.

Enfin le nombre d'oeufs excrétés par gramme de fèces a pu être évalué (Tableau n° 8).

AGENTS	QUANTITE EXCRETEE PAR GRAMME DE FECES
Ascaris	10^4 — $3 \cdot 10^5$ (en cas d'infections graves)
Ankylostome	$1 \cdot 10^2$ - $8 \cdot 10^2$
Anguillule	10^1
Trichocephale	10^3
<u>Hymenolepis</u>	?
<u>Taenia</u>	10^4
<u>Fasciola hepatica</u>	?
Autres douves	10^2
<u>Schistosoma mansoni</u>	$4 \cdot 10^1$

Tableau n° 8 : Valeurs moyennes d'oeufs d'helminthes par gramme de matière fécale (FEACHEM et al., 1983; PROST et BOUTIN 1989, SHUVAL et al., 1986).

En partant de ces données et en sachant que la quantité de matières fécales émises par jour et par individu varie de 100 g (FEACHEM et al., 1983) à 195 g (GUILHON 1972), il est possible d'estimer la quantité d'oeufs effectivement rejetée dans le milieu extérieur. Ainsi un individu atteint d'ascaridiose rejettera dans le milieu extérieur au minimum près d'un milliard d'oeufs par an.

1.1.4 - Résistance des oeufs d'helminthes

1.1.4.1 - Dans l'environnement

Dans l'environnement, la résistance des oeufs d'helminthes est très variable selon le type d'oeuf étudié et selon la nature de l'échantillon analysé : eaux - sol - végétaux.

i) Résistance des oeufs d'helminthes dans les eaux

Dans les eaux douces et les eaux usées, la persistance de certains oeufs comme les oeufs d'Ascaris est évaluée de quelques mois à plus d'une année (SHUVAL et al., 1986). Cette importante résistance est à opposer aux durées de survie plus brèves des divers types de pathogènes retrouvés dans les eaux douces et usées (Tableau n° 9). Elle est fortement dépendante de différents paramètres comme la température de l'eau, la présence d'autres micro-organismes responsables de phénomènes de compétition ou de prédation.

PATHOGENES	TEMPS DE SURVIE (en jours)	
	VALEUR. MOYENNE.	VALEUR. MAXIMUM
VIRUS Enterovirus	inférieur à 50	120
BACTERIES Coliformes fécaux <u>Salmonella</u> spp <u>Shigella</u> spp	inférieur à 30 inférieur à 30 inférieur à 10	60 60 30
PROTOZOAIRE <u>Entamoeba histolytica</u> (kystes)	inférieur à 15	30
HELMINTHES <u>Ascaris lumbricoïdes</u> (oeufs)	plusieurs mois	supérieur à 1 an

Tableau n° 9 : Temps de survie en eaux douces et eaux usées à 20° - 30 °C de différents pathogènes (d'après SHUVAL et al., 1986).

Dans les eaux marines, la salinité semble jouer un rôle défavorable sur la survie des divers micro-organismes pathogènes excrétés (virus, bactéries, helminthes). Ainsi selon PROST (1987), 97 % des oeufs d'Ascaris sont tués en 2 jours en eau de mer.

ii) Résistance des oeufs d'helminthes dans les sols

Les informations concernant la survie des oeufs d'helminthes dans les sols généralement obtenues après contamination artificielle mettent en évidence (Tableau n° 10) une grande variabilité.

PARASITES ETUDIÉS	DUREE	CONDITIONS EXPERIMENTALES	REFERENCES
<u>ASCARIS</u>	5 - 6 mois	Hiver	YOSHIDA (1920)
	27 - 35 jours	Eté chaud, sec	RUDOLFS <u>et al.</u> (1951)
	20 jours	Temps ensoleillé	BEAVER (1952)
		Sol sableux	
		Température 30 °C	
	5 - 7 ans	Sol de jardin	MULLER (1953)
	5 mois		FORSTNER (1968)
7 ans		PARSONS <u>et al.</u> (1975)	
14 ans		KRASNONOS (1978)	
90 j. - 7 ans		GOLUEKE (1983)	
Quelques semaines	Sol nu	WALLIS et LEHMANN (1983)	
15 mois	Couverture végétale faible	WALLIS et LEHMANN (1983)	
2 ans	Couverture végétale importante	WALLIS et LEHMANN (1983)	
3 mois	Sol avec argile et fumier	O'DONNELL <u>et al.</u> (1984)	
		Température 25 °C	
<u>TAENIA</u>	15 mois		DUTHY et VAN SOMEREN (1947)
	58 - 159 jours		JEPSON et ROTH (1952)
	49 - 90 jours	Printemps	
	9 - 15 jours	Eté sol	
	53 - 64 jours	Automne ombragé	NADZAFOV et CHOBANOV (1973)
	100 - 229 jours	Hiver	Cité dans BUERGER (1984)
	27 - 68 jours	Printemps	
	4 - 8 jours	Eté sol	
	20 - 38 jours	Automne ensoleillé	
	73 - 207 jours	Hiver	
2 semaines	Eté	COMAN (1975)	
plusieurs mois	Hiver		
<u>TRICHURIS</u>	Plusieurs mois		LEVINE (1968)
	3 mois	25 °C Sol argile + fumier	O'DONNELL <u>et al.</u> (1984)
<u>TOXOCARA</u>	8 mois	25 °C	O'DONNELL <u>et al.</u> (1984)
	2 ans	+ 4 °C Sol argile + fumier	O'DONNELL <u>et al.</u> (1984)

Tableau n° 10 : Survie d'oeufs d'helminthes dans le sol.

Ainsi pour l'oeuf d'Ascaris, les durées de survie s'échelonnent de 20 jours à 14 ans.

L'extrême dispersion des résultats est liée à divers facteurs : ensoleillement ou ombre, nature du sol (argile, sable...), humidité, pH, température et sans doute à la technique de mise en évidence.

Ainsi OTTO (1929) montre que, sur sol argileux ombragé après 83 jours, 89 % des oeufs d'Ascaris sont retrouvés viables contre 26 % seulement sur le même sol ensoleillé. Quant à l'influence de l'humidité, elle a été étudiée par le même auteur sur différents types d'oeufs d'Ascaris (cheval, chien, homme et porc) ; des atmosphères avec une humidité s'échelonnant de 40 % à plus de 80 % sont nécessaires pour obtenir l'embryonation. En ce qui concerne la composition physique et chimique des sols, la propriété des sols qui influence le plus fortement et le plus directement le développement et la survie des oeufs d'helminthes est la capacité de rétention de l'eau. Celle-ci dépend de la texture du sol qui va des particules colloïdales d'argile (inférieur à 2 μ) aux graviers en passant par les particules de limon (2 à 50 μ) et par les sables (50 μ à 2 mm). Les sols argileux sont lourds et absorbants tandis que les sols sableux sont légers, aérés et retiennent peu d'eau. L'Ascaris semble s'embryonner de préférence sur les sols argileux plutôt que sur les sols sableux. Aux USA, BEAVER (1952) explique ainsi la fréquence plus grande de l'Ascaris en Louisiane argileuse (418 oeufs/g de sol) par rapport à la Géorgie sableuse (54 oeufs/g de sol) alors que les deux régions ont un climat comparable. En cas de pluies, la densité des oeufs d'Ascaris ($d = 1,11$) les fait sédimenter plus rapidement que les particules d'argile qui en se déposant au-dessus, constituent une couche protectrice. En ce qui concerne la température, le pourcentage d'oeufs retrouvés est inversement proportionnel à la température (O'DONNELL et al., 1984).

iii) Survie des oeufs d'helminthes sur les végétaux

Globalement la survie des micro-organismes pathogènes sur les végétaux est très variable (Tableau n° 11) selon le type d'organismes étudiés.

MICRO-ORGANISME PATHOGENE	MOYENNE	MAXIMUM
Bactéries	1 mois	6 mois
Virus	1 mois	2 mois
Protozoaires	2 jours	5 jours
Helminthes	1 mois	5 mois

Tableau n° 11 : Survie de différents types de micro-organismes sur les végétaux (KOWAL 1982).

En réalité, des différences importantes existent entre les différents espèces parasitaires : certains helminthes présentent une résistance exemplaire (Taenia et Ascaris), d'autres ont une durée de vie beaucoup plus courte.

Les études se rapportant aux végétaux peuvent être subdivisées en 2 parties :

- la première traitant plus particulièrement du problème des fourrages et des prairies avec essentiellement la recherche d'oeufs de T. saginata.

- la seconde s'intéressant aux végétaux destinés à l'alimentation humaine avec la recherche des oeufs d'Ascaris.

. Alimentation animale et oeufs de Tenia

Différentes études (BUERGER 1984, KOWAL 1985) montrent que sur des prairies où sont effectués des épandages de boues et d'eaux usées, des oeufs de Tenia peuvent être retrouvés. Leur survie est inversement proportionnelle à la température, si les températures sont supérieures à 0 °C. Ces oeufs peuvent survivre de 6 à 12 mois en atmosphère humide, en période de sécheresse leur survie n'excède pas 2 mois (Tableau n° 12).

PAYS	TYPE DE PRELEVEMENT	TEMPERATURE OU SAISON	SURVIE (JOURS)	REFERENCES
ALLEMAGNE · RDA · RFA	HERBE ENSILAGE PRAIRIE PRAIRIE	10 °C PRINTEMPS PRINTEMPS	180 80 160 108	HAJDOK <u>et al.</u> * (1969) ENIGK <u>et al.</u> * (1969) LIEBMANN (1964) WILKENS (1981)
AUSTRALIE	HERBE PRAIRIE	JUILLET-SEPTEMBRE	57 100	PENFOLD <u>et al.</u> (1936) PENFOLD (1937)
CANADA	HERBE HERBE	ETE AUTOMNE	9 34	GRAHAM (1981)
DANEMARK	HERBE HERBE	ETE HIVER	58 159	JEPSEN <u>et ROTH*</u> (1949)
GRANDE BRETAGNE	PRAIRIE	AUTOMNE	30	Mc PHERSON <u>et al.</u> (1978)
KENYA	PRAIRIE		365	DUTHY <u>et VAN SOMEREN</u> (1947)
URSS	FOIN HERBE HERBE PRAIRIE PRAIRIE PRAIRIE PRAIRIE PRAIRIE	HIVER HIVER (-16 °C à 10 °C) ETE PRINTEMPS PRINTEMPS ETE AUTOMNE HIVER	210 30 60 50 - 200 77 - 93 35 - 45 80 - 97 128 - 142	SHEPELEV* (1961) ABBASOV* (1965) RABAGEWA* (1966) ARKHIPOVA* (1977)
USA	FOIN PRAIRIES	1 - 30 °C	22 180	LUCKER <u>et DOUVRES*</u> (1960) CHANDLER <u>et READ</u> (1961)

Tableau n° 12 : Durée de survie des oeufs des Taenia sur herbe et ensilage

* Cité dans FEACHEM et al., (1983).

. Survie des oeufs d'helminthes sur les végétaux destinés à la consommation humaine

Les informations concernant la contamination des fruits et légumes par les oeufs d'helminthes à la suite d'irrigation avec des eaux usées ou après utilisation de différents agents fertilisants naturels sont peu nombreuses, peu récentes, en provenance essentiellement des pays de l'Est et de l'Extrême Orient (Tableau n° 13).

PAYS	TYPE D'IRRIGATION OU DE FERTILISATION	VÉGÉTAUX	TYPE ET NIVEAU DE CONTAMINATION	RÉFÉRENCES
CHINE	FUMIER + MATIÈRES FÉCALES + SOL	CHOU CHINOIS LAITUE ÉPINARD RADIS TOMATE CÉLERI, CHOU HARICOT	100 % ÉCHANTILLONS POSITIFS	ISHIKAWA (1929)
	MATIÈRES FÉCALES HUMAINES		92 % 54 % 43 % 0 % 0 %	YOSATO et SUMI (1932) WINFIELD et YAO (1937)
COREE DU SUD	GADOUE	LÉGUMES VERTS CAROTTE	38 OEUFES <u>ASCARIS</u> /100 G 0,6 OEUFES <u>ASCARIS</u> /100 G	CHOI (1970)
URSS	EAU USÉE JUSQU'À RÉCOLTE EAU BRUTE	CONCOMBRE, TOMATE CAROTTE TOMATE, CONCOMBRE	36 % OEUFES <u>ASCARIS</u> VIABLES 20 OEUFES/100 G VÉGÉTAUX	VASSILKOVA* (1941)
	EAU USÉE APRÈS SÉDIMENTATION	TOMATE, CONCOMBRE	3 OEUFES/100 G VÉGÉTAUX	VASSILKOVA* (1950)
	EAU BRUTE	LÉGUMES	98 % POSITIFS (<u>ASCARIS</u> 94 % <u>TRICHURIS</u> 5 % <u>ENTEROBIUS</u> 1 %)	BIZIULEVICIUS* (1954)
	PAS IRRIGATION APPLICATION GADOUE PAS APPLICATION GADOUE	LÉGUMES FRUITS FRUITS	9 - 16 % POSITIFS 71 % POSITIFS 25 % POSITIFS	BIZIULEVICIUS* (1954) ROSENBERG* (1960)
USA	EAU USÉE	LÉGUMES CHOU SALADE CAROTTE RADIS ÉPINARDS	6 % POSITIFS 0 % 2 % POSITIFS	DUNLOP et WANG (1961)
			2 - 4,1 % POSITIFS 2,1 - 4,3 % POSITIFS 9,8 % POSITIFS	RUDE et al. (1984)

Tableau n° 13 : Niveau de contamination de végétaux comestibles

* Cité dans FEACHEM et al., (1983).

Ainsi les travaux de VASSILKOVA (1941-1950), BIZIULEVICIUS (1954), ROMANENKO (1969), ROSENBERG (1960) cités par FEACHEM et al. (1983) font état d'une contamination importante et systématique de divers végétaux comestibles après irrigation en surface avec une eau usée brute ou application de gadoue. Le taux de contamination chute si l'irrigation ou l'application de gadoue est stoppée, si l'eau usée brute subit une sédimentation, si l'irrigation est effectuée par voie souterraine. En Asie, les résultats sont parfois contradictoires ; ainsi ISHIKAWA (1929), YOSATO et SUMI (1922) ont des pourcentages de positivité en oeufs d'Ascaris s'échelonnant de 17 % à 100 % selon les légumes, alors que WIENFIELD et YAO (1937) n'ont retrouvé aucun oeuf d'Ascaris après recherche dans les eaux de lavage de 274 kg de légumes provenant d'un marché local.

Quant aux travaux américains, ceux de DUNLOP et WANG (1961) font état de 6 % de légumes contaminés avec des oeufs d'Ascaris et ceux de RUDE et al. (1984) de 0 % pour les choux à 9,8 % pour les épinards.

Une mention spéciale doit être faite pour les travaux réalisés avec contamination artificielle. Ainsi, RUDOLFS et al., (1951) ont arrosé laitues et tomates avec des suspensions contenant 20 000 oeufs d'Ascaris de porc par millilitre (Tableau n° 14).

TOMATES			LAITUE		
DÉLAI APRÈS CONTAMINATION (JOURS)	NOMBRE OEUFS ASCARIS / TOMATE	VIABILITÉ (%)	DÉLAI APRÈS CONTAMINATION (JOURS)	NOMBRE OEUFS ASCARIS / PLANT	VIABILITÉ (%)
1	3.700	98 %	3	17.250	38 %
19	760	31 %	19	10.300	7 %
27	290	0 %	35	3.150	0 %

Tableau n° 14 : Survie des oeufs d'Ascaris suum sur tomates et laitues (d'après RUDOLFS et al., 1951)

Sur les tomates et laitues artificiellement contaminées, il est constaté une chute importante du nombre des oeufs après 27 à 35 jours. L'étude menée secondairement sur la viabilité de ces oeufs montre qu'elle a entièrement disparu au bout de ce délai. Il faut toutefois souligner que la période de développement des laitues peut être inférieure à 35 jours et selon les auteurs, la transmission d'oeufs pourrait donc s'effectuer par cette voie. Cependant, il faut préciser que cette étude a été réalisée dans un pays à climat sec, les conclusions ne peuvent en aucun cas être extrapolées à des contrées soumises à un climat tropical humide.

JACKSON et al., (1978) ont analysé des radis (feuilles et racines) et des laitues irrigués avec une eau usée contaminée artificiellement avec des oeufs d'Ascaris de porc (Tableau n° 15).

DÉLAI APRÈS CONTAMINATION (JOURS)	NOMBRE OEUFs ASCARIS / 50 FEUILLES DE LAITUE	NOMBRE OEUFs ASCARIS / 50 FEUILLES DE RADIS	NOMBRE OEUFs ASCARIS / 10 RADIS	NOMBRE OEUFs ASCARIS SOL
1	520	11.400	3.000	592
6	150	3.000	430	67
21	0	0	0	60

Tableau n° 15 : Nombre d'oeufs d'Ascaris retrouvés sur les radis, laitues et sols (d'après JACKSON et al., 1978).

Des oeufs d'Ascaris sont retrouvés seulement pendant 6 jours sur les légumes et 21 jours dans le sol. Les auteurs insistent sur le fait que la persistance des oeufs est très liée aux conditions climatiques et que les techniques de quantification des oeufs ne sont pas d'une grande sensibilité pour les faibles valeurs. Ainsi dans un travail de contamination artificielle réalisé sur des fraises, ils montrent que pour des concentrations en oeufs inférieures à 1 oeuf par gramme, les résultats sont faussement négatifs dans 4 expériences sur 10 (Tableau n° 16).

NOMBRE D'OEUFS ENSEMENCES / G	% DE RECUPÉRATION		FAUX NEGATIFS
	VALEURS MOYENNES	VALEURS EXTRÊMES	
0,8	20	0 - 100	4/10
8	14	8 - 28	0/10
80	26	15 - 39	0/10

Tableau n° 16 : Récupération d'oeufs d'Ascaris
(d'après JACKSON et al, 1978).

En conclusion, malgré la dispersion des résultats obtenus, il faut cependant souligner la résistance importante de l'oeuf d'Ascaris sur le sol et les végétaux par comparaison aux divers types de pathogènes excrétés par l'homme ou l'animal (Tableau n° 17).

TYPE DE PATHOGENE	SURVIE (JOUR)			
	dans le sol		sur les récoltes	
	Moyenne	Maximum	Moyenne	Maximum
Protozoaire	10	20	3	10
Bactéries (Salmonelle)	80	> 100	25	50
Virus	30	110	15	60
<u>Ascaris</u> (oeufs)	< 180	> 300	25	60

Tableau n° 17 : Survie des différentes catégories de pathogènes dans le sol et sur les récoltes
(d'après CROSS et STRAUSS 1985).

1.1.4.2 - Comportement des oeufs d'helminthes au cours des différents traitements d'épuration

Il est lié à certaines caractéristiques physico-chimiques de ces oeufs : aptitude à sédimenter, résistance au pH, à la température, aux divers agents chimiques.

Ainsi pour les principaux oeufs d'helminthes à partir de leur forme, leur taille et leur poids spécifique, leur vitesse de sédimentation peut être calculée en utilisant la loi de Stokes (Tableau n° 18).

PARASITE	TAILLE μm	FORME PRESUMEE	DENSITE	V_t cm/sec	VITESSE SEDIMENTATION m/h
<u>Ascaris lumbricoïdes</u>	55 x 40	sphérique	1,11	0,0181	0,65
Ankylostome	60 x 40	sphérique	1,055	0,0108	0,39
<u>Taenia saginata</u>	36	sphérique	1,1	0,0074	0,26
<u>Trichuris trichiura</u>	22 x 50	cylindrique	1,15	0,04261	1,53
<u>Schistosoma</u>	50 x 150	cylindrique	1,18	0,3386	12,55

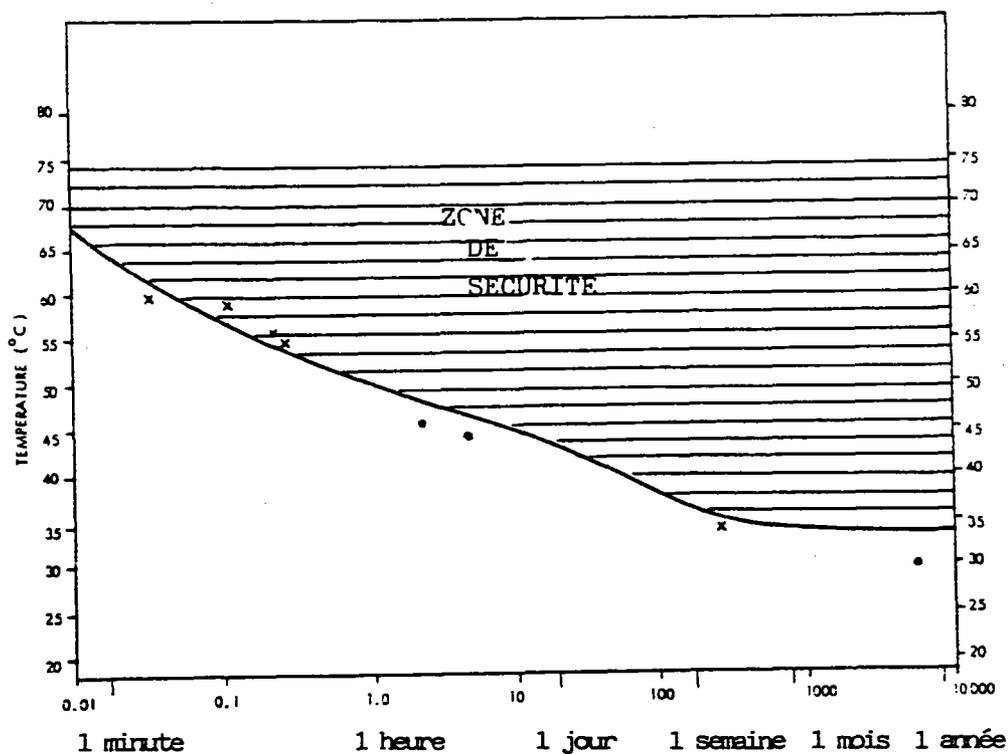
Tableau n° 18 : Vitesse de sédimentation théorique des oeufs d'helminthes dans l'eau (d'après SHUVAL 1977).

Il faut souligner les grandes variations des vitesses de sédimentation avec 12,55 m/h pour les oeufs de Schistosoma et seulement 0,26 m/h pour les oeufs de Taenia qui sont à prendre en compte dans des systèmes de traitement d'eaux usées avec étape de sédimentation (Tableau n° 19).

TYPE D'OEUF	DUREE DE SEDIMENTATION (en heure)	% D'ELIMINATION DES OEUF DE L'EAU	REFERENCE
<u>T. saginata</u>	2 3	68 89	LIEBMANN 1964
<u>T. saginata</u>	1-2	98	NEWTON <u>et al.</u> 1949
<u>T. saginata</u>	3	100	CRAM 1943
<u>Ascaris</u>	0,5	100	CRAM 1943

Tableau n° 19 : Vitesse de disparition des oeufs d'helminthes de l'eau usée

De même l'étude de l'influence de la température a permis de définir en fonction du temps une "zone de sécurité" (Figure n° 1).



x : 100 % destruction des oeufs d'Ascaris
o : Moins de 100 % de destruction des oeufs d'Ascaris

Figure n° 1 : Influence du temps et de la température sur la survie des oeufs d'Ascaris (d'après FEACHEM et al., 1983).

Enfin les oeufs d'Ascaris présentent une grande résistance à divers composés chimiques (Tableau n° 20).

REFERENCE	CONDITIONS	RESULTATS
CRAM 1943	. 10 h. dans l'acide carbonique à 5 % . 5 h. dans le Crésol à 3 %	Perte de la possibilité de s'embryonner
GALLI-VALERIA 1950 cité dans THEVENOT 1988	. Acides à 50 % (H_2SO_4 , CH_3COOH) . Acétate de cuivre à 50 % . Formol à 50 %	Peut s'embryonner
HAYS 1977	. Formol à 10 %	Larve observée pendant plusieurs jours

Tableau n° 20 : Résistance des oeufs d'Ascaris à divers produits chimiques in vitro.

En fait, ces milieux chimiques hostiles ont été expérimentés in vitro, ce qui ne permet pas une extrapolation sur le terrain.

Pour la chaux largement utilisée pour stabiliser les boues, l'action ovicide est fonction du pH et du type d'oeufs d'helminthes.

Pour les oeufs de Tenia, à pH 11, et après un temps de contact de 48 heures, il semble se produire une altération de la coque sans toutefois compromettre la viabilité de l'embryon (CREWE et OWEN 1979). En revanche à pH 11,5, les oeufs peuvent être altérés.

Les études menées par STORM et al., (1981) ont montré une décroissance de 78 % d'oeufs d'Ascaris viables au bout de 2 à 4 mois de stockage dans des boues stabilisées à la chaux et celles de HUGUES et al., (1985), une réduction de 96 % de l'infectivité testée par passage sur l'animal dans les mêmes conditions. Enfin une étude plus récente (SCHUH et al., 1985) démontre que la destruction des oeufs d'Ascaris ne serait obtenue qu'après 2 mois à pH 12,5 (Tableau n° 21).

TEMPS D'EXPOSITION (semaines)	pH INITIAL 7,7	pH INITIAL 10,6	pH INITIAL 12,5
1	41	39	39
3	50	44	39
5	54	44	38
8	43	45	17
9	48	44	3,5
13	52	57	4,5
16	56	48	1,5

Tableau n° 21 : Efficacité du chaulage sur le développement des oeufs d'Ascaris suum (en % des oeufs développés au stade larvaire après 4 semaines d'incubation à 19 °C)
(d'après SCHUH et al., 1985).

En fonction de ces données et de mesures effectuées sur le terrain, il est possible de définir les performances des différentes étapes de l'épuration des eaux usées dans l'élimination des micro-organismes pathogènes (Tableau n° 22).

PROCESSUS DE TRAITEMENT	VIRUS	BACTERIES	PROTOZOAIRES	HELMINTHES
Sédimentation primaire	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Fosses septiques	0 - 1	1 - 2	1 - 2	1 - 2
Lits bactériens	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 1
Boues activées	1 - 2	2 - 3	1 - 2	1 - 2
Bassins de stabilisation (20 j - 4 bassins)	2 - 4	*4 - 6	4 - 6	4 - 6

4* = 99,99 % de réduction

Tableau n° 22 : Efficacité des différents procédés de traitement sur la disparition des pathogènes entériques (en unité Log 10) (d'après SHUVAL et al., 1986).

2 - EVALUATION DU RISQUE INFECTIEUX

Avant de tenter d'évaluer le risque, il est nécessaire de le définir.

2.1 - Définition et caractéristiques du risque

Trop souvent, l'isolement d'agents pathogènes (parasites, bactéries, virus), dans les boues, dans l'eau d'irrigation, sur les sols ou les récoltes est pris comme l'indication d'un risque pour la santé de ceux qui entreraient en contact avec l'élément souillé (BOUTIN 1981 - 1982).

Ce type de démarche est jugé abusif par les épidémiologistes (BLUM et FEACHEM, 1985 ; PROST 1987) qui préfèrent distinguer les niveaux de risque suivants :

- le risque théorique évaluant une présence-absence de micro-organismes est une étape d'indentification du risque, mais ne doit pas être assimilé au risque ;

- le risque expérimental intègre la notion de quantité suffisante de micro-organismes dans le milieu à une concentration compatible avec la dose infectante de chacun d'eux.

La dose minimale infectante (D.M.I.) est une notion de nature statistique, variable selon les individus et les circonstances. Les oeufs d'helminthes sont des micro-organismes pathogènes à faible D.M.I. (BOUTIN 1982). Si PIKE et al., (1983) rapportent que la D.M.I. est en moyenne de 100 pour les oeufs d'Ascaris, d'autres auteurs observent qu'un seul oeuf peut infester s'il est ingéré par l'homme (KOWAL 1985 et SHUVAL et al., 1986). Pour GUNNERSON et al., (1985), la D.M.I. varierait de 1 à 100 oeufs. Cependant, comme les symptômes des helminthiases sont liés à la dose, les pauci-infestations sont souvent asymptomatiques.

A l'inverse, dans la plupart des infections bactériennes, la dose minimale infectante est beaucoup plus importante. Par exemple pour les salmonelles, KOWAL (1985) indique une concentration de 10^5 et 10^8 et GUNNERSON et al., (1985), de 10^3 à 10^9 . Les valeurs de la D.M.I. de différents agents pathogènes sont rassemblées dans le tableau n° 23.

AGENTS	LATENCE	SURVIE	MULTIPLICATION DANS L'ENVIRONNEMENT	DOSE INFECTANTE DI 50 *
VIRUS				
Enterovirus (y compris Polio, Echo et Coxsackie)	0	3 mois	non	< 100
Hépatite A	0	?	non	?
Rotavirus	0	?	non	?
BACTERIES				
Colibacilles	0	3 mois	oui	$\pm 10^9$
<u>Salmonella</u> typhi	0	2 mois	oui	10^7
Autres <u>Salmonella</u>	0	2 - 3 mois	oui	10^6
<u>Shigella</u>	0	1 mois	oui	10^4
<u>Campylobacter</u>	0	7 jours	oui	10^6
Choléra	0	1 mois	oui	$> 10^8$
<u>Yersinia</u> <u>enterocolitica</u>	0	3 mois	oui	10^9 ?
Leptospires	0	7 jours	non	faible
PARASITE				
Amibe dysentérique	0	25 jours	non	10 à 100
<u>Giardia</u>	0	25 jours	non	25 à 100
<u>Balantidium</u> <u>Coli</u>	0	20 jours ?	non	25 à 100
<u>Ascaris</u>	10 jours	> 1 an	non	quelques unités
Ankylostome	7 jours	3 mois	non	1
Anguillule	3 jours	3 semaines	oui	1
Trichocéphale	20 jours	9 mois	non	quelques unités
<u>Hymenolepis</u>	0	10 jours	non	1
<u>Taenia</u>	2 mois	9 mois	non	1
<u>Fasciola hepatica</u>	2 mois	4 mois	oui	quelques unités
Autres douves	6 à 8 semaines	vie de l'hôte	oui	quelques unités

* DI 50 : dose suffisante pour provoquer l'apparition de symptômes cliniques chez 50 % des individus soumis au test.

Tableau n° 23 : Caractéristiques épidémiologiques des principaux agents pathogènes des eaux usées (valeurs moyennes tirées de la bibliographie)
(d'après PROST et BOUTIN 1989).

- Enfin le risque réel observé par l'épidémiologiste est le risque de contracter la maladie. A ce niveau vont intervenir des déterminants d'environnement physique et social, des notions d'immunité individuelle acquise, un ensemble de facteurs de susceptibilité ou de résistance qui vont modifier l'expression du risque expérimental.

A partir de ces informations, les propriétés de l'hôte et de l'agent pathogène influençant la séquence des événements entre la présence de micro-organismes dans les excréta et une infection humaine mesurable attribuable à cette présence, peuvent être regroupées sur la figure n° 2 :

Charge excrétée (quantité de pathogènes excrétés)

latence (= temps entre excrétion et infectivité)
multiplication (= capacité à se multiplier dans environnement)
persistance (= survie des pathogènes dans environnement).

Dose infectieuse appliquée sur sol, dans eau

persistance (survie des pathogènes au traitement d'épuration)
hôte intermédiaire
type de pratique (irrigation-épandage...)
type d'exposition (voie digestive, voie aérienne...).

Dose infectieuse atteignant l'homme

. type et niveau d'immunité humaine
. comportement humain.

Risque de maladie ou d'infection

autres voies de transmission

Impact sur la santé publique.

Figure n° 2 : Etapes entre l'excrétion d'agents pathogènes et la pathologie chez l'homme

(d'après BLUM et FEACHEM 1985, BLUMENTHAL 1988).

2.2 - Enquêtes épidémiologiques

Elles ont étudié le risque pour différentes catégories de personne :

- personnel en contact avec eaux usées et boues résiduares, égoutiers, préposés de station de traitement, ouvriers des champs d'épandages... et leur famille

- consommateurs de produits alimentaires (légumes irrigués avec eaux usées, bovins élevés sur pâtures irriguées par des produits d'épandage)

- résidents au voisinage d'installations utilisant des eaux usées.

Ces enquêtes épidémiologiques nombreuses ont fait l'objet d'une étude exhaustive par SHUVAL et al., (1986). Au niveau des affections virales et bactériennes, les observations épidémiologiques sont pauvres, l'épidémie de choléra à Jérusalem (1970) représentant l'exception. Au cours de cette épidémie, le vibron cholérique a été mis en évidence dans les eaux d'égout servant à l'irrigation et sur quelques légumes ; l'incidence de la maladie diminuant immédiatement après l'interdiction de l'irrigation par eaux d'égout et la destruction de toutes les surfaces maraîchères suspectes.

Au contraire des études bactériologiques et virologiques, les évidences épidémiologiques dans le domaine parasitaire (Nématodes essentiellement) sont nombreuses.

La survenue d'épidémie de cysticercoses chez les bovins élevés sur des pâtures irriguées par des produits d'épandages (eaux usées et boues résiduares) a été décrite par de nombreux auteurs.

Délai entre épandage et pâturage	Nombre de kystes de <u>Taenia saginata</u> / animal
5 - 6 semaines	141
9 - 10 semaines	11
18 semaines	0

Tableau n° 25 : Influence du temps d'attente entre l'épandage et le pâturage sur la prévalence de la cysticerose animale (selon WILKENS 1981).

Au Canada Mac ANINCH (1974), en Ecosse Mac PHERSON et al., (1978) et COLLIER et REILLY (1984), en Virginie HAMMERBERG et al., (1978), au Danemark NANSEN et HENRIKSEN (1986), ont fait des observations similaires quant à la survenue d'épidémies de cysticercozes chez le bétail.

De même, il est constaté une augmentation de l'ascaridiose chez les consommateurs de légumes verts irrigués avec des effluents bruts. Ainsi à Darmstadt, le maraîchage sur champs d'épandage entre 1945 - 1948 fut responsable d'une épidémie d'ascaridiose avec des prévalences supérieures à 90 %, tandis que des taux inférieurs à 5 % étaient observés dans les autres villes allemandes où les effluents étaient préalablement traités (Figure n° 3).

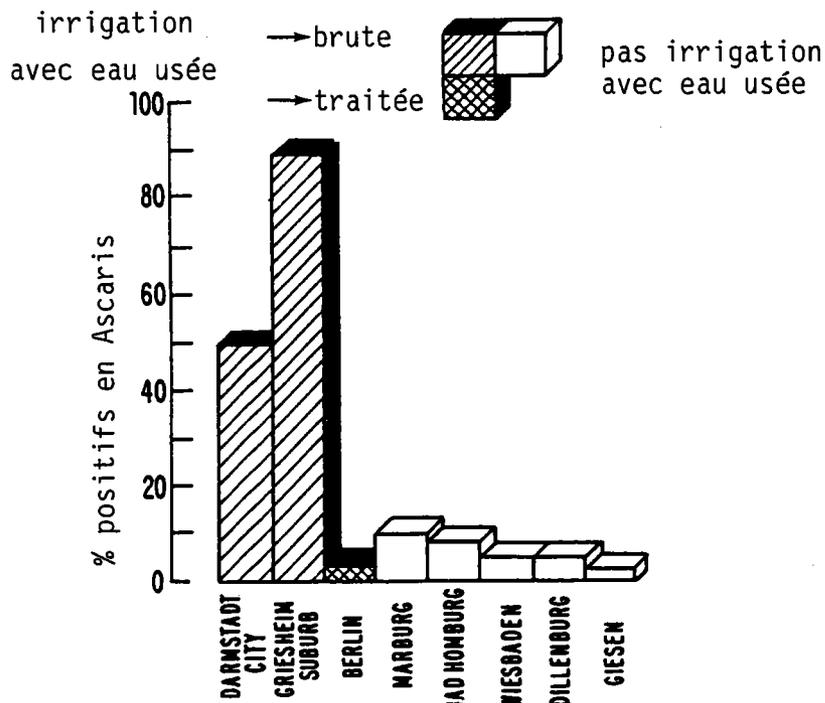


Figure n° 3 : Irrigation des cultures maraîchères avec des eaux usées et prévalence de l'ascaridiose à Darmstadt et dans différentes villes d'Allemagne (d'après BAUMHOGGER 1949)

Chez les prisonniers de Tara au sud du Caire, on a pu observer entre 1925 et 1930, la diminution progressive de la prévalence de l'ankylostomose et de la bilharziose avec la durée d'incarcération et en revanche une très forte incidence de l'ascaridiose (Figure n° 4).

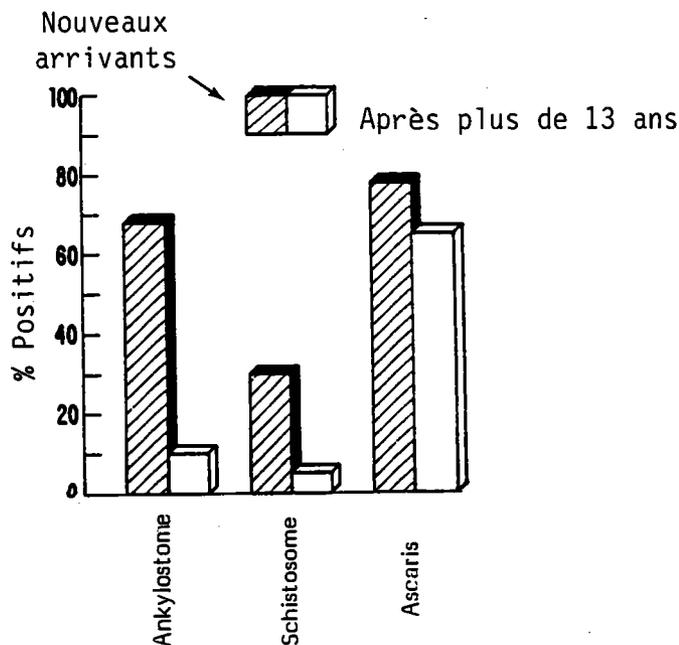


Figure n° 4 : Prévalence des infections parasitaires à la prison de Tara (d'après KHALIL 1931).

La régression des deux premières est due à l'isolement des prisonniers à distance des lieux de contamination et la forte incidence de la seconde à l'existence d'une ferme carcérale irriguée avec les effluents bruts de la prison et d'où provenaient les légumes consommés. Enfin à Jérusalem, la prévalence de l'ascaridiose était d'environ 35 % avant 1947. A cette date, la coupure politique du pays sépara la ville de sa source d'approvisionnement maraîcher irriguée par un des principaux égouts collecteurs. De 1948 à 1966, l'ascaridiose devint rare (moins de 1 % d'individus atteints). Le retour de la région sous une autorité unique en 1967 ayant rétabli les anciens circuits commerciaux, on assista entre 1968 et 1970 à un retour de l'ascaridiose avec environ 12 % d'individus infectés (Figure n° 5).

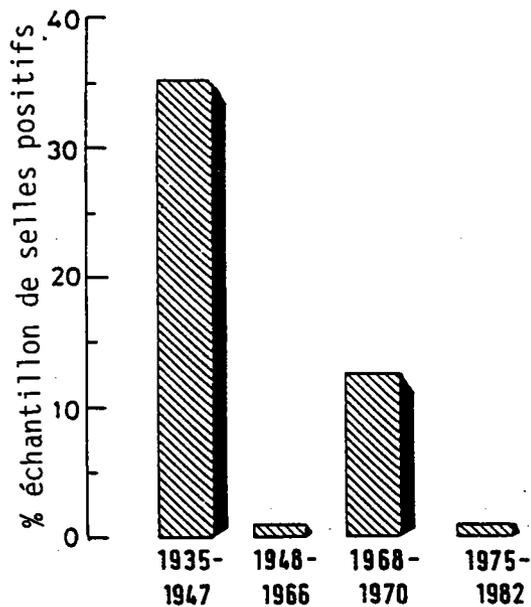


Figure n° 5 : Relation entre les pourcentages d'échantillons de selles positifs en Ascaris dans la population de Jérusalem et l'irrigation maraîchère avec des eaux brutes (d'après JJUMBA MUKABU et GUNDERS 1971).

En fonction de ces informations, une nouvelle hiérarchie des risques sanitaires a été établie (Tableau n° 26).

CLASSE DE PATHOGÈNES	AUGMENTATION DE FRÉQUENCE D'INFECTION OU DE MALADIE
NÉMATODES INTESTINAUX . <u>ASCARIS</u> . <u>TRICHURIS</u> . <u>ANKYLOSTOME</u> . <u>NECATOR</u>	ÉLEVÉE
INFECTIONS BACTÉRIENNES . DIARRHÉES : CHOLERA, TYPHOIDE	+ BASSE
INFECTIONS VIRALES . DIARRHÉES . HÉPATITE A	MOINDRE
INFECTIONS A TRÉMATODES CESTODES . SCHISTOSOMIASE . CLONORCHIASE . TAENIASIS	ÉLEVÉE À NULLE; DÉPENDANT DES CIRCONSTANCES LOCALES

Tableau n° 26 : Risques sanitaires relatifs liés à l'utilisation d'eaux usées en agriculture et aquaculture (Rapport ENGELBERG 1985).

3 - LES DIFFÉRENTES LEGISLATIONS

Diverses réglementations ont été élaborées depuis une vingtaine d'années au sujet de l'utilisation des boues résiduelles et des eaux usées.

* En ce qui concerne les boues de station d'épuration, une alternative s'offre aux utilisateurs potentiels :

- . soit employer des boues correctement pasteurisées
- . soit respecter un délai suffisant entre l'épandage des boues et la mise en culture ou en pâturage.

La première option avec l'étape coûteuse de pasteurisation a été rarement choisie.

La deuxième option a fait l'objet d'une directive européenne (86/278 EEC). Cette directive instaure un délai minimum de 3 semaines entre l'épandage des boues et la mise en pâture du bétail. Elle recommande une période de 10 mois de délai dans le cas de cultures de fruits et de légumes en contact direct avec le sol exception faite des arbres fruitiers.

* Pour les réutilisations des eaux usées traitées, les normes microbiologiques étaient jusqu'ici très restrictives. Ainsi la norme californienne 1968 impose pour l'irrigation de surface des produits maraîchers une teneur inférieure à 2,2 coliformes totaux par 100 ml et moins de 23 coliformes totaux par 100 ml pour l'irrigation des terrains de golf, des parcs publics, des pâturages.

En 1971, un groupe d'experts de l'O.M.S. recommandait que l'irrigation de produits maraîchers ne puisse se faire qu'avec des eaux dans lesquelles la concentration en coliformes totaux était inférieure à 100/100 ml dans 80 % des échantillons (O.M.S. 1973). Pour comparaison, il faut rappeler que la norme de qualité recommandée par l'O.M.S. (1985) pour l'eau de boisson est de 3/100 ml et que la réglementation française des eaux de baignade prévoit des nombres guides de 500 coliformes totaux et 100 coliformes fécaux/100 ml avec des tolérances jusqu'à respectivement 10.000 et 2.000 / ml.

Les réglementations apparaissent à la fois inutilement sévères en matière bactérienne et gravement insuffisantes dans le domaine des parasites. Par ailleurs, elles sont largement ignorées car ces niveaux ne peuvent être atteints que par des technologies hors de portée pour des raisons techniques ou financières. De plus, une étude réalisée sous l'égide de l'O.M.S. a montré que plus de 60 % des rivières d'Europe, d'Asie et d'Amérique du sud faisant partie d'un réseau de surveillance depuis 10 ans véhiculaient plus de 10^3 coliformes fécaux/100 ml (WHO 1987).

Dans ces conditions, il devenait illogique d'exiger pour les eaux usées à usage agricole un degré de pureté supérieur à celui que l'on exige des eaux de baignade ou à celui que l'on accepte d'eaux dites naturelles.

De plus les diverses réglementations existantes ignoraient le risque parasitaire alors que les études épidémiologiques (§ 2.2) ont montré qu'il est, sinon le seul, du moins le principal risque auquel l'utilisation d'eaux usées expose les populations (IRCWD 1985).

C'est sur ces bases qu'un groupe d'experts réuni à Englelberg (1985), se référant à l'évidence épidémiologique et à un modèle d'évaluation du risque, a reconnu l'importance des critères parasitologiques en recommandant pour une irrigation non restreinte une eau renfermant moins d'un oeuf viable de Nématodes intestinaux par litre et moins de 1.000 coliformes fécaux par 100 ml.

En 1987, un groupe scientifique de l'O.M.S. a décidé de réviser les recommandations de 1971 (O.M.S. 1973) et de proposer en se basant sur le rapport Engelberg des directives de qualité nouvelles pour l'utilisation agricole des eaux usées (WHO 1989).

Le tableau n° 27 résume ces propositions :

Conditions d'utilisation	Groupe exposé	Nématodes intestinaux (a) (moyenne arithmétique du nombre d'oeufs par litre)	Coliformes fécaux (moyenne géométrique du nombre par 100 ml)	Type de traitement susceptible de réaliser la qualité microbiologique
a) Irrigation de produits susceptibles d'être consommés crus, des terrains de sport et des parcs publics (b)	Travailleurs Consommateurs Public	≤ 1	≤ 10 ³	Lagunage en série étudié pour réaliser l'épuration biologique requise, ou autre traitement équivalent
b) Irrigation de céréales, cultures industrielles, arbres fruitiers (c), fourrages, pâtures reboisements	Travailleurs	≤ 1	pas de norme	Durée de rétention minimale 8-10 j. dans système de lagunage ou autre traitement équivalent au point de vue efficacité microbiologique
c) Irrigation par systèmes n'entraînant pas d'exposition des travailleurs ni du public (ex. : goutte à goutte souterrain, etc...)	Aucun	Pas de norme	pas de norme	Pré-traitement exigé par la technique d'irrigation et au moins sédimentation primaire

(a) Ascaris, Trichocéphales, Ankylostomes.

(b) Une norme plus stricte (< 200 coliformes fécaux par 100 ml) sera appliquée à l'irrigation des gazons, comme ceux des hôtels, avec lesquels le public peut être directement en contact.

(c) L'irrigation devra cesser deux semaines avant la cueillette des fruits et les fruits tombés au sol ne seront pas ramassés.
L'aspersion ne sera pas autorisée.

Tableau n° 27 : Directives de qualité microbiologique recommandées pour l'utilisation d'eaux usées en agriculture
(d'après WHO Technical report n° 778).

Si le groupe a rappelé que l'utilisation d'effluents bruts devait toujours être proscrite, il a aussi veillé à ce que les normes proposées soient réalisables avec des technologies simples. L'accent est mis sur la recherche et le dénombrement des Nématodes intestinaux avec comme représentant majeur l'oeuf d'Ascaris.

Pour répondre à cet objectif, il est à la fois nécessaire de bien connaître la structure de cet oeuf et de disposer de méthodes quantitatives.

4 - L'OEUF D'ASCARIS

4.1 - Structure

La microscopie électronique a apporté une meilleure connaissance de la structure de la coque des oeufs d'helminthes (ROGERS 1956) et également des mécanismes biochimiques présidant à la maturation de l'oeuf d'Ascaris. FAIRBAIRN (1957), FAIRBAIRN et PASSEY (1957) ont mis en évidence la structure trilamellaire de la coque de l'oeuf d'Ascaris. Ces couches sont de composition chimique différente : la couche externe est de nature protéique ; la couche intermédiaire de nature chitineuse et la couche interne de nature lipidique.

L'origine des 3 couches a été longtemps discutée : (WOTTGE 1937, JACOBS 1940, LOWRY et al., 1941). Les photographies des divers stades de développement des oeufs en microscopie électronique semblent montrer que toutes les couches sont d'origine utérine avec pour la couche lipidique une origine plus précisément vitelline. L'ordre de formation des couches actuellement admis est le suivant : dans un premier temps, la couche chitineuse se forme, ensuite apparaît un liseré lipidique et enfin la couche protéique la plus externe est synthétisée.

4.1.1 - Couche externe

Les limites externes de la couche protéique sont lisses chez l'oeuf immature et mammelonnées pour l'oeuf sorti du tractus génital de l'Ascaris femelle adulte. Ce mammelonnage résulterait à la fois de l'érosion du manteau protéique dans le milieu extérieur et de l'attaque de divers micro-organismes qui se fixent à la surface des oeufs (Figure n° 6).

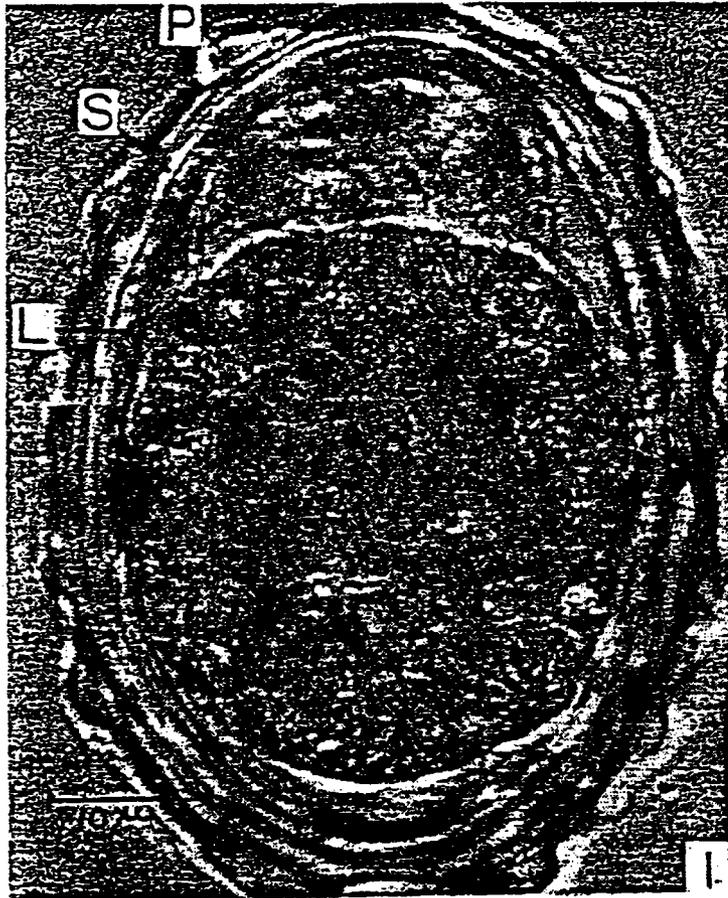


Figure n° 6 : L'oeuf d'Ascaris x 10.000.
(d'après WHARTON 1980)

Cette surface granuleuse présente en microscopie électronique une organisation régulière de fibres protéiques (WHARTON 1980) dont l'arrangement confère sa rigidité à l'oeuf d'Ascaris. Dans les oeufs matures, la limite entre cette couche et la suivante est franche et distincte. Elle est constituée par un matériel protéique réticulé et ramifié dans lequel WHARTON (1980) met en évidence des granulés de 150 microns de diamètre qui seraient les précurseurs des fibres protéiques.

4.1.2 - Couche chitineuse

C'est une couche extrêmement dure qui est responsable de la très grande résistance de l'oeuf dans le milieu extérieur (FAIRBAIRN 1957). Elle est constituée par un polymère à base d'ascarosides A, d'ascaroside B et de diascarosides dont les formules sont regroupées dans la figure n° 7.

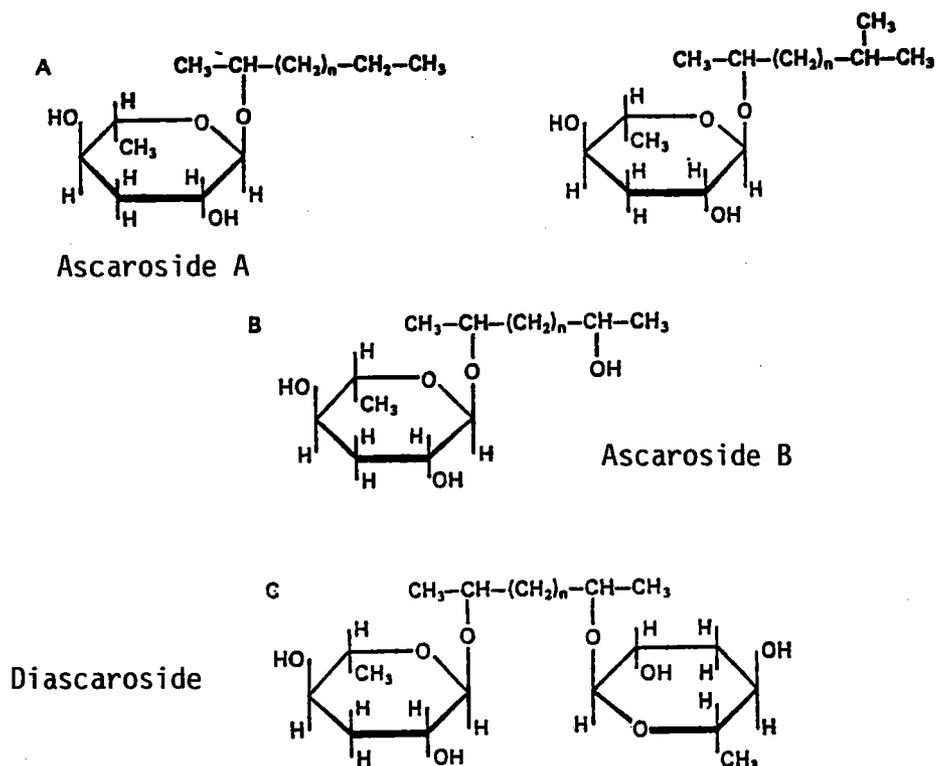


Figure n° 7 : Formules des ascarosides de la couche chitineuse. (d'après WHARTON 1980)

Ce polymère serait organisé en fibres de structure hélicoïdale selon des dispositions représentées dans la figure n° 8.

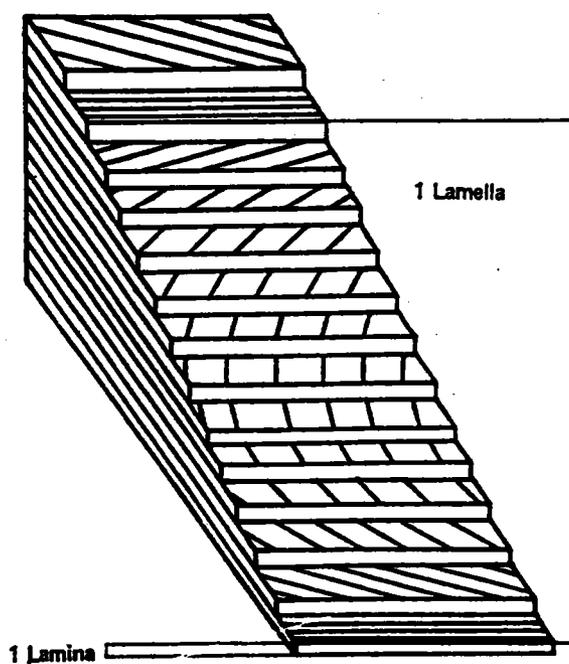
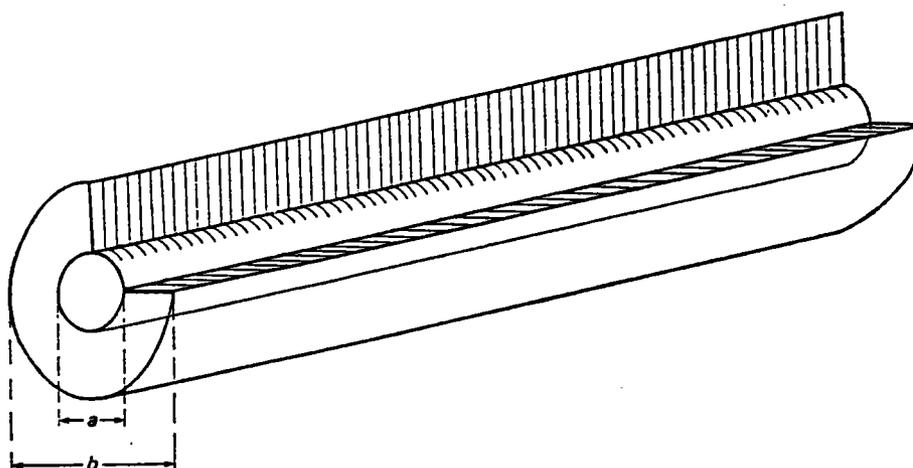


Figure n° 8 : Structure hélicoïdale des fibres chintineuses (d'après WHARTON 1980)

Cette disposition serait responsable de la résistance de l'oeuf aux acides et aux bases forts, ainsi qu'à diverses enzymes. La lyse de cette couche est réalisée par la larve qui possède une enzyme très spécifique, l'ascaridiase, lui permettant de franchir cette barrière avant l'éclosion (WARD et FAIRBAIRN 1972 ; JUSTUS et YVEY 1969 ; HINCK et YVEY 1976 ; RHODES et al., 1977 ; DUBINSKY et al., 1986). Cette couche d'une faible épaisseur (3 à 4 microns) est bordée d'une membrane interne contenant granules et fibrilles formant un réticulum lâche et irrégulier. A la surface de cette couche, au cours des premières étapes de formation de l'oeuf, des projections membranaires en U sont observables qui vont durcir ultérieurement (WHARTON 1980).

4.1.3 - La couche lipidique

Sa structure est mal connue car elle est soluble dans les réactifs utilisés en microscopie électronique. Seul un clivage de la couche chitineuse permettrait de l'atteindre par visualisation directe. Contrairement aux couches précédentes qui ont des fonctions de protection, son rôle serait de permettre les échanges gazeux entre le milieu extérieur et l'oeuf.

4.2 - Les techniques de mise en évidence

En raison de la faible concentration des parasites dans les boues et les eaux usées, la mise en oeuvre de méthodes d'enrichissement est indispensable.

Ces techniques de concentration se répartissent en 2 groupes :

- les méthodes d'enrichissement par flottaison dans lesquelles les éléments parasitaires se rassemblent dans la pellicule se formant en surface.

- les méthodes d'enrichissement par sédimentation dans lesquelles les éléments parasitaires se concentrent dans le sédiment.

Ces techniques dérivées dans la plupart des cas, de la coprologie parasitaire ont dû être modifiées pour la recherche des parasites dans les eaux usées et les boues. Une étude bibliographique préliminaire nous a permis d'apprécier l'adéquation des principales méthodes de concentration à l'analyse quantitative de ce type de prélèvement (Tableaux n° 28 et 29).

▽AUTEURS	REACTIFS	PARASITES ISOLES (OEUFS)	UTILISATION INITIALE	COMMENTAIRES
YOITA (1912)	Antiformine 25 %	Helminthes	Selles	Colmatage systématique des tamis
KAMADA (1923)	Antiformine 25 %	Helminthes	Selles	Culot trop chargé en matières organiques illisible
BRUMPT (1923)	Antiformine pure	Helminthes	Selles	Culot trop chargé illisible
FAUST-INGALLS (1946)	Eau glycérinée	Schistosomes	Selles	Quantification impossible de tous les oeufs d'helminthes
FAUST-INGALLS (1946)	Sulfate de Sodium Mouillant non ionique	Helminthes	Selles	Quantification possible de tous les oeufs d'helminthes
BAROODY-MOST (1946)	Eau à 40 °C	Schistosomes	Selles	Colmatage des filtres de gaze
JAHNES-HODGES (1947)	Alcool éthylique 10 %	Schistosomes	Selles	Quantification impossible
RITCHIE (1948)	Formol 10 % E ther	Ascaris	Selles	Adaptation possible pour boues et eaux usées
BLAGG et coll. (1955)	Merthiolate iode Formol	Helminthes	Selles	Adaptation possible pour boues et eaux usées
TELEMAN-RIVAS mod. BAILLENGER (1963)	E ther Tampon acéto acétique	Helminthes	Selles	Quantification possible pour boues et eaux usées
STEER et al. (1974)	Détergent Formol 10 %	Ascaris	Boues	Méthode longue. Quantification possible pour boues
CALAMEL (1984)	ZnSO ₄	Helminthes	Selles	Technique quantitative pour boues inadaptée pour eaux usées

Tableau n° 28 : Méthodes d'enrichissement par sédimentation
▽(d'après THEVENOT - LALLEMENT 1984)

▽AUTEURS	REACTIFS	PARASITES ISOLES (OEUFS)	UTILISATION INITIALE	COMMENTAIRES
WILLIS (1921)	NaCl 25 %	Hymenolepis	Selles	Quantification possible pour boues et eaux usées
JANECKSO-URBANYI (1931)	Iodomercurate de potassium	Helminthes	Selles	Quantification possible pour boues et eaux usées
FAUST et al. (1938)	ZnSO ₄ 33 %	Ascaris Monezia	Selles	Quantification possible pour boues et eaux usées
DUNN et al. (1955)	MgSO ₄	Ascaris Trichuris	Selles	Méthode longue. Quantification impossible
ISAEV et al. (1968)	Barbotage d'air (2 bars)	Ascaris	Sol	Moyens techniques lourds
WILEY - WESTERBERG (1969)	ZnSO ₄ 34 %	Ascaris	Boues	Quantification impossible
PETERSON (1971)	NaCl	Ascaris	Boues - composts	Quantification impossible
GRUMMET-HENRIKSEN (1977)	Barbotage d'air (5 bars)	Helminthes	Eaux usées	Moyens techniques lourds
MEYER et al. (1978)	Détergent anionique ZnSO ₄ 34 % Hypochlorite de sodium 2 %	Helminthes	Boues	Colmatage des filtres. Récupération difficile sur les membranes
DADA-LINDQUIST (1979)	NaOH 0,1N K ₂ Cr ₂ O ₇	Ascaris	Sol	Quantification possible. Identification difficile à cause de la coloration
ARTHER et al. (1981)	Saccharose	Helminthes	Boues	Quantification possible. Déformation des oeufs
TEICHMANN (1986)	NaNO ₃	Helminthes	Eaux usées	Méthode longue. Quantification possible

Tableau n° 29 : Méthodes d'enrichissement par flottation
▽(d'après THEVENOT - LALLEMENT 1984).

OBJECTIFS DU TRAVAIL

OBJECTIFS DU TRAVAIL

L'analyse bibliographique indique clairement les objectifs à atteindre. Il faut :

- d'une part disposer de processus de quantification des oeufs d'helminthes dans des écosystèmes variés.

- d'autre part être capable de déterminer la proportion d'oeufs viables dans ces échantillons.

Une fois les protocoles établis au laboratoire, ils ont été appliqués sur le terrain pour vérifier leur adéquation.

MATERIELS ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

1 - MATERIEL

Au niveau du matériel vont être décrits successivement les différents types de prélèvements qui ont été analysés, (eaux usées, boues, sols, végétaux), la suspension parasitaire employée ainsi que la cellule de comptage retenue.

1.1 - Différents types de prélèvements

1.1.1 - Prélèvements d'eaux usées et de boues

Ils ont été réalisés sur trois sites :

- la station d'épuration de Nancy-Maxéville représentative d'une unité de traitement de type urbain avec rejet dans la rivière Meurthe
- la station de Baccarat comme exemple d'une usine de traitement de type semi-rural avec rejet dans la rivière Meurthe
- le site de rejet en mer des boues de la station d'épuration de Barcelone comme modèle du comportement en milieu marin.

1.1.1.1 - Prélèvements effectués à la station d'épuration de NANCY-MAXEVILLE

i) Caractéristiques de la station

La station d'épuration de NANCY-MAXEVILLE de type biologique traite d'une part la pollution de 300.000 équivalents habitants et d'au-

ii) Types de prélèvement

Nous avons analysé deux types de prélèvements : prélèvements d'eaux et prélèvements de boues.

. Au niveau des prélèvements d'eau, les échantillons sont collectés en entrée et en sortie de la station d'épuration. Pour les eaux usées brutes, les échantillons sont prélevés avant tout prétraitement ; pour les eaux usées épurées, les prélèvements sont effectués dans le canal de rejet vers la Meurthe. Les échantillons d'eaux sont prélevés dans des bidons stériles d'un volume de 1 à 25 litres.

. Pour les boues, 3 types ont été choisis correspondant aux divers stades du traitement d'épuration : boues primaires, boues digérées, boues semi-déshydratées.

Les échantillons de boues primaires et digérées, liquides sont prélevés dans des flacons stériles de 500 ml.

Les prélèvements de boues semi-déshydratées se présentent sous forme de "gâteaux" de 1 kg à partir desquels sont réalisés des sous-échantillons de 10 à 100 g.

iii) Rythme de prélèvements

Pour les échantillons d'eaux deux rythmes de prélèvements ont été établis.

- des échantillons de 100 l d'eaux usées brutes et épurées recueillis quotidiennement à heure fixe pendant une semaine.

- des échantillons de 25 l d'eaux usées, d'entrée et de sortie collectés, à jour et heure fixes toutes les semaines pendant 42 semaines.

Pour les boues, dans un premier temps, un suivi quotidien à heure fixe pendant une semaine a été réalisé sur les trois types de boues en parallèle avec l'analyse des eaux résiduaires. Dans un deuxième temps, seules les boues déshydratées destinées à la valorisation agricole ont fait l'objet d'études ponctuelles. Des gâteaux de 1 kg subdivisés en 100 sous-échantillons de 10 g ont été analysés.

1.1.1.2 - Prélèvements effectués à la station d'épuration de BACCARAT

i) Caractéristiques de la station

Cette usine de traitement en zone semi-rurale de type biologique dessert environ 3.300 habitants. Ses principales caractéristiques sont regroupées dans la figure n° 9.

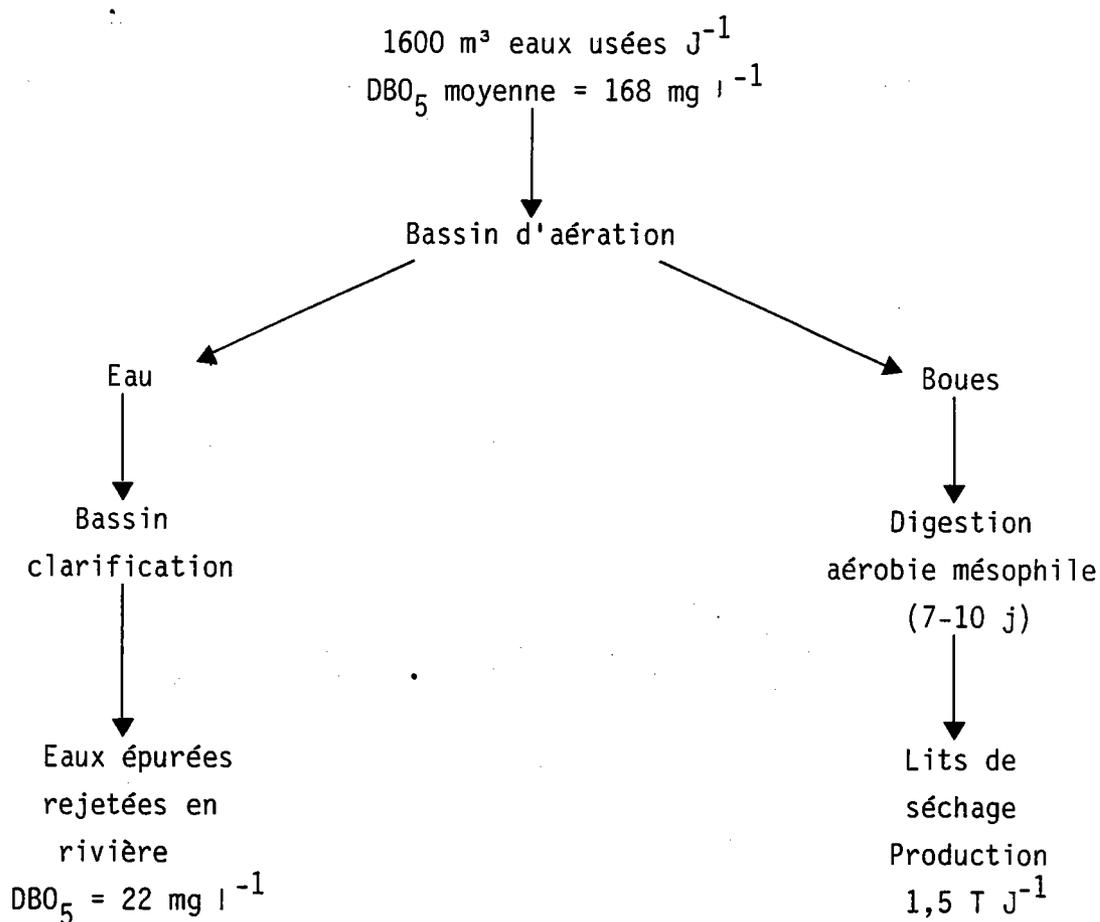


Figure n° 9 : Principales étapes du traitement de la station de BACCARAT

ii) Type et rythme de prélèvements

Les analyses ont été effectuées de façon ponctuelle :

- sur les eaux usées brutes (volume analysé 25 l)
- sur les eaux épurées surtout de la station avant rejet en rivière (volume analysé 25 l)
- sur les boues prélevées dans les lits de séchage.

Pour ce dernier type de prélèvements, les 6 lits de séchage dont la superficie varie de 60 à 95 m² ont été quadrillés selon un protocole défini par l'Institut de Recherches Hydrologiques (1987). Par lit de séchage 7 à 10 échantillons de 25 g ont été analysés.

1.1.1.3 - Prélèvements effectués sur le site de BARCELONE

i) Caractéristiques des lieux de prélèvements

Le site de Barcelone a été choisi à cause de la multiplicité des types de rejets polluants effectués en mer.

En effet, à ce niveau se jettent deux fleuves (rio Besos et rio Llobregat) dont les eaux sont extrêmement polluées, des eaux usées brutes, ainsi que des eaux usées traitées. De plus, les boues issues de la station d'épuration (300 000 m³ eaux usées / jour) sont rejetées par un émissaire profond à 4,5 km des côtes.

Trois zones ont été étudiées représentant 12 points de prélèvements (Figure n° 10)

- . la zone du Besos (zone A)
- . la zone de l'émissaire (zone B)
- . la zone de Barcelonetta (zone C)

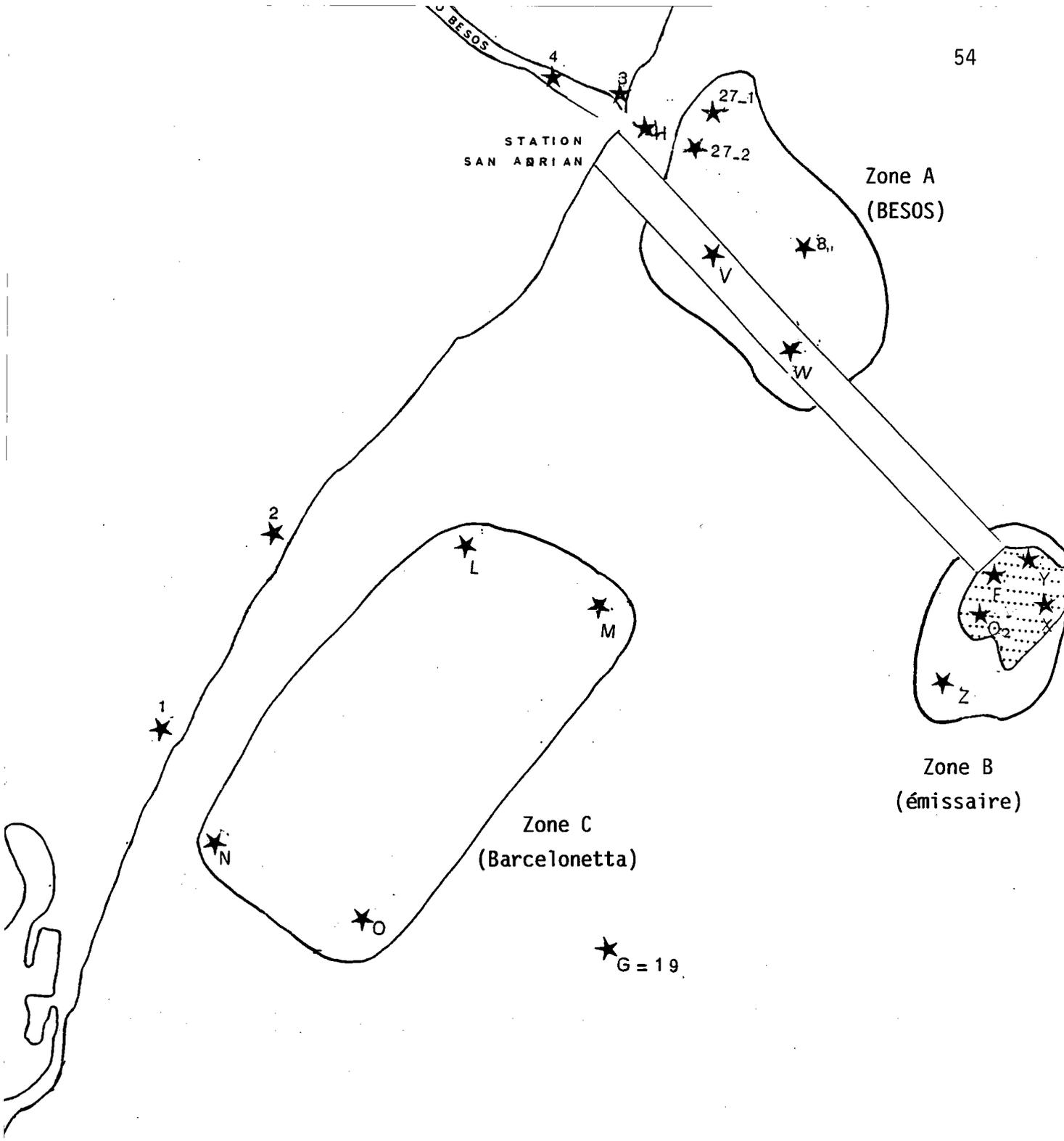
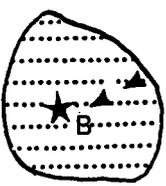


Figure n° 10 : Les différentes zones de prélèvements sur le site de Barcelone

★ A



DEPOT DE SEDIMENTS

1 K M

La position exacte des points de prélèvements a été obtenue à l'aide du satellite Transit (Tableau n° 30).

Points de prélèvement	Latitude N	Longitude E	Profondeur (mètres)
ZONE BESOS			
Echantillon 8	41°24.69'	02°14.72'	30
Echantillon 27	41°24.94'	02°14.19'	10
Echantillon V	41°24.65'	02°14.20'	16
Echantillon W	41°24.31'	02°14.34'	29
ZONE EMISSAIRE			
Echantillon O ₂	41°23.22'	02°15.15'	50
Echantillon X	41°23.40'	02°15.40'	50
Echantillon Y	41°23.10'	02°15.35'	50
Echantillon Z	41°23.10'	02°15.40'	52
ZONE BARCELONETTA			
Echantillon L	41°23.65'	02°13.12'	20
Echantillon M	41°23.21'	02°13.83'	40
Echantillon N	41°22.70'	02°11.80'	19
Echantillon O	41°21.90'	02°12.65'	40

Tableau n° 30 : Position des points de prélèvements

ii) Types et rythme de prélèvements

Les sédiments ont été prélevés à partir du navire océanographique "Garcia del Cid", d'une part à l'aide de la double cuillère de Van Veen, d'autre part grâce à un appareillage de type REINECK permettant de prélever un parallélépipède de sédiments.

Une campagne préliminaire a été réalisée en mai 1987, afin de choisir la technique de concentration la mieux adaptée. Ensuite trois campagnes de prélèvements systématiques ont été effectuées au cours des mois de novembre 1987, mars et juin 1988.

1.1.2 - Prélèvements de sol

Trois types de sols artificiellement contaminés avec des oeufs d'Ascaris de porc ont été analysés :

- un sol sableux à granulométrie fine
- un sol sableux à granulométrie grossière
- un terreau végétal

Deux expositions climatiques ont été testées : soleil et ombre.

Chaque type de sol était placé dans des pots d'une surface de 80 cm², l'épaisseur de terre était de 10 cm.

Les analyses ont été effectuées après 20, 60, 95 jours d'exposition sur des prélèvements réalisés à partir de la surface du sol et à 2 cm de profondeur.

1.1.3 - Prélèvements de végétaux

Trois variétés de légumes ont été cultivées sur du terreau dans des bacs de 40 x 30 x 15 cm.

- la salade (Lactuca sativa var. capitata) dont la partie aérienne est consommée crue
- le radis (Raphanus sativus) dont la tubercule est consommé cru
- la ciboulette (Alium schoenoprasum), végétal à repousse rapide servant de condiment.

La contamination a été réalisée par arrosage, avec une suspension d'oeufs d'Ascaris de porc, des plants à raison de 10⁴ oeufs/m².

Des analyses de feuilles, de tubercules, de sol (surface, profondeur 3 cm) ont été effectuées à j 0, j + 10, j + 45, j + 60.

Le choix de ces trois types de prélèvements devrait permettre de fournir des informations sur les risques par contamination directe sur

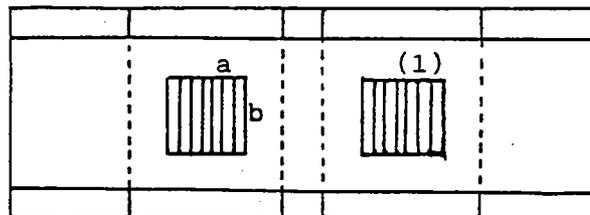
ces feuilles, par dépôt au niveau des organes souterrains après percolation dans le sol.

1.2 - Le matériel parasitaire

L'oeuf d'Ascaris suum a été retenu car il constitue un matériel de choix facile à se procurer, et de ce fait largement préconisé par de nombreux auteurs (BLACK et al., (1982), GRAHAM (1981), JACKSON et al., (1978), PIKE (1983), STORM et al., (1981)). Les oeufs sont obtenus par dissection de l'utérus d'Ascaris femelle : c'est dans le tiers inférieur que se trouvent les oeufs prêts à être rejetés dans le milieu extérieur*. Le matériel génital est dilacéré, dans une solution de NaCl 9 ‰, puis tamisé dans une passoire métallique à trous ronds (\varnothing 2,5 mm). La suspension d'oeufs d'Ascaris est stockée à + 4°C.

1.3 - La cellule de comptage

La cellule utilisée pour la quantification des oeufs est celle de Mac Master décrite par WHITLOCK et GORDON (1939) (Figure n° 10bis)



(1) cadre dans lequel les oeufs sont comptés

Figure n° 10bis : La cellule de Mac Master (vue du dessus)

* Nous tenons vivement à remercier le Dr. BARADEL, directeur du Laboratoire des Services Vétérinaires de Nancy à Pixérécourt et le Dr Le DANTEC vétérinaire aux abattoirs de la COOPERL à Lamballe qui nous ont aimablement fourni les Ascaris.

Le volume de lecture d'un réseau est de 0,15 ml. Le comptage s'effectue au grossissement 100 x, car l'épaisseur de la lame de Mac Master est telle qu'elle ne permet que l'utilisation de l'objectif 10. Les oeufs pour être comptés doivent adhérer à la face inférieure quadrillée de la lamelle supérieure. Cette adhésion est obtenue sans problème avec des réactifs de densité supérieure à 1,2, dans le cas contraire, il est nécessaire de remettre en suspension dans une solution de densité suffisante avant le dénombrement. Par convention seront pris en compte les oeufs situés à l'intérieur du réseau, ainsi que ceux chevauchant les côtés a et b.

Le nombre d'oeufs Y lu sous les 2 réseaux représente donc le nombre d'oeufs contenus dans 0,30 ml soit un nombre d'oeufs par ml (N)

$$N = \frac{Y}{0,30}$$

2 - METHODES

L'approche méthodologique devrait répondre à deux objectifs :

- . obtenir des résultats fiables et représentatifs de la dispersion d'oeufs d'helminthes dans les milieux analysés grâce à des techniques de concentration quantification couplées à des stratégies d'échantillonnage
- . estimer la viabilité des oeufs retrouvés.

2.1 - Techniques de concentration

Ces méthodes permettent la récupération des oeufs, soit dans un ménisque de flottation, soit dans un culot de sédimentation.

Quatre techniques appartenant à ces deux groupes ont été testées (Tableau n° 31).

TYPE DE TECHNIQUE	NOM - METHODE	REACTIF
Flottation	Arther-Fox-Fitzgerald (1981)	Solution de saccharose (SHEATER)
Flottation	Calamel (1983)	Solution de Zn SO ₄ saturée à 33,3 %
Flottation	Janesckso-Urbanyi (1931)	Solution d'iodomercurate de potassium d = 1,44
Diphasique	Teleman-Rivas modifiée Bailenger (1973)	Tampon acéto-acétique pH 5 + éther

Tableau n° 31 : Caractéristiques des techniques utilisées

Les protocoles des techniques de concentration sont rassemblés dans les figures n° 10, 11, 12, 13.

Figure n° 10 : Méthode de ARTHUR FOX FITZGERALD

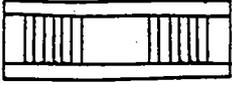
Echantillon		Homogénéisation manuelle
Prise d'un échantillon		Volume V = 10 ml
Ajout de détergent anionique (DDN150)		10 ml
Agitation magnétique		5 minutes
Centrifugation		1 500 g pendant 5 minutes
Elimination du surnageant		
Lavage du culot		15 ml d'eau distillée
Centrifugation		1 500 g pendant 5 minutes
REPRISE DES OPERATIONS DE LAVAGE JUSQU'A OBTENTION D'UN SURNAGEANT LIMPIDE		
Remise en suspension du culot		10 ml d'eau distillée
Ajout d'une solution diluée de SHEATER**		10 ml
Centrifugation		1 500 g pendant 15 minutes
Reprise du culot avec une solution concentrée de SHEATER		Quantité suffisante pour remplir le tube
Centrifugation		1 500 g pendant 5 minutes
Prélèvement pour lecture dans le ménisque de flottation		Environ 1 ml avec une pipette Pasteur
Lecture		Dans une cellule de Mac Master

Figure n° 11 : Méthode de CALAMEL

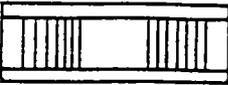
Echantillon		Homogénéisation manuelle
Prise d'un échantillon		Volume V = 20 ml
Tamisage de l'échantillon		Rinçage du tamis sous filet d'eau
Repos pendant une nuit		
Elimination du surnageant		Détermination du volume du culot (V)
Agitation magnétique du culot		5 minutes
Prise d'une fraction du culot		10 ml
Ajout d'une solution de ZnSO ₄ saturée		50 ml
Agitation		10 minutes
PRELEVEMENT EFFECTUE SOUS AGITATION CONSTANTE		
Prélèvement pour lecture		Environ 1 ml
Lecture		Dans une cellule de Mac Master

Figure n° 12 : Méthode de JANECKSO-URBANYI

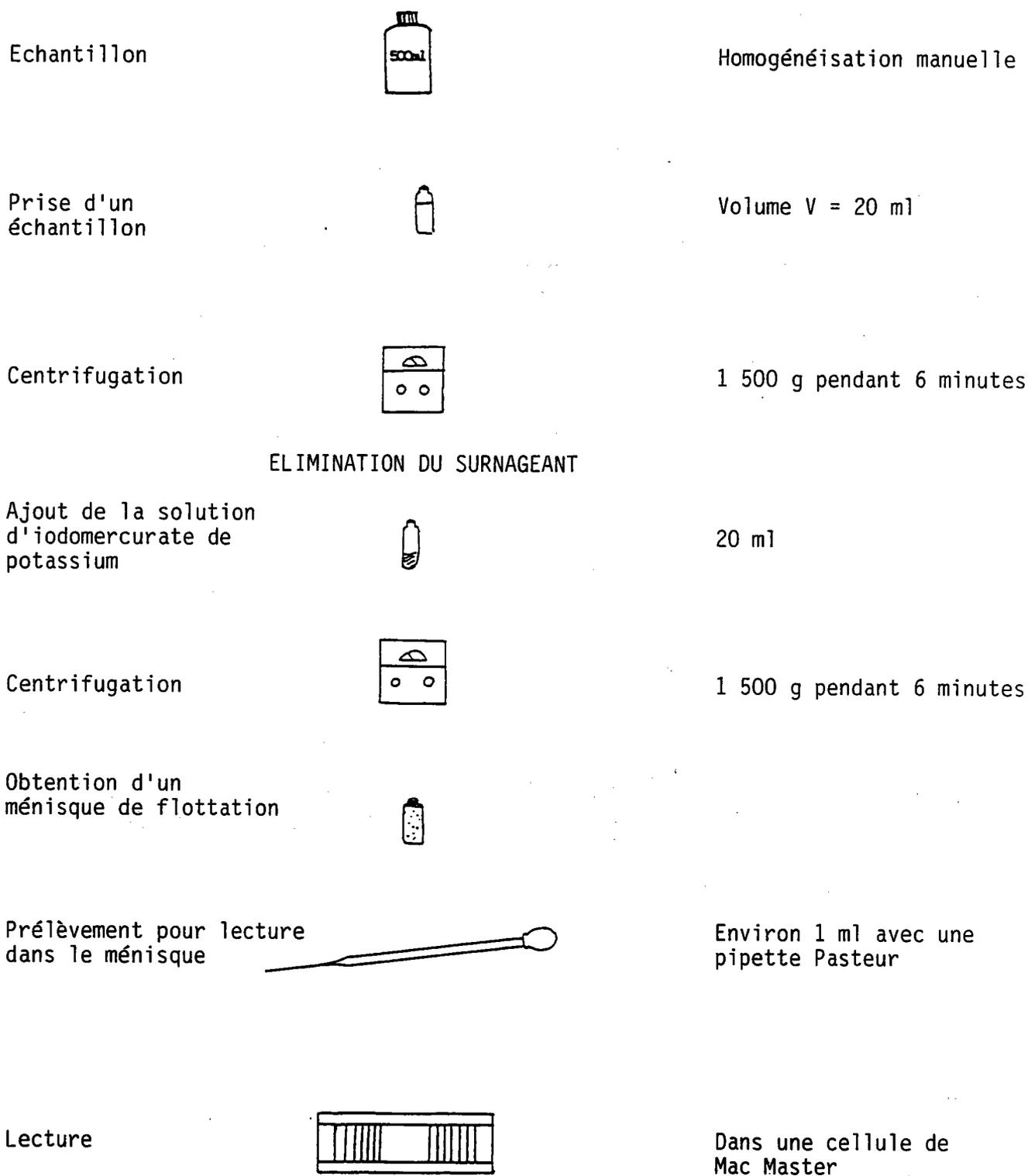


Figure n° 13 : Méthode de TELEMAN-RIVAS MODIFIEE BAILLENGER

Echantillon		Homogénéisation manuelle
Prise d'un échantillon		Volume V = 20 ml par Erlenmeyer
Ajout de tampon acéto acétique pH = 5		20 ml
LAISSER REPOSER PENDANT 1 MINUTE		
Reprise d'un aliquote		20 ml dans un Erlenmeyer
Ajout d'ether bouchage de l'Erlenmeyer		20 ml dans un 20 ml
Agitation magnétique		10 minutes
Reprise des échantillons		Dans des tubes à centrifuger bouchés
Centrifugation		1 500 g pendant 6 minutes
Obtention de quatre phases		a) Phase éthérée $d = 0,75$ b) Phase lipidique $d \sim 0,9$ c) Phase aqueuse $d = 1$ d) Le culot densité > 1

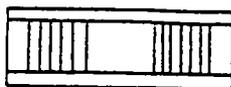
REPRISE DU CULOT (d) DANS 5 ML D'UNE SOLUTION DE $ZnSO_4$ SATUREE

Prélèvement pour lecture



Environ 1 ml

Lecture



Dans une cellule de Mac Master

2.2 - Stratégie d'échantillonnage

En se basant sur des travaux antérieurs de MAUL et al., (1989), MAUL et EL SHAARAWI (1985) portant sur les stratégies de prélèvement, il est décidé d'étudier en premier l'influence de trois paramètres susceptibles d'influer sur les résultats, pour une méthode donnée, à l'aide d'un plan pyramidal.

Les paramètres retenus sont le type de boues, le jour et le lieu de prélèvement.

En règle générale trois journées constituent l'échelle de temps du test, 3 boues la gamme d'échantillons et 3 lieux la dispersion de l'échantillonnage ; des travaux statistiques antérieurs (MAUL et EL SHAARAWI, 1985) indiquent qu'une répétition binaire des prélèvements est nécessaire et suffisante à la fiabilité de ce test.

L'application de ce plan présuppose la vérification de certaines hypothèses :

- la normalité des séries statistiques à l'aide du test de SHAPIRO-WILK ou à l'aide du test de PEARSON

- l'égalité des variances des séries issues de répétitions binaires grâce au test de COCHRAN.

2.2.1 - Test de SHAPIRO-WILK

Le protocole de ce test est le suivant :

- Il faut ranger la population de la série statistique par ordre décroissant.

- Il est ensuite nécessaire d'effectuer les différences entre les termes de premier et de dernier ordre, afin d'obtenir une suite de différences $d_j = (a_j - a_{n-i+1})$.

- A chaque différence correspond un coefficient multiplicatif c_j lu dans une table.

A partir de ces données, la détermination du w_{exp} représentatif de la fonction peut s'effectuer

$$w_{\text{exp}} = \frac{\sum_{j=1}^k (c_j d_j)^2}{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})^2}$$

$$k = \frac{n}{2} \quad \text{si } n \text{ est pair}$$

$$k = \frac{n-1}{2} \quad \text{si } n \text{ est impair}$$

w_{exp} est ensuite comparé avec w_{th} lu dans une table.

L'hypothèse de normalité de la série statistique est acceptée au risque d'erreur α choisi si w_{exp} est compris entre w_{th} minimum au risque $\frac{\alpha}{2}$ est w_{th} maximum au risque $\frac{\alpha}{2}$.

2.2.2 - Test de PEARSON

Il est utilisé pour vérifier l'hypothèse de normalité de la série statistique lorsque l'expérimentation comporte plus de 50 essais. L'estimation des coefficients β_1 et β_2 peut être obtenue à partir d'une série de n résultats en calculant :

$$k_2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)} = \frac{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}{n(n-1)} = s^2$$

$$k_3 = \frac{n}{(n-1)(n-2)} \sum (x_i - \bar{x})^3 = \frac{n^2 \sum x_i^3 - 3n \sum x_i^2 \sum x_i + 2(\sum x_i)^3}{n(n-1)(n-2)}$$

$$k_4 = \frac{n(n+1) \sum (x_i - \bar{x})^4 - 3(n-1) [\sum (x_i - \bar{x})^2]^2}{(n-1)(n-2)(n-3)}$$

$$k_4 = \frac{n^2(n+1) \sum x_i^4 - 4n(n+1) \sum x_i^3 \sum x_i - 3n(n-1) (\sum x_i^2)^2 + 12n \sum x_i^2 (\sum x_i)^2 - 6(\sum x_i)^4}{n(n-1)(n-2)(n-3)}$$

La comparaison de cette estimation à la valeur nulle constituera un test de symétrie. Si ce test permet d'admettre la symétrie ($\beta_1 = 0$) l'estimation du coefficient β_2 et sa comparaison à la valeur 3 constitueront un test de normalité.

L'estimation de ces deux coefficients est réalisée par le calcul de coefficients expérimentaux μ_1 et μ_2 . La comparaison de μ_1 et μ_2 expérimentaux au risque d'erreur choisi, avec μ théorique lu dans une table permet le rejet ou l'acceptation des hypothèses.

2.2.3 - Test de COCHRAN

Ce test permet de vérifier l'hypothèse H_0 : les variances S_i des séries statistiques issues de la répétition binaire sont égales.

Soit les n S_i variances

$$g_{\text{exp}} = \frac{S_i \text{ maximale}}{\sum_{i=1}^n S_i}$$

La lecture de g_{th} , au risque d'erreur α , dans une table permet l'acceptation ou le rejet de l'hypothèse. L'hypothèse est acceptée si g_{exp} est inférieur à g_{th} .

2.2.4 - Analyse de variance du plan pyramidal

Quatre hypothèses vont être vérifiées par analyse de variance.

Hypothèse A : l'influence du facteur temps (J) sur le rendement de chaque méthode prise individuellement est nulle

Hypothèse B : l'influence du type de boue (B) sur le rendement de chaque méthode prise individuellement est nulle

Hypothèse C : l'influence du lieu de prélèvement (L) sur le rendement de chaque méthode prise individuellement est nulle

Hypothèse AB : les facteurs J (jours de prélèvement) et B (type de boues) ne sont pas liés entre eux.

Le tableau de contingence (Tableau n° 32) indique le protocole de calcul.

Source de variation	Somme des carrés Q	v	Quantité estimée par Q/v
* Facteur A	$Q_A = nqr \sum_i (\bar{x}_{i...} - \bar{x}_{...})^2$	$p - 1$	$\sigma_R^2 + n \left(1 - \frac{r}{R}\right) \sigma_C^2 + nr \left(1 - \frac{q}{Q}\right) \sigma_{AB}^2 + nrq \sigma_A^2$
** Facteur B	$Q_B = npr \sum_j (\bar{x}_{.j.} - \bar{x}_{...})^2$	$q - 1$	$\sigma_R^2 + n \left(1 - \frac{r}{R}\right) \sigma_C^2 + nr \left(1 - \frac{p}{P}\right) \sigma_{AB}^2 + nrp \sigma_B^2$
Interaction AB	$Q_{AB} = nr \sum_i \sum_j (\bar{x}_{ij.} - \bar{x}_{j..} - \bar{x}_{.j.} + \bar{x}_{...})^2$	$(p - 1)(q - 1)$	$\sigma_R^2 + n \left(1 - \frac{r}{R}\right) \sigma_C^2 + nr \sigma_{AB}^2$
*** Facteur C	$Q_C = n \sum_{ijk} (\bar{x}_{ijk} - \bar{x}_{ij.})^2$	$pq(r - 1)$	$\sigma_R^2 + n \sigma_C^2$
Résiduelle	$Q_R = \sum_i \sum_j \sum_k \sum_\alpha (x_{ijka} - \bar{x}_{ijk})^2$	$N - pqr$	σ_R^2
Totale	$Q_T = \sum_i \sum_j \sum_k \sum_\alpha (x_{ijka} - \bar{x}_{...})^2$	$N - 1$	

Tableau n° 32 : Analyse de variance du test pyramidal d'après CHARLOT (1978)

- * Facteur A = temps (Jours)
- ** Facteur B = types de boues
- *** Facteur C = lieu de prélèvement

L'absence d'interaction AB et d'effet isolé des facteurs A, B, C ($\sigma^2_{AB} = 0$, $\sigma^2_A = 0$, $\sigma^2_B = 0$, $\sigma^2_C = 0$) se vérifie par le test de FISHER-SNEDECOR.

Les fonctions discriminantes sont :

Facteur A - si les modalités de B sont fixes et celles de C aléatoires ($q = Q$ et $r \ll R$)

$$F_A = \frac{q_A}{q_C}$$

Facteur B - si les modalités de A sont fixes et celles de C aléatoires ($p = P$ et $r \ll R$)

$$F_B = \frac{q_B}{q_C}$$

Facteur C

$$F_C = \frac{q_R}{q_C}$$

Interaction AB - si les modalités de C sont aléatoires ($r \ll R$)

$$F_{AB} = \frac{q_{AB}}{q_C}$$

L'analyse de variance du plan pyramidal permet de dégager les paramètres susceptibles d'influer sur le rendement des différentes méthodes.

2.3 - Méthodes d'études de la viabilité

La viabilité de l'oeuf d'Ascaris est affirmée lorsqu'une segmentation au minimum en 8 blastomères est observée à l'intérieur de la coque.

Trois techniques de mise en évidence de la viabilité ont été utilisées.

2.3.1 - Méthode en gélose simple

Pour les échantillons de boues, après dilution convenable pour assurer la bonne lisibilité des boîtes de gélose, la totalité du prélèvement est étalée à la surface d'une gélose à 20 ‰ additionnée de 2 % de formol, à raison de 1 ml par boîte de Pétri (\varnothing 90 mm). L'ajout de formol a pour objectif de ralentir le développement de toute la flore associée. La durée de l'incubation est de 21 jours à 20-25°C.

Pour les échantillons d'eau, une étape de centrifugation préliminaire à 2500 g pendant 15 mn est nécessaire, ensuite le culot de centrifugation est analysé comme une boue.

Un examen des boîtes de Pétri est effectué au grossissement x100 chaque semaine pendant les 3 semaines d'incubation. Le comptage aléatoire de 100 oeufs est réalisé sur chaque boîte ; sur cette population les oeufs sont dénombrés et classés selon leur degré de segmentation de 0 à 32 blastomères.

2.3.2 - Méthode de HUBERT et KERBOEUF (1984)

Ces auteurs préconisent de faire évoluer les oeufs d'helminthes sur une gélose molle à 5 ‰ additionnée d'un réactif à base d'extrait de levure* et de solution de Earle dont la composition est la suivante :

Solution A : - Extrait de levure 1 g (Bacto Yeast Extract 0127 Difco)
- Eau physiologique 90 ml.

Mélanger 27 ml de la solution A à 3 ml d'une solution 10X de Earle (SSE 30 10 Eurobio).

Le pH est ajusté à la neutralité par addition de bicarbonate de sodium.

Le réactif B est ainsi obtenu est placé une nuit à 32°C.

La gélose molle coulée en boîte de Pétri (90 mm Ø) estensemencée comme dans la technique précédente. Après 24 heures à 20°-25°C, 2 ml de réactif B sont étalés à la surface des boîtes de Pétri. L'incubation, le rythme de lecture, le mode de comptage sont les mêmes que ceux exposés dans le paragraphe 2.3.1.

2.3.3 - Méthode de CLARKE et PERRY (1980)

C'est une technique en milieu liquide avec incubation en atmosphère contrôlée. Elle est effectuée sur les échantillons préparés comme pour les méthodes précédentes.

- . Préparer 1 volume X d'échantillon à analyser
 - 1 volume 2X d'une solution de NaHSO_3 0,1 M
- . Ajouter 1 volume 2X d'une solution de NaHCO_3 0,1 M
 - 1 volume X d'une solution NaCl 12 ‰
- . Incuber en atmosphère enrichie avec 5 % de CO_2 à 20°C.

La première lecture est faite après 5 jours d'incubation, les examens microscopiques sont ensuite quotidiens pendant les 2 semaines suivantes. Les résultats sont exprimés en pourcentage selon le protocole décrit au paragraphe 2.3.1.

ETUDE METHODOLOGIQUE

ETUDE METHODOLOGIQUE

Elle a été menée à la fois avec les techniques coprologiques classiques et avec des méthodes personnelles.

1 - ETUDES AVEC LES TECHNIQUES COPROLOGIQUES CLASSIQUES

Les méthodes d'analyses précédemment décrites dérivées de la coprologie parasitaire sont généralement qualitatives. Elles ont dû être adaptées en vue d'une quantification.

1.1 - Processus de quantification

Ce processus passe soit par une estimation du volume des ménisques de flottation pour les méthodes de ARTHUR-FOX-FITZGERALD et de JANECKSO-URBANYI, soit par une appréciation du volume des culots de sédimentation pour les méthodes de CALAMEL et TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER avant lecture dans une cellule de comptage.

Une fois cette étape réalisée, il est procédé à une étude des principaux paramètres susceptibles d'influer sur le rendement de chaque méthode par analyse de variance.

1.1.1 - Estimation du ménisque

. Pour la méthode de ARTHUR-FOX-FITZGERALD, l'estimation du ménisque a été réalisée sur 16 échantillons d'eaux artificiellement contaminées à 4.10^3 oeufs d'Ascaris de porc par litre.

Les prélèvements en vue du comptage sont effectués sur toute la profondeur du tube à centrifuger tous les centimètres en partant de la sur-

face. Pour éviter toute perturbation de la répartition des oeufs une seule analyse est réalisée par tube.

La concentration est effectuée en tube à centrifuger de 33 ml et de section égale à 2 cm². Les résultats sont collectés dans le tableau n° 33.

PROFONDEUR DU PRELEVEMENT (cm)	OEUFs RETROUVES (%)
0 - 1	48,5 ± 6,9
1 - 2	45,1 ± 5,8
2 - 3	5,8 ± 4
3 - 5	0,58 ± 0,1

Tableau n° 33 : Pourcentage d'oeufs retrouvés en fonction de la profondeur du prélèvement

Les résultats obtenus montrent une dispersion homogène dans les 2 premiers centimètres du tube de centrifugation avec des pourcentages d'oeufs retrouvés pratiquement identiques dans ces 2 prélèvements. De plus, il faut remarquer que 93,6 % des oeufs se retrouvent dans les prélèvements effectués entre 0 et 2 cm. En fonction de ces données pour la méthode de ARTHUR-FOX-FITZGERALD, un seul prélèvement sera effectué dans la zone de profondeur comprise entre 0 - 1,5 cm (ce qui revient à prélever les 3 premiers millilitres) et il sera considéré comme représentatif.

. La même démarche a été adoptée avec la technique de JANECKSO-URBANYI. 8 échantillons d'eaux artificiellement contaminés à 10⁵ oeufs d'Ascaris de porc par litre ont été concentrés dans des tubes à centrifuger de mêmes dimensions que précédemment.

Les résultats rassemblés dans le tableau n° 34 indiquent que plus de 90,3 % des oeufs sont retrouvés dans le prélèvement effectué entre 0 et 1 cm.

PROFONDEUR DU PRELEVEMENT (cm)	OEUFS RETROUVES (%)
0 - 1	90,3 \pm 11,7
1 - 2	9,6 \pm 2,7
2 - 3	0,1 \pm 0,5
3 - 5	0

Tableau n° 34 : Pourcentage d'oeufs retrouvés en fonction de la profondeur du prélèvement

Pour la suite de l'expérimentation une seule mesure sera réalisée dans les 2 ml les plus superficiels de l'échantillon.

1.1.2 - Estimation des culots de sédimentation

Dans la technique de CALAMEL, le nombre d'oeufs contenus dans un volume donné d'échantillons est basé sur l'examen microscopique d'une fraction du culot final de sédimentation remis en suspension dans une solution saturée de $Zn SO_4$ à 33,3 %.

Dans la technique de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER, le culot de centrifugation toujours très dense impose une dilution dans un liquide de densité suffisante à la fois pour faciliter la lecture et permettre une bonne adhérence des oeufs d'helminthes à la partie quadrillée de la cellule de comptage.

1.1.3 - Formules de quantification

Elles sont regroupées dans le tableau n° 35

TYPE DE LA TECHNIQUE	NOM DE LA METHODE	REACTIF	FORMULE DE QUANTIFICATION
Flottation	Arther Fox-Fitzgerald d = 1,2	Solution de saccharose	$N = \frac{Y}{C} \cdot \frac{M}{V}$
Flottation	Calamel	Solution de sulfate de zinc saturée (33,3%)	$N = \frac{Y}{C} \cdot \frac{Y}{V} \cdot F$
Flottation	Janeckso-Urbanyi d = 1,44	Solution d'iodo-mercurate de potassium	$N = \frac{Y}{C} \cdot \frac{M}{V} \cdot F$
Diphasique	Teleman-Rivas modifié Bailenger	Tampon acéto-acétique pH 5 + éther	$N = \frac{Y}{C} \cdot \frac{S}{V}$

N = nombre d'oeufs par ml d'échantillons

Y = nombre d'oeufs dans la cellule de Mac Master

C = volume de la cellule de Mac Master

V = volume de l'échantillon

M = volume estimé du ménisque

S = volume estimé du culot de sédimentation

F = facteur de dilution

Tableau n° 35 : Les formules de quantification

1.2 - Etude des paramètres (types, lieu, jour de prélèvement) par analyse de variance

1.2.1 - Résultats bruts

Elle a été réalisée au cours de deux campagnes de 3 jours, 2 méthodes étant testées chaque fois, 48 tests effectués pour chaque méthode (Tableaux n° 36 et n° 37).

TYPE DE BOUES	LIEUX DE PRELEVEMENT	MESURE ECHANTILLON	DATES			DATES		
			J1	J2	J3	J1	J2	J3
BOUES PRIMAIRES	L ₁	M ₁ M ₂	38 32	49 50	53 75	10 17	23,7 13	9 12
	L ₂	M ₁ M ₂	69 42	- 42	22 25	11 20,7	17 16	11 6,3
	L ₃	M ₁ M ₂	13 12	10 4	2 2	20,5 8,4	4 18	5,2 8,1
BOUES DIGEREES	L ₁	M ₁ M ₂	7 16	4 5	26 22	36,3 30	13 11	11 17,7
	L ₂	M ₁ M ₂	5 4	4 5	30 18	11 11	19 17	- -
	L ₃	M ₁ M ₂	11 11	- -	29 15	15 13	- -	- -
BOUES SEMI- DESHYDRATEES	L ₁	M ₁ M ₂	30 38	74 54	52 24	21 11	6,6 6,6	6,2 5,1
	L ₂	M ₁ M ₂	- 23	50 57,8	78 2	12 13	6,6 6,6	6,4 8
	L ₃	M ₁ M ₂	- -	51,5 38	46 48	- -	- -	12 6

Méthode JANECKSO-
URBANYIMéthode TELEMAN-
RIVAS modifiée
BAILENGERTableau n° 36 : Résultats du plan pyramidal - Méthode de JANECKSO-URBANYI
et TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER

TYPE DE BOUES	LIEUX DE PRELEVEMENT	MESURE ECHANTILLON	DATES			DATES		
			J1	J2	J3	J1	J2	J3
BOUES PRIMAIRES	L ₁	M ₁ M ₂	- 7	- 4	- 17	- 82	95 95	82 95
	L ₂	M ₁ M ₂	14 24	- -	- 28	89 89	97 97	97 97
	L ₃	M ₁ M ₂	16 -	7 48	- -	99 90	96 96	- -
BOUES DIGEREES	L ₁	M ₁ M ₂	9 9	2 2	18 20	99 -	67 62	69 75
	L ₂	M ₁ M ₂	14 13	7 7	26 -	62 -	99 100	99 99
	L ₃	M ₁ M ₂	12 12	- -	17 11	99 -	- -	99 93
BOUES SEMI- DESHYDRATEES	L ₁	M ₁ M ₂	40 33	32 -	14 14	85 83	63 67	58 65
	L ₂	M ₁ M ₂	37 33	26 22	24 8	- -	- 63	76 100
	L ₃	M ₁ M ₂	- -	20 11	26 12	- -	100 -	100 68

Méthode ARTHÉ et al. Méthode de CALAMEL

Tableau n° 37 : Résultats du plan pyramidal

1.2.2 - Vérification des hypothèses de normalité et d'égalité des variances des séries statistiques

La normalité des 4 séries statistiques est vérifiée par le test de SHAPIRO-WILK (Tableau n° 38).

METHODES	I Arther <u>et al</u>	II Calamel	III Janeckso- Urbanyi	IV Teleman-Rivas modifiée Bailenger
Nombre de tests	39	40	40	44
Nombre de différences	19	20	20	22
w_{exp}	0,948	0,938	0,927	0,930
w_{max}^{th}	0,989	0,989	0,989	0,990
w_{min}^{th}	0,917	0,919	0,924	0,920

Tableau n° 38 : Résultats du test de SHAPIRO-WILK

L'hypothèse de normalité des séries statistiques a pu être acceptée puisque w^{exp} appartient à l'intervalle w^{th} , w^{th} au risque d'erreur de 4 %.

La vérification des hypothèses d'égalité des variances des séries statistiques issues de répétitions binaires est faite par le test de COCHRAN (Tableau n° 39).

METHODES	I Arther <u>et al</u>	II Calamel	III Janeckso- Urbanyi	IV Teleman-Rivas modifiée Bailenger
Nombre de tests effectués	48	48	48	48
Nombre de degré de liberté (v)	1	1	1	1
Nombre de variance	24	24	24	24
S_i max	246	2500	1382,25	30,25
$\sum^{24} S_i$ (i = 1)	718,25	11734,5	3803,71	171,82
g^{exp}	0,3425	0,2130	0,331	0,17
g^{th}	0,3434	0,3434	0,3434	0,3434

Tableau n° 39 : Test de COCHRAN (g)

Au risque d'erreur de 5 % pour les 4 méthodes, l'hypothèse de non égalité des variances des séries statistiques issues de la répétition binaire a pu être rejetée car $g_{exp} > g_{th}$.

1.2.3 - Résultats de l'analyse de variance

Ils sont rassemblés dans le tableau n° 40.

METHODES	I Arther et al	II Calamel	III Janeckso- Urbanyi	IV Teleman-Rivas modifiée Bailenger
F_A jour	th. 3,55 exp. 0,027	th. 3,55 exp. 0,017	th. 3,55 exp. 0,017	th. 3,55 exp. 0,105
F_B boue	th. 6,94 exp. 0,19	th. 6,94 exp. 0,042	th. 6,94 exp. 0,474	th. 6,94 exp. 0,158
F_C lieu	th. 1,93 exp. 3,04	th. 1,93 exp. 3,62	th. 1,93 exp. 2,99	th. 1,93 exp. 5,75
F_{AB}	th. 2,96 exp. 0,49	th. 2,96 exp. 0,24	th. 2,96 exp. 1,72	th. 2,96 exp. 0,64

Tableau n° 40 : Résultats de l'analyse de variance

Il est possible de rejeter l'hypothèse si F_{exp} est supérieur à F_{th} , dans le cas contraire aucune conclusion ne peut être tirée.

La lecture des résultats montre que pour les facteurs jour (F_A) et boues (F_B) aucune influence sur le rendement de la méthode ne peut être démontrée. De même une éventuelle interaction entre ces 2 paramètres n'a pu être mise en évidence. En revanche, le rôle du paramètre lieu du prélèvement (F_C) sur le rendement des 4 méthodes est important.

L'étude de tout autre paramètre devra donc impérativement tenir compte de ces conclusions.

1.3 - Influence de la charge parasitaire

L'influence de ce paramètre pris isolément, toutes les autres variables (jour et lieu de prélèvement, type de boue) étant maintenues constantes a été étudiée sur des boues contaminées artificiellement (boues digérées, boues primaires, boues semi-déshydratées). Six niveaux de charges s'échelonnant de 10^1 à 5.10^2 oeufs/ml ont été testés. Les dilutions sont préparées à partir de la suspension mère à 10^4 oeufs/ml ($\Delta \frac{C}{C} = 5,1 \%$) selon le protocole suivant :

Dilution 2	solution à 5.10^3 oeufs/ml	$\Delta \frac{C}{C} = 5,2 \%$
Dilution 5	solution à 3.10^3 oeufs/ml	$\Delta \frac{C}{C} = 5,3 \%$
Dilution 10	solution à 10^3 oeufs/ml	$\Delta \frac{C}{C} = 5,5 \%$
Dilution 20	solution à 5.10^2 oeufs/ml	$\Delta \frac{C}{C} = 5,7 \%$
Dilution 50	solution à 2.10^2 OEUFS/ml	$\Delta \frac{C}{C} = 5,8 \%$

1 ml de chaque dilution est ensuite ajouté à 10 ou 20 ml de boues permettant d'obtenir les charges de 10, 25, 50, 100, 250 et 500 oeufs/ml. 10 analyses sont effectuées par niveau de charge.

1.3.1 - Résultats expérimentaux

Ils sont regroupés dans les tableaux n° 41, 42, 43, 44.

Avec la technique de ARTHUR et al., (1981), les rendements s'échelonnent globalement de 2 à 55 % ; c'est pour les boues digérées que les rendements sont les plus faibles de 2 à 20 %.

Les résultats obtenus avec les méthodes de CALAMEL et de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER sont extrêmement hétérogènes. Dans quelques cas, les nombres d'oeufs retrouvés étaient supérieurs au nombre d'oeufs réellement présents dans l'échantillon. Des rendements variant de 2 à 100 % sont observés avec la méthode de JANECKSO-URBANYI ; les valeurs les plus faibles étant obtenues avec les boues primaires (3 à 23,3 %).

A partir de ces valeurs, il a été tracé pour chaque type de boue une courbe du rendement en fonction de la charge parasitaire.

- Au niveau des boues primaires, à forte charge (100-500 oeufs/ml), la technique de CALAMEL est conseillée avec des rendements à 95 %. Pour des charges moyennes (50-100 oeufs/ml), les méthodes de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER, CALAMEL, ARTHUR FOX-FITZGERALD sont utilisables, les rendements s'échelonnant de 30 à 42 % ; la technique de JANECKSO-URBANYI étant déconseillée avec des rendements moyens de 5,75 %. A faible charge (10-50 oeufs/ml), la méthode de CALAMEL est à éliminer. En revanche, la méthode de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER donne de bons résultats (Figure n° 14).

NOMBRE OEUF AJOUTES/ML	BOUES PRIMAIRES				BOUES DIGEREES				BOUES SEMI-DESHYDRATEES			
	%				%				%			
500	52,4	8,7	2	6,5	5	6	4	3	12,8	15,2	10,2	12,6
250	22,6	29,8	10,2	15,4	4	6	3	3	19,8	21,6	5,4	50,2
100	37,5	39	30	38,5	4,5	5,5	11	ND*	11	18	10	13
50	49	41	40	39	11	9	8	2	8	16	12	15
25	50	46	52	36	13	ND	14	13	14	10	10	30
10	30	40	55	25	20	15	15	20	10	15	5	10

* ND : non déterminé

Tableau n° 41 : Influence de la charge parasitaire - Méthode de ARTHUR-FOX-FITZGERALD

NOMBRE OEUF AJOUTES/ML	BOUES PRIMAIRES				BOUES DIGEREES				BOUES SEMI-DESHYDRATEES			
	%				%				%			
500	95	99	99	96	80	79	90	ND	99	RA	RA	RA
250	99	97	95	97	84	46	78	ND*	99	RA	RA	RA
100	100	RA**	50	50	10	60	10	10	RA	99	99	RA
50	0	80	40	0	0	0	20	0	50	0	0	50
25	RA	0	RA	RA	0	0	0	0	0	0	100	0
10	RA	0	RA	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* ND : non déterminé

**RA : résultat aberrant

Tableau n° 42 : Influence de la charge parasitaire - Méthode de CALAMEL

3 types de boues

4 échantillons par charge

6 niveaux de charge soit 72 tests par méthode

NOMBRE OEUFs AJOUTES/ML	BOUES PRIMAIRES				BOUES DIGEREES				BOUES SEMI-DESHYDATEES			
	%				%				%			
500	11,7	22,5	20,8	19	6	6	7	2	89	49	67	77
250	6,5	8,5	3,2	4	6	6	4	6	9,5	41,6	89	34,6
100	13,3	12	8,3	3	32,5	85,5	40	52	38,7	31	48	45,3
50	6	9	8	0	47	8	50	31	28,7	26	29,3	24
25	13	16	12	24	96	72	60	84	28	78,7	82,7	41,3
10	23,3	43	23,3	13,3	50	75	100	80	56,7	33,3	26,7	80

Tableau n° 43 : Influence de la charge parasitaire - Méthode JANECKSO URBANYI

NOMBRE OEUFs AJOUTES/ML	BOUES PRIMAIRES				BOUES DIGEREES				BOUES SEMI-DESHYDATEES			
	%				%				%			
500	24,2	18,4	25,6	22	13,2	17	36	30,6	35,4	24	41,4	23,4
250	25,2	29,2	17,2	48,6	26	34,6	62	34,6	33,4	30,6	30,6	39,6
100	16,6	13,2	50	0	38	28	56	72	23,4	20	25	21,6
50	26,6	40	46,6	42	RA	56	RA	RA	66	16,6	6,6	0
25	13,4	RA	RA	RA	30	ND*	20	20	RA	80	33,2	13,4
10	RA	33,2	33,2	33,2	82	50	RA	0	33,4	33,4	16,6	16,6

* ND : non déterminé

Tableau n° 44 : Influence de la charge parasitaire - Méthode de TELEMAN RIVAS modifiée BAILENGER

3 types de boues
4 échantillons par charge
6 niveaux de charge soit 72 tests par méthode

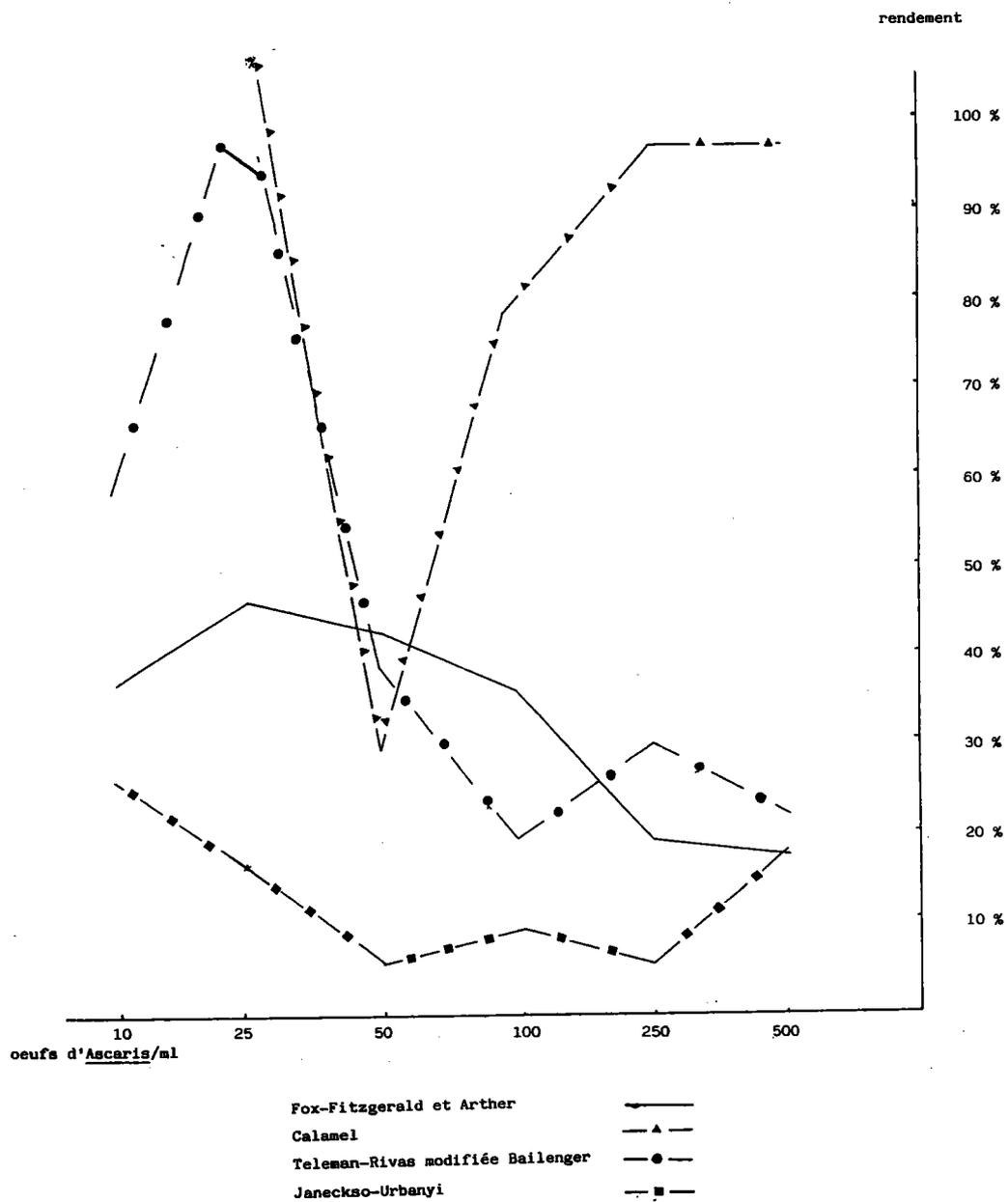


Figure n° 14 : Influence de la charge parasitaire dans les boues primaires

- Au niveau des boues digérées, la technique de CALAMEL est indiquée pour des charges de 250 à 500 oeufs/ml. Les méthodes de JANECKSO-URBANYI et de TELEMEN-RIVAS modifiée BAILENGER ont des rendements satisfaisants (environ 50 %) pour des charges de 100 à 250 oeufs/ml. A faibles charges, les méthodes de JANECKSO-URBANYI et TELEMEN-RIVAS modifiée BAILENGER peuvent être indifféremment retenues car elles ne diffèrent pas significativement (Figure n° 15).

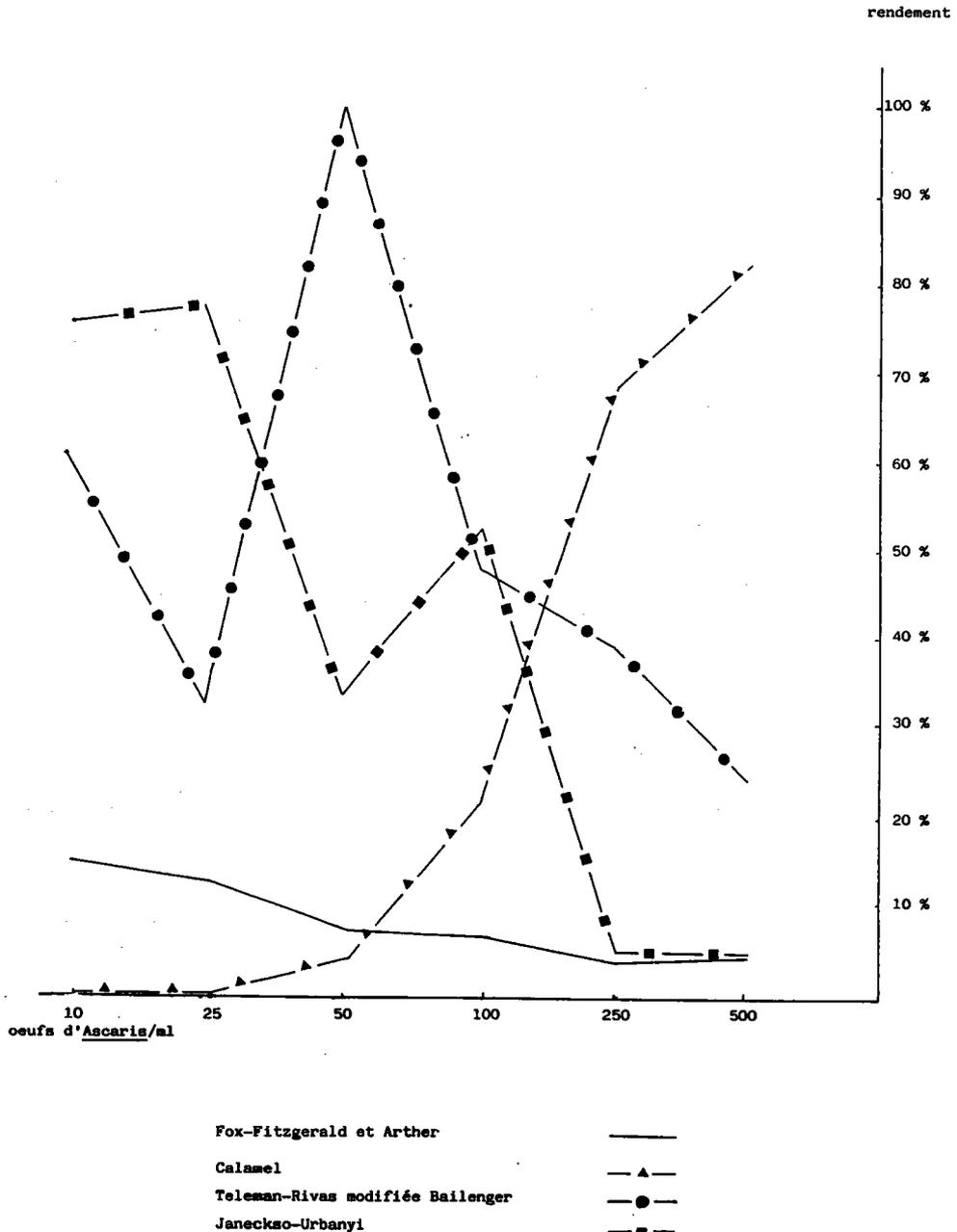


Figure n° 15 : Influence de la charge parasitaire dans les boues digérées

- Au niveau des boues semi-déshydratées, les techniques de CALAMEL et de ARTHUR FOX-FITZGERARD sont à éliminer d'emblée, quel que soit le niveau de charge parasitaire. En effet, la méthode de ARTHUR et FITZGERALD a des rendements toujours inférieurs à 24 % et la technique de CALAMEL est inadaptée à ce genre de boues. A forte et moyenne charge, la technique de JANECKO-URBANYI est significativement meilleure. A faible charge (< 25 oeufs/ml), il est possible d'utiliser indifféremment la méthode de JANECKO-URBANYI ou la méthode TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER (Figure n° 16).

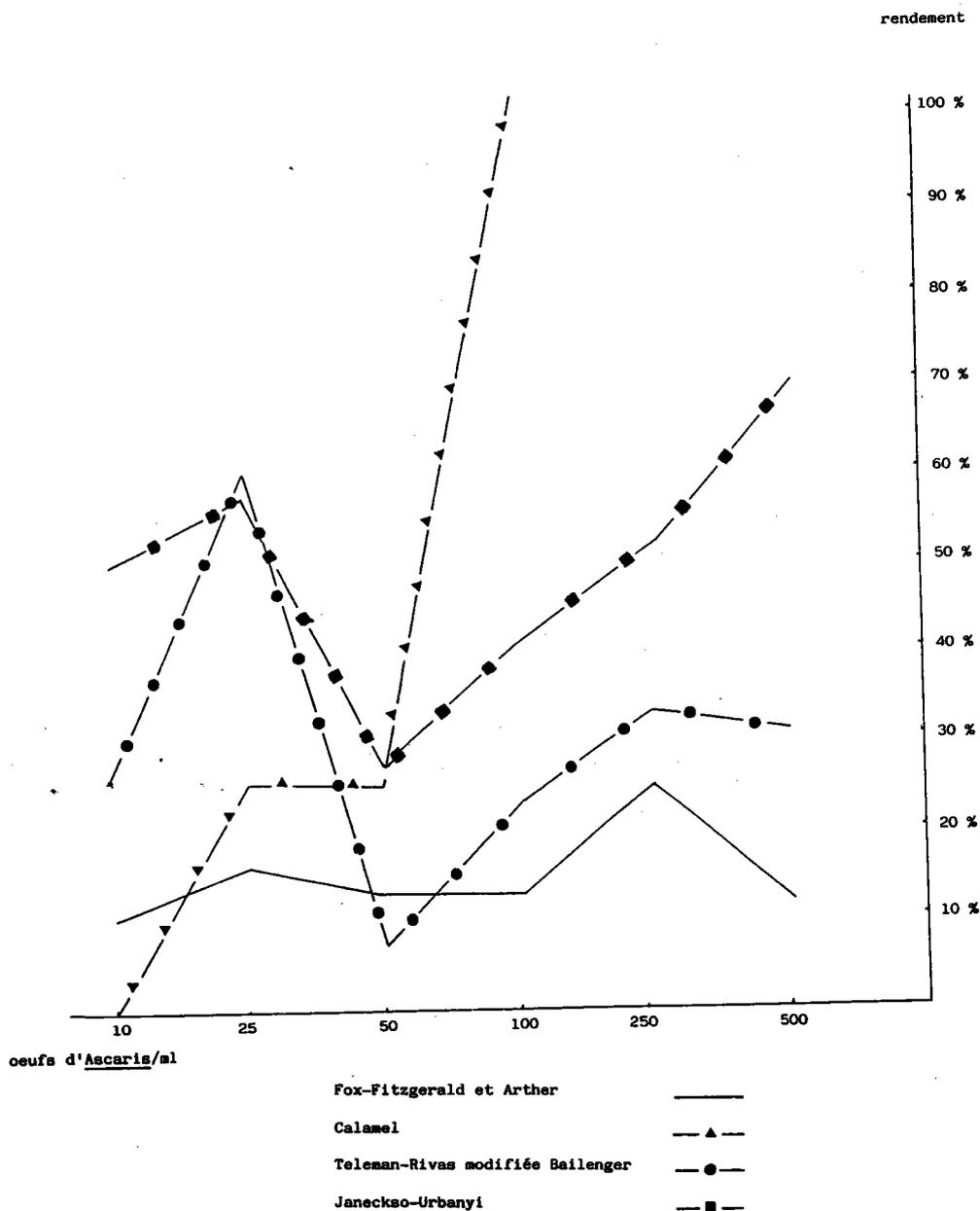


Figure n° 16 : Influence de la charge parasitaire dans les boues semi-déshydratées.

Ces interprétations sur des rendements moyens doivent être "modulées" car les intervalles de confiance à 5 % calculés pour chacune des valeurs sont parfois importants.

1.3.2 - Etude statistique

Pour effectuer l'analyse de variance, il a été procédé à la vérification préalable de l'hypothèse de normalité des séries statistiques à l'aide du test de PEARSON (Tableau n° 45).

METHODES	I Arther <u>et al.</u>	II Calamel	III Janeckso- Urbanyi	IV Teleman-Rivas modifiée Bailenger
Effectif de la distribution	70	54	70	60
Coefficient de symétrie μ_1	3,415	0,638	2,548	2,216
Coefficient d'aplatissement μ_2	- 0,002	24,94	- 1,246	4,65
Encadrement de μ_1	- 2,68 + 2,68	- 2,7 + 2,7	- 2,68 + 2,68	- 2,66 + 2,66
Encadrement de μ_2	0,126 2,68	0,126 2,7	0,26 2,68	0,26 2,66

Tableau n° 45 : Résultats du test de PEARSON

Pour la méthode de ARTHER et al., (1981), la distribution n'est ni symétrique, ni normale aux risques d'erreur de 5 %. Pour les 3 autres méthodes, les distributions sont symétriques, mais ne sont pas normales au risque d'erreur de 5 %. En l'absence de normalité des séries statistiques, l'analyse de variance ne peut être poursuivie.

1.4 - Etude de la viabilité des oeufs d'Ascaris de porc

Dans ce cadre deux problèmes ont été abordés :

- le comportement de la suspension d'oeufs d'Ascaris au cours du temps
- l'impact des réactifs de concentration sur la viabilité.

1.4.1 - Evolution de la suspension d'oeufs d'Ascaris au cours du temps

Elle a été étudiée après conservation à + 4°C de 2 lots de suspensions d'oeufs dont les titres initiaux étaient 5.10^5 oeufs/ml et $7,2.10^5$ oeufs/ml).

Dix dénombrements sont effectués pour chaque échantillon. La périodicité des prélèvements était de 5 jours pour le lot n° 1 de J0 à J + 20 ; pour le lot n° 2 des mesures ont été effectuées jusqu'à J + 180 avec une périodicité de 30 à 40 jours. Les résultats exprimés en pourcentage d'oeufs retrouvés (Tableau n° 46) montrent qu'après 15 à 20 jours de stockage à + 4°C le titre chute.

	Lot n° 1	Lot n° 2
J0	100 %	100 %
J + 5	78 %	
J + 10	69,4 %	
J + 15	59,7 %	70 %
J + 20	51,4 %	
J + 45		50 %
J + 105		19 %
J + 135		9,6 %
J + 165		5,6 %
J + 180		2,6 %

Tableau n° 46 : Evolution d'une suspension d'oeufs d'Ascaris stockée à + 4°C

Pour obtenir une conservation plus longue, la congélation à - 80°C pronée pour de nombreux micro-organismes a été employée.

Une suspension d'oeufs d'Ascaris titrant 10^5 oeufs/ml additionnée de 10 % de diméthylsulfoxyde (DMSO) est congelée à - 80°C. Le lendemain, après décongélation, il est procédé à un dénombrement et à une étude de la viabilité par la technique de CLARKE et PERRY (1980). 50 tubes de suspension d'oeufs d'Ascaris ont ainsi été analysés (Tableau n° 47).

	Suspension oeufs Témoin non congelé	Suspension oeufs congelée - décongelée
Nombre oeufs/ml	100.000 \pm 500	82.700 \pm 880 (n = 50)
% oeufs viables	35 \pm 9 % (n = 10)	0,8 \pm 0,5 % (n = 50)

n = nombre d'échantillons

Tableau n° 47 : Influence de la congélation à - 80°C sur les suspensions d'oeufs d'Ascaris

Les résultats montrent que la congélation à - 80°C altère peu la morphologie externe de l'oeuf d'Ascaris ce qui est prouvé par les dénombrements effectués avant et après congélation. En revanche, l'impact sur la viabilité est net. Dans ces conditions, la congélation à - 80°C ne peut être retenue comme un mode de conservation adapté.

1.4.2 - Impact des réactifs de concentration sur la viabilité des oeufs d'Ascaris isolés

Les réactifs de concentration, composés plus ou moins toxiques, sont utilisés à des concentrations souvent élevées et dans ces conditions il s'avérait nécessaire de tester l'éventuelle influence de ces réactifs sur la viabilité des oeufs. Cette vérification a été effectuée en utilisant des prélèvements artificiellement contaminés avec des suspensions d'oeufs d'Ascaris renfermant environ 30 % d'oeufs viables, ces échantillons étaient ensuite soumis aux 4 méthodes de concentration précédemment décrites et les oeufs récupérés soit par flottation, soit par sédimentation étaient testés en viabilité sur gélose ou selon la technique d'HUBERT et KERBOEUF (1984). Les résultats sont exprimés en oeufs dégénérés, non développés, embryonnés (Tableau n° 48).

METHODE DE CONCENTRATION	TECHNIQUES DE VIABILITE					
	GELOSE SIMPLE			HUBERT-KERBOEUF		
	Oeufs dégénérés	Oeufs non développés	Oeufs embryonnés	Oeufs dégénérés	Oeufs non développés	Oeufs embryonnés
RATHER-FOX ITZGERALD	0/8	2/8	6/8	ND	ND	ND
ALAMEL	6/6	0/6	0/6	ND	ND	ND
ANECKSO-URBANYI	0/14	13/14	1/14	0/6	4/6	2/6
ELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER	0/13	9/13	4/13	0/6	1/6	5/6
émoïn	0/36	0/36	36/36	0/12	0/12	0/12

ND : non déterminé

Tableau n° 48 : Viabilité et réactifs de concentration

La présence d'un oeuf renfermant 8 blastomères permettait de considérer l'échantillon comme positif. La lecture des résultats obtenus sur gélose simple montre que l'iodomercurate de potassium (technique JANECKSO-URBANYI) et le sulfate de zinc à 33,3 % utilisé seul (technique CALAMEL) se révèlent très toxiques ; en revanche, le saccharose même à forte concentration (technique de ARTHUR-FOX-FITZGERALD) a une faible influence sur la viabilité des oeufs. Enfin dans la méthode de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER environ 30 % des oeufs sont embryonnés.

La technique de HUBERT et KERBOEUF (1984) a été réalisée seulement avec les méthodes de JANECKSO-URBANYI et de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER car les rendements des deux autres méthodes très faibles les font rejeter comme inadaptées à l'analyse d'échantillons d'eau ou de boues. Avec cette technique de viabilité, le nombre de boîtes avec oeufs embryonnés augmente. Cette différence est peut-être due à des propriétés détoxifiantes ou protectrices de la solution Earle-extrait de levure.

A l'issue de cette étude, il apparaît qu'aucune des méthodes testées ne répond pleinement aux objectifs recherchés à savoir s'appliquer à tous les types de prélèvements, quel que soit leur niveau de charge parasitaire sans manifester aucune action néfaste sur la viabilité des oeufs isolés.

2 - TECHNIQUE PERSONNELLE

Elle comporte une étape préliminaire décrite par FURUKAWA et al. (1985) visant à obtenir par un procédé physico-chimique (n-butanol) des suspensions d'oeufs fertiles.

2.1 - Pouvoir discriminant du n-butanol

Les suspensions d'oeufs obtenus par dissection d'appareil génital d'Ascaris femelle dans NaCl 9 ‰ sont traitées par du n-butanol (V/V) puis centrifugées à 1000 g pendant 5 mn. Le surnageant contient les oeufs non fertiles, le culot les oeufs fertiles.

La viabilité des 2 types d'oeufs est étudiée par la technique de HUBERT et KERBOEUF (Tableau n° 49) 26 échantillons d'oeufs provenant du culot et 26 provenant du surnageant ont ainsi été analysés.

	OEUF EMBRYONNE	OEUF DEGENERE
Test de viabilité effectué avec oeufs présents dans le culot n = 26	\bar{x} 88,1 % σ 11,5 %	11,9 % 11,5 %
Test de viabilité effectué avec oeufs présents dans le surnageant n = 26	\bar{x} 24,2 % σ 18,5 %	75,8 % 18,5 %

Tableau n° 49 : Relation entre viabilité et fertilité

Les résultats obtenus avec les oeufs fertiles montrent que 88,1 % d'entre eux se révèlent être viables ; 11,9 % des oeufs fertiles n'évoluent pas jusqu'au stade 8 blastomères.

En revanche 75,8 % des oeufs non fertiles dégènèrent toutefois 24,2 % d'entre eux se développent sur gélose type HUBERT et KERBOEUF (1984).

En fonction de ces résultats, il est possible de déterminer un risque de première espèce égal à 11,9 % et un risque de seconde espèce égal à 24,2 %.

Le pouvoir séparateur du n-butanol ayant été apprécié, il a été décidé de l'incorporer dans un protocole visant à concentrer de façon spécifique des oeufs d'Ascaris viables.

2.2 - Méthodes de concentration proposées

Elles comportent 3 séquences dont chacune a un objectif précis.

- 1ère séquence destinée à éliminer au maximum les matières en suspension
- 2ème séquence destinée à séparer oeufs viables et non viables
- 3ème séquence destinée à concentrer les oeufs viables.

2.2.1 - Protocole expérimental

La séquence des étapes est indiquée ci-dessous.

- Centrifugation échantillon eau 1000 g, 15 mn
- Détermination du volume V du culot
- Addition d'un volume V de tampon acéto-acétique pH 5 et de 2 V d'éther
- Centrifugation 2500 g, 5 mn avec rejet des 3 couches supérieures (phase étherée, anneau lipidique, phase aqueuse)
- Détermination du volume V' du culot
- Ajout d'un volume V' de n-butanol
- Centrifugation à 2500 g, 5 mn (rejet du surnageant renfermant les oeufs non viables)
- Lavage du culot dans l'eau distillée 2 à 3 fois.
- Détermination du volume V'' du culot
- Ajout d'un égal volume d'iodomercurate de potassium ou de thiosulfate de sodium
- Centrifugation 2500 g, 5 mn
- Prélèvement dans le ménisque
- Lecture et dénombrement à l'aide d'une cellule de Mac Master.

L'étape de concentration des oeufs viables est réalisée avec 2 liquides de concentration de densité voisine : la solution d'iodomercurate de potassium préconisée par JANECKSO-URBANYI ($d = 1,42$) ou une solution de thiosulfate de sodium à saturation ($d = 1,45$). Cette der-

nière a le double avantage de ne pas présenter une toxicité importante et d'être d'un prix de revient beaucoup plus faible.

2.2.2 - Détermination de la formule de quantification

Elle est obtenue avec les mêmes étapes que pour les techniques coprologiques classiques.

L'estimation du ménisque a été réalisée d'une part à charge constante (10^5 oeufs/l), d'autre part à charge variable (de 10^2 oeufs/l à 10^5 oeufs/l) dans des tubes à centrifuger de 50 ml (section 7 cm²).

- L'étude à charge constante a été effectuée sur 18 échantillons concentrés avec la solution d'iodomercurate de potassium et sur 10 échantillons concentrés avec la solution de thiosulfate de sodium (Tableau n° 50).

PROFONDEUR (cm)	OEUFs CONCENTRES PAR IODOMERCURATE DE POTASSIUM	OEUFs CONCENTRES PAR THIOSULFATE DE SODIUM
0 - 1	90* ± 13	81 ± 9
1 - 2	9,5 ± 2,7	16 ± 8
2 - 5	0,5 ± 0,5	3 ± 2

* Résultat exprimés en pourcentage d'oeufs

Tableau n° 50 : Pourcentage d'oeufs retrouvés dans le ménisque en fonction de la profondeur de prélèvement

Les résultats obtenus montrent que selon le réactif utilisé de 81 à 90 % d'oeufs sont concentrés dans le centimètre le plus superficiel de l'échantillon, soit dans les 7 premiers millilitres.

- L'étude à charge variable a pour objectif de déterminer si la dispersion des oeufs dans les 7 millilitres les plus superficiels varie en fonction de la charge.

4 niveaux de charge (10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 oeufs/l) sont testés à raison de 10 échantillons par dilution. Après concentration au thiosulfate de sodium, les échantillons sont rapidement congelés à -80°C . Les 7,5 premiers millilitres sont découpés en cylindres de 1,5 ml sur lesquels après décongélation un dénombrement est effectué (Tableau n° 51).

Prélèvement		1er cylindre	2è cylindre	3è cylindre	4è cylindre	5è cylindre
Charges oeufs/l						
10^5	\bar{x} σ	15,9* 4,3	15,6 3,1	18,6 2,7	18 1,9	15,9 3,6
10^4	\bar{x} σ	47,7 12	26,3 3,1	15,4 6,4	10,6 4,2	7,7 4,2
10^3	\bar{x} σ	87,7 20	5,5 15,5	6,2 15,6	0 0	0,7 1,9
10^2	\bar{x} σ	100 0	0 0	0 0	0 0	0 0

* résultats exprimés en pourcentage d'oeufs

Tableau n° 51 : Répartition spatiale des oeufs dans le ménisque en fonction de la charge parasitaire

Les résultats obtenus montrent que la répartition spatiale des oeufs dans le ménisque varie en fonction de la charge parasitaire.

* A forte charge (10^5 oeufs/l) l'hypothèse d'homogénéité de répartition des oeufs dans le ménisque a été vérifiée par un test de χ^2 au risque d'erreur de 1 %.

$$\chi_{\text{exp}} = 0,527$$

$$\chi_{\text{th}(0,01;5)} = 16,8$$

* Pour des concentrations en oeufs de 10^4 oeufs/l, les résultats obtenus montrent que 74 % des oeufs sont retrouvés dans les trois premiers millilitres du ménisque. Il est donc conseillé de prélever en une seule fois ces trois premiers millilitres pour effectuer la numération en cellule de Mac Master et d'utiliser un coefficient correcteur approprié. La validité de cette procédure a été vérifiée avec une étude menée en parallèle qui comportait une lecture du ménisque entier (Tableau n° 52).

	Nombre échantillons testés	Coefficient correcteur (A)	\bar{x}	σ
Expérience n° 1 (Lecture 3 ml)	10	1,35	932	561
Expérience n° 2 (Lecture 7,5 ml)	10	1	977	534

Tableau n° 52 : Comparaison de 2 volumes de lecture

* Au niveau de charge 10^3 oeufs/l, la même analyse conduit à conseiller un seul prélèvement de 1,5 millilitre avec utilisation d'un coefficient correcteur $A = 1,14$.

* Enfin à la concentration 10^2 oeufs/l, 100 % des oeufs sont compris dans le 1,5 millilitre le plus superficiel

Toutes ces informations sont regroupées dans le tableau n° 53 qui en fonction de la charge parasitaire donne le nombre de lames à lire, ainsi que la formule pour calculer le nombre d'oeufs par litre à la fois pour la méthode au thiosulfate de sodium, ainsi que pour celle à l'iodo-mercure de potassium.

Charge parasitaire oeufs/l	10 ⁵		10 ⁴		10 ³		10 ²	
	Thiosulfate de sodium	Iodomercurate de potassium	Thiosulfate de sodium	Iodomercurate de potassium	Thiosulfate de sodium	Iodomercurate de potassium	Thiosulfate de sodium	Iodomercurate de potassium
Nombre de lames à lire	1	1	3	3	1	1	1	1
Coefficient correcteur A	1	1	1,35	1	1,14	1	1	1
Volume estimé (V ₁)	7,5	7	3	3	1,5	2	1,5	2
Formule de calcul	$X = \frac{Y_x V_1 \times A}{V}$		$X = \frac{\sum_{i=1}^3 Y_i \times V_1 \times A}{V}$		$X = \frac{Y \times V_1 \times A}{V}$		$X = \frac{Y \times V_1 \times A}{V}$	

Y = nombre d'oeufs lu dans une cellule

V = volume de la cellule de Mac Master

Tableau n° 53 : Formules de quantification en fonction de la charge parasitaire

2.2.3 - Etude statistique

Elle est réalisée sur 3 jours consécutifs, avec des échantillons d'eaux usées brutes et épurées artificiellement contaminées à 10^3 oeufs/l, en 2 lieux de prélèvements avec répétitions binaires.

Les résultats des tests de vérification des hypothèses de normalité et d'égalité des variances regroupés dans le tableau n° 54 montrent leur acceptation au risque choisi.

		Test de SHAPIRO-WILK		Test de COCHRAN	
Méthode	Iodomercurate de potassium	Thiosulfate de sodium	Iodomercurate de potassium	Thiosulfate de sodium	
Nombre de tests	24	24	24	24	
w_{exp}	0,889	0,885	g_{exp}	0,290	0,294
$w_{th \min 0,04}$	0,884	0,884	$g_{th \ 0,95}$	0,392	0,392
$w_{th \ max 0,04}$	0,989	0,989			

Tableau n° 54 : Vérification des hypothèses

L'analyse de variance a été effectuée à l'aide du test de FISHER-SNEDECOR (Tableau n° 55).

METHODE	Iodomercurate de potassium	Thiosulfate de sodium
F _A (jour prélèvement) 0,95	th. 7,71 exp. 4,2	th. 7,71 exp. 0,67
F _B (type prélèvement) 0,95	th. 7,71 exp. 15,3	th. 7,71 exp. 6,03
F _C (lieu prélèvement) 0,95	th. 7,71 exp. 6,90	th. 7,71 exp. 10,83
F _{AB} 0,95	th. 3,01 exp. 0,94	th. 3,01 exp. 3,83

Tableau n° 55 : Résultats de l'analyse de variance

Pour la méthode utilisant l'iodomercurate de potassium, seul le type de prélèvement a une influence sur le rendement de la technique. Avec le protocole au thiosulfate de sodium, le paramètre lieu de prélèvement influe sur le rendement de la méthode.

2.2.4 - Sensibilité de la technique

A partir de ces informations, il pouvait être envisagé de déterminer la sensibilité de la méthode par rapport aux exigences du rapport Engelberg (1985) (1 oeuf viable/l d'eau en vue d'une réutilisation agricole). Elle a été étudiée à partir d'échantillons de 1, 5, 10, 25 et 50 litres d'eaux usées artificiellement contaminées à 1 oeuf d'Ascaris de porc par litre. Le nombre d'échantillons analysés par chaque volume choisi était de 10 (Tableau n° 56).

Méthodes	Volume/l	1	5	10	25	50
	Méthode iodomercurate de potassium	\bar{x} σ	ND*	50** 84	100 71	47,5 18,4
Méthode thiosulfate de sodium	\bar{x} σ	ND	65 80	95 72	46,2 27	46,2 18,3

ND * : non détecté

** : pourcentage d'oeufs retrouvés

Tableau n° 56 : Rendement des méthodes en fonction du volume d'échantillonnage

Le volume de 25 litres représente le volume optimal à analyser étant donné l'importance des écarts-types observés avec les échantillons de 5 et 10 litres.

En dehors du volet quantitatif (1 oeuf/l) le rapport Engelberg précise qu'il faut tester la viabilité. Le pouvoir discriminant du n-butanol ayant déjà été décrit, nous avons voulu à ce stade connaître l'impact d'un ratio croissant $\frac{\text{oeufs non viables}}{\text{oeufs viables}}$ sur la sensibilité de la méthode (Tableau n° 57).

Ratio $\frac{\text{oeufs non viables}}{\text{oeufs viables}}$	% oeuf viables retrouvés
0	52
1	52,5
2	43
4	54
6	30
8	51
12	51
24	68,5

Tableau n° 57 : Sensibilité de la méthode en présence de quantités croissantes d'oeufs non viables

Eu égard aux risques de 1ère et de 2ème espèces sur les titres des solutions, la méthode semble peu sensible à des variations de 1 à 24 du ratio oeufs non viables oeufs viables.



ETUDES SUR LE TERRAIN

ETUDES SUR LE TERRAIN

Elles ont été réalisées sur différents types d'échantillons : eaux, boues résiduelles, sols et végétaux.

1 - DEVENIR DES OEUFS D'HELMINTHES AU COURS DE CYCLES D'EPURATION

Il a été étudié sur la station d'épuration de NANCY-MAXEVILLE et sur celle de BACCARAT.

1.1 - Résultats obtenus sur le site de NANCY-MAXEVILLE

Deux études ont été conduites sur ce site : d'une part un suivi quotidien pendant une semaine sur des échantillons d'eaux et de boues et d'autre part un suivi hebdomadaire pendant une année sur des échantillons d'eaux d'entrée et de sortie.

. La première étude est effectuée sur des échantillons d'eaux d'un volume de 100 litres et sur des échantillons de boues de 2 kg à partir desquels sont réalisés des sous échantillons de 100 g. La technique utilisée est la méthode de JANECKSO-URBANYI

Le tableau n° 58 montre la répartition des oeufs d'helminthes dans les eaux usées.

Types oeufs Lieux de prélèvements	NEMATODES				CESTODES		
	<u>Ascaris</u>	<u>Toxo- cara</u>	<u>Trichuris</u>	Total	<u>Hymeno- Tepis</u>	<u>Tenia</u>	Total
Entrée station n**=7	\bar{x} 4,95* σ 2,21	1,45 0,58	0,36 0,31	6,76 2,42	0,4 0,3	1,64 1,22	2,04 1,15
Sortie station n=4	\bar{x} 0,59 σ 0,44	0,44 0,40	0,05 0,06	1,08 0,61	0,035 0,030	0,29 0,32	0,34 0,43

* Nombre moyen d'oeufs/l

** Nombre d'échantillons de 100 l

Tableau n° 58 : Concentration d'oeufs d'helminthes dans les eaux usées

D'un point de vue qualitatif, des oeufs de Nématodes et de Cestodes sont mis en évidence aussi bien en entrée qu'en sortie de station. D'un point de vue quantitatif, la forte prédominance des oeufs de Nématodes est remarquable aussi bien en entrée qu'en sortie de station, les intervalles de confiance permettant de considérer comme significative la différence entre Nématodes et Cestodes.

Dans la famille des Nématodes, on observe des oeufs d'Ascaris, Trichuris et Toxocara. Il faut souligner en entrée la forte majorité d'oeufs d'Ascaris et de Toxocara, significative eu égard à la dispersion observée, par rapport à la faible représentation des oeufs de Trichuris. Dans les eaux de sortie, des oeufs d'Ascaris et de Toxocara sont encore mis en évidence confirmant l'extrême résistance de ce type d'oeufs au traitement de digestion (REIMERS et al., 1981). Ces auteurs obtiennent des pourcentages de réduction d'oeuf s'échelonnant de 34 à 91 % selon le type d'oeuf (Ascaris, Trichuris, Toxocara) et le type de traitement d'épuration. Quant aux oeufs de Trichuris ils ne sont pratiquement plus mis en évidence.

Chez les Cestodes, des oeufs de Taenia et d'Hymenolepis sont observés en entrée, la prédominance des oeufs de Taenia est statistiquement significative. En sortie, quel que soit le type d'oeuf, les quantités retrouvées sont très faibles. Ces derniers chiffres corroborent les ré-

sultats de STOREY (1987) sur les possibilités de survie d'oeufs de Cestodes à travers les cycles d'épuration qui montrent une quasi élimination de ce type d'oeufs à l'issue des diverses phases de traitement.

Le tableau n° 59 indique le nombre d'oeufs d'helminthes isolés dans les boues.

Numéro d'échantillon	Moyenne sur 8 jours	DATE DE PRELEVEMENT							
		17/6/86	19/6/86	20/6/86	23/6/86	24/6/86	25/6/86	26/6/86	27/6/86
1	186 _± 33	187** 210* 23***	163 187 24	163 163 0	163 186 23	257 257 0	140 163 23	187 187 0	93 139 46
2	146 _± 55	187 0	233 0	116 0	187 0	139 0	24 47 23	47 93 46	140 163 23
3	140 _± 37	117 0	139 0	140 0	93 0	210 0	163 0	163 0	93 93 0
4	146 _± 59	163 0	186 23	163 0	70 0	233 0	117 0	47 0	187 187 0
5	130 _± 42	139 0	163 0	140 0	117 0	163 23	140 0	117 0	35 35 0
6	131 _± 75	139 0	257 0	187 0	139 0	23 0	47 0	70 0	187 187 0
\bar{x}	146,5	155 4	186 8	152 0	128 4	171 4	105 8	105 8	122 12
σ	27,1	23,9 31,5 8,5	42,7 39,9 10,5	22,5 22,5 0	33,9 42,9 8,5	77,1 77,2 10,5	47,8 49 10,5	42,4 49 10,5	54,8 54,1 17,5

- * nombre d'oeufs d'helminthes par 100 g de boues semi-déshydratées (humidité résiduelle 70 %)
- ** nombre d'oeufs de nématodes
- *** nombre d'oeufs de cestodes

Tableau n° 59 : Nombre d'oeufs d'helminthes isolés dans les boues

Le nombre d'oeufs d'helminthes retrouvés dans 100 g de boues semi-déshydratées varie de 23 à 257 ; les moyennes quotidiennes s'échelonnent de 133₊₄₉ à 194_{+39,9} oeufs pour 100 g de boues ; les moyennes par échantillon de 130₊₄₂ à 186₊₃₃ oeufs pour 100 g de prélèvement. Des études préliminaires (Tableau n° 60) avaient respectivement mis en évidence 188₊₁₄₂ et 140₊₇₀ oeufs pour 100 g de boues.

	<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris</u>	<u>Hymenolepis</u>	<u>Taenia</u>	Total
Campagne n°1 \bar{x}	67	60	12	12	37	188
n = 10 σ	43	52	8	8	20	142
Campagne n°2 \bar{x}	70	40	0	5	25	140
n* = 10 σ	57	28		10	17	70

n* : nombre d'échantillons de 100 g de boues semi-déshydratées

Tableau n° 60 : Résultats des études antérieures

En ce qui concerne les types d'oeufs isolés, dans tous les échantillons, des oeufs de Nématodes sont retrouvés alors que les oeufs de Cestodes sont présents seulement dans 21 % des cas. Pour les Nématodes, les charges maximales sont de 257 oeufs / 100 g de boues et les charges minimales de 35 oeufs / 100 g de boues. Chez les Cestodes les quantités dénombrées sont toujours faibles de 23 à 47 oeufs / 100 g de boues. Quant à la distribution à l'intérieur des familles, chez les Cestodes, il y a des oeufs d'Hymenolepis et de Taenia alors que chez les Nématodes des oeufs d'Ascaris, Trichuris et Toxocara sont mis en évidence. Les pourcentages respectifs de chaque type d'oeufs de Nématodes sont rassemblés dans le tableau n° 61.

Numéro d'échantillon	<u>Ascaris</u> spp	<u>Toxocara</u> spp	<u>Trichuris</u> spp
1	101 (65 %)	47 (30 %)	8 (5 %)
2	105 (56,4 %)	66 (35,5 %)	15 (8,2 %)
3	70 (46 %)	78 (51,3 %)	4 (2,7 %)
4	70 (54,7 %)	54 (42,2 %)	4 (3,1 %)
5	109 (63,7 %)	58 (33,9 %)	4 (2,4 %)
6	62 (59 %)	43 (41 %)	0 (0 %)
7	43 (45,7 %)	47 (50 %)	4 (4,3 %)

Tableau n° 61 : Répartition des espèces dans la famille des Nématodes isolées des boues

Les oeufs d'Ascaris représentent selon les prélèvements de 45,7 % à 65 % des oeufs de Nématodes isolés, soit en moyenne 55,6 % alors que les oeufs de Toxocara sont retrouvés en pourcentages significativement plus faibles entre 30 et 45,9 % soit en moyenne 41,2 %.

Si on considère que le traitement dans la station de 100 litres d'eaux brutes conduit en fin de cycle à la production de 14 g de boues semi-déshydratées, il est possible de dresser un bilan global de l'influence des traitements sur le devenir des oeufs d'helminthes.

En entrée de station, le nombre d'oeufs d'helminthes est de 8,80 oeufs/l, en sortie 1,4 oeufs d'helminthes sont dénombrés dans un même volume soit une diminution globale de la charge parasitaire de 84 % ; en fait 81 % des oeufs sont détruits au cours du traitement et 3 % seulement sont retrouvés au niveau des boues.

. La seconde étude rend compte du suivi hebdomadaire de la concentration en oeufs d'helminthes dans des échantillons d'eaux brutes et épurées d'un volume de 25 litres sur une période de 42 semaines (Tableaux n° 61 et 61 bis).

SEMAINES	EAUX ENTREE					EAUX SORTIE				
	Asc.	Trich.	Tox.	Tén.	Hymen.	Asc.	Trich.	Tox.	Tén.	Hymen.
1	3,2*	0,47	1,53	1,2	0,53	0,47	0,14	0,4	0,07	0,07
2	9,2	0,8	1,50	2,5	0,8	ND	ND	ND	ND	ND
3	5,7	0,67	0,33	1	0,67	ND	ND	ND	ND	ND
4	5,4	0,54	1,8	4	0	1,08	0,06	1,08	1,08	0
5	5,5	0	1,32	2,1	0	ND	ND	ND	ND	ND
6	4,2	0	2,4	0,6	0,6	0,35	0	0,6	0	0,06
7	1,25	0,25	0,25	0	0	0	0	0	0	0
8	0,5	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0
9	0,25	0	0,5	0,25	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0
12	1	0	0,75	0,5	0	0	0	0	0	0
13	0,5	0	1	1	0	0	0	0	0	0
14	0,5	0	0,75	0,25	0	0	0	0	0	0
15	0	0,25	0,25	0	0	0	0	0	0	0
16	0,5	0	0	0	0	0	0	0,25	0	0
17	2,5	0,5	1,25	0,5	0,5	ND	ND	ND	ND	ND
18	0,25	0,25	0,75	0,25	0,25	ND	ND	ND	ND	ND
19	0,5	0,5	1	0,75	0	ND	ND	ND	ND	ND
20	1,25	0	0,5	0,75	0	ND	ND	ND	ND	ND
21	0,75	0	0,75	0,75	0	ND	ND	ND	ND	ND

* nombre oeufs/litre

Asc. : Ascaris
 Trich. : Trichuris
 Tox. : Toxocara

Tén. : Ténia
 Hymeno. : Hymenolepis

ND : non déterminé

Tableau n° 61 : Concentration en oeufs d'helminthes dans les eaux usées :
 suivi sur 42 semaines

Semaine	EAUX ENTREE				
	<u>Ascaris</u>	<u>Trichuris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Ténia</u>	<u>Hymenolep is</u>
22	0,25	0	0	0,25	0
23	0	0,25	0	0,25	0,25
24	1	0	0,5	0,5	0,5
25	1,25	0	0	0,5	0
26	0,25	0,25	0	0	0,25
27	0,25	0	0,5	0,5	0
28	0,25	0	0	0,25	0,25
29	0	0	0	0,25	0,25
30	0	0	0	0	0
31	0,25	0,25	0	0	0
32	0,25	0	0,25	0	0
33	1,25	0	1	0	0
34	0,75	0	0,25	0,25	0
35	1,5	0,25	0	0,25	0
36	1,25	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0
38	1	0	0	0,5	0
39	0,5	0	1	0,5	0
40	0,25	0	0	0,25	0
41	0	0	0	0	0
42	0	0	0,25	0,25	0

Tableau n° 61bis : Concentration en oeufs d'helminthes dans les eaux usées : suivi sur 42 semaines

Qualitativement, les espèces retrouvées sont toujours les mêmes : oeufs de Nématodes (Ascaris, Trichuris, Toxocara) et de Cestodes Taenia et Hymenolepis).

Quantitativement, il faut distinguer deux périodes de la 1ère à la 6ème semaine et ensuite de la 7ème à la 42ème semaine.

- Au cours de la 1ère période, les quantités d'oeufs d'helminthes retrouvées dans les eaux usées brutes varient de 6,8 à 14,8 / l. Au cours de la 2ème période les concentrations en oeufs d'helminthes s'échelonnent de 0 à 4,7 oeufs/l.

Cette chute brutale du nombre d'oeufs d'helminthes par litre d'eaux usées brutes a pu être expliquée après une enquête effectuée auprès des abattoirs. En effet, à la 7ème semaine de prélèvement correspond un changement dans le mode d'abattage des animaux. Les viscères de ceux-ci qui, auparavant, étaient traités sur place, sont désormais placés dans des containers et dirigés vers des centres de traitements spécialisés. Dans ces conditions, il est possible d'expliquer les chutes importantes des concentrations en oeufs d'Ascaris et en oeufs de Taenia. Afin de déterminer l'éventuel risque parasitaire lié à la présence d'oeuf d'Ascaris, une étude de viabilité a été menée de façon ponctuelle sur 10 échantillons de 50 litres d'eaux usées brutes. 25 litres étaient traités selon le protocole classique de JANECKSO-URBANYI et 25 litres selon la technique au n-butanol. Le nombre d'Ascaris retrouvés selon la méthode de JANECKSO-URBANYI est de $1,68 \pm 0,48$ / litre ; la technique au n-butanol montre qu'aucun de ces oeufs n'était viable.

- Dans les eaux épurées, le même phénomène est observé : ainsi au cours des 6 premières semaines de campagne, le nombre d'oeuf d'helminthes par litre d'eau usée épurée varie de 1 à 3,6 ; en revanche après la 6ème semaine, aucun oeuf n'est détecté. Dans ces conditions l'analyse des eaux usées épurées a été arrêtée à la 16ème semaine. Enfin, il faut souligner la relative constance des quantités d'oeufs retrouvées en eau d'entrée aussi bien en 1ère qu'en 2ème période. Ainsi il ne peut être mis en évidence aucune variation saisonnière significative. Cette relative constance du nombre d'oeuf au cours du temps pourrait être mise au compte de l'environnement essentiellement urbain et donc de composition parasitaire peu fluctuante de la station d'épuration de NANCY-MAXEVILLE.

1.2 - Résultats obtenus sur le site de BACCARAT

Les concentrations en oeufs d'helminthes retrouvées dans les eaux et les boues sont rassemblées dans le tableau n° 62.

type échantillons	Oeufs	<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Taenia</u>	Total
Eau entrée	n = 5	0,47*+0,07	0,15+0,04	0,35+0,06	0,97+0,17
Eau sortie	n = 5	0,64*+0,08	0	0,38+0,07	1,02+0,15
Boues de lit de séchage	n = 45	0**	0	0	0

* Nombre d'oeufs/l

** Nombre d'oeufs/100 g

Tableau n° 63 : Concentration d'oeufs d'helminthes dans les eaux usées et les boues de la station d'épuration de BACCARAT

D'un point de vue qualitatif, le nombre d'espèces observées est plus faible : ainsi n'ont jamais été mis en évidence ni des oeufs de Trichuris ni des oeufs d'Hymenolepis.

Les quantités d'oeufs retrouvées en eaux brutes (0,97+0,17) sont voisines de celles observées à la station d'épuration de NANCY-MAXEVILLE. En eau de sortie, les valeurs observées (1,02+0,15 oeufs/l) ne diffèrent pas significativement de celles détectées en eaux d'entrée. Cette absence d'abattement entre eau d'entrée et eau de sortie est d'ailleurs confirmée par les résultats obtenus sur les 45 échantillons de boues de lit de séchage qui ne renferment aucun oeuf.

L'étude de la viabilité des oeufs d'Ascaris effectuée sur les échantillons d'eaux de sortie montre que ces oeufs sont viables.

En conclusion de ces deux études réalisées sur deux stations d'épuration de type biologique, on peut souligner la divergence des résultats obtenus.

Dans la station de NANCY-MAXEVILLE, les oeufs d'helminthes sont totalement éliminés des eaux épurées et sont retrouvés au niveau des boues digérées puis dans les boues semi-déshydratées en faible pourcentage (3 %) ce qui représente 3.10^7 oeufs par jour.

La station de BACCARAT n'élimine pas les oeufs d'helminthes présents dans les eaux usées brutes puisque $1,6.10^6$ oeufs sont rejetés journallement avec les eaux épurées. Cette non élimination est sans doute la résultante de deux phénomènes, d'une part une étape d'aération s'opposant à la sédimentation gravitaire des éléments parasitaires de densité voisine de 1 et d'autre part une étape de clarification trop brève (3 H 45) ne permettant pas la sédimentation des oeufs d'helminthes intestinaux estimée, selon SHUVAL et al. (1986) à 0,6 m/heure dans le cas des Ascaris et 0,26 m/heure pour les oeufs de Taenia dans des eaux au repos. Dans ces conditions, un séjour d'au moins 6 heures serait nécessaire pour obtenir une décantation efficace des oeufs d'helminthes.

Le seul point positif dans cette station de BACCARAT est la production de boues quasi exemptes d'oeufs d'helminthes.

2 - OEUFS D'HELMINTHES APRES REJET EN MER DE BOUES RESIDUAIRES

Avant de réaliser l'analyse systématique des prélèvements effectués au cours des trois campagnes, il a été procédé à une étude préliminaire pour choisir le mode de prélèvement le plus adapté pour le recueil des sédiments ainsi que la technique de concentration la plus performante.

2.1 - Etude préliminaire

Deux techniques de prélèvements des sédiments ont été testées : la cuillère de Van VEEN et l'appareil de REINECK.

Les méthodes utilisées étaient d'une part la technique de JANECKSO-URBANYI et d'autre part celle de BAILENGER couplée à celle de JANECKSO-URBANYI.

Les échantillons de 40 g étaient subdivisés en 4 sous-échantillons de 10 g. Globalement 4 échantillons ont été analysés. Les résultats sont rassemblés dans les tableaux n° 64 et 65

Les résultats obtenus, quelle que soit la méthode d'enrichissement choisie, démontrent la supériorité du prélèvement réalisé avec l'appareil de REINECK. En effet, le nombre total d'oeufs retrouvés ainsi que les types observés sont globalement plus élevés avec ce type de prélèvement.

Le choix des techniques d'enrichissement a été effectué sur 12 échantillons de sédiments (tableau n° 66).

METHODE D'ENRICHISSEMENT	NOMBRE D'ECHANTILLONS ANALYSES	NOMBRE D'ECHANTILLONS POSITIFS
JANECKSO-URBANYI	12	9 (75 %)
BAILENGER + JANECKSO-URBANYI	12	5 (41,6 %)

Tableau n° 66 : Comparaison des différentes techniques d'enrichissement

Au vu des résultats obtenus, la technique de JANECKSO-URBANYI a été retenue car elle s'est révélée être la technique permettant la détection du plus grand nombre d'échantillons positifs (75 % contre 41,6 % avec la technique de BAILENGER).

2.2 - Etude systématique

Pour la 1ère campagne, les résultats sont présentés dans le tableau n° 67.

MODE DE PRELEVEMENT	NOMBRE ECHANTILLONS ANALYSES	NOMBRE TOTAL D'OEUFS	TYPES D'OEUFS				
			<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris Capillaria</u>	<u>Hymenolepis</u>	<u>Taenia</u>
Appareil	4	90*	0	15	30	0	45
Reineck	4	110	50	30	30	0	0
Cuillère	4	45	0	0	45	0	0
Van Veen	4	75	15	0	15	0	45

* Résultats exprimés pour 100 g de sédiments

Tableau n° 64 : Résultats de l'analyse parasitologique avec la méthode de JANECKSO-URBANYI

MODE DE PRELEVEMENT	NOMBRE ECHANTILLONS ANALYSES	NOMBRE TOTAL D'OEUFS	TYPES D'OEUFS				
			<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris Capillaria</u>	<u>Hymenolepis</u>	<u>Taenia</u>
Appareil	4	30*	15	15	0	0	0
Reineck	4	145	45	0	30	0	70
Cuillère	4	75	30	0	15	0	30
Van Veen	4	60	0	0	30	0	30

* Résultats exprimés pour 100 g de prélèvements

Tableau n° 65 : Résultats de l'analyse parasitologique avec la méthode de BAIENGER couplée à celle de JANECKSO-URBANYI

LIEU DE PRELEVEMENT	Nbre TOTAL OEUFS	TYPES D'OEUFS				
		<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris Capillaria</u>	<u>Hymeno- lepis</u>	<u>Taenia</u>
Besos (zone A)						
Echantillon 8	15	15	0	0	0	0
Echantillon 27	0	0	0	0	0	0
Echantillon V	15	15	0	0	0	0
Echantillon W	30	15	15	0	0	0
Emissaire (zone B)						
Echantillon Z	120	30	45	30	0	15
Echantillon X	45	0	0	15	0	30
Echantillon Y	0	0	0	0	0	0
Echantillon O ₂	15	0	0	0	0	15
Barcelonetta (zone C)						
Echantillon L	30	0	0	30	0	0
Echantillon M	45	15	0	30	0	0
Echantillon N	15	0	0	15	0	0
Echantillon O	0	0	0	0	0	0

* nombre d'oeufs/100 g de sédiments

Tableau n° 67 : Résultats de la première campagne (novembre 1987)

La 2ème campagne (mars 1988) a comporté l'analyse des 12 points analysés lors de la première campagne, ainsi que celle de six échantillons supplémentaires en vue de préciser les tendances observées au cours de la première campagne (Tableaux n° 68 et n° 69).

La localisation des points supplémentaires est indiquée ci-dessous :

Point 1 : zone de la frange littorale des plages

Point 2 : plage de Barcelonetta

Point 3 : embouchure du Besos

Point 4 : sédiment du lit du Besos

Point H : embouchure du Besos

Point G : point intermédiaire entre les zones B et C

LIEU DE PRELEVEMENT	Nbre TOTAL OEUFS	TYPES D'OEUFS				
		<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris Capillaria</u>	<u>Hymenolepis</u>	<u>Taenia</u>
Besos (zone A)						
Echantillon 8	80*	20	20	0	0	40
Echantillon 27	11	0	11	0	0	0
Echantillon V	55	22	22	0	0	11
Echantillon W	60	0	40	0	0	20
Emissaire (zone B)						
Echantillon Z	132	44	66	0	11	11
Echantillon X	88	11	44	22	0	0
Echantillon Y	90	48	16	16	0	0
Echantillon O ₂	256	96	80	0	24	56
Barcelonetta (zone C)						
Echantillon L	59	33	20	0	6	0
Echantillon M	60	33	8	8	0	16
Echantillon N	76	66	0	10	0	0
Echantillon O	106	66	20	10	10	0

* nombre d'oeufs/100 g de sédiments

Tableau n° 68 : Résultats de la deuxième campagne (mars 1988)

LIEU DE PRELEVEMENT	Nbre TOTAL OEUFS	TYPES D'OEUFS				
		<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris Capillaria</u>	<u>Hymenolepis</u>	<u>Taenia</u>
Echantillon 1	0	0	0	0	0	0
Echantillon 2	0	0	0	0	0	0
Echantillon 3	0	0	0	0	0	0
Echantillon 4	78	12	60	0	0	6
Echantillon H	121	47	56	9	0	9
Echantillon G	65	10	33	0	0	22

* Nombre d'oeufs/100 g de sédiments

Tableau n° 69 : Résultats de la deuxième campagne (mars 1988)
Points supplémentaires

La 3ème campagne (juin 1988) était destinée à affiner les résultats antérieurs. Elle a porté sur 12 échantillons représentatifs. Les trois points supplémentaires A, B, 19 étaient destinés à confirmer ou infirmer des hypothèses émises au vu des résultats des campagnes précédentes (tableaux n° 70 et 71).

LIEU DE PRELEVEMENT	Nbre TOTAL OEUFS	TYPES D'OEUFS				
		Ascaris	Toxocara	Trichuris Capillaria	Hymeno- lepis	Taenia
Besos (zone A)						
Echantillon 8	124	33	83	8	0	0
Echantillon 27	0	0	0	0	0	0
Echantillon V	16	0	0	0	0	8
Emissaire (zone B)						
Echantillon Z	83	33	50	0	0	0
Echantillon Y	88	22	66	0	0	0
Echantillon O ₂	41	25	0	0	8	8
Barcelonetta (zone C)						
Echantillon L	90	8	58	16	0	8
Echantillon M	41	0	33	0	0	8
Echantillon N	5	0	5	0	0	0

* nombre d'oeufs/100 g de sédiments

Tableau n° 70 : Résultats de la troisième campagne (juin 1988)

LIEU DE PRELEVEMENT	Nbre TOTAL OEUFS	TYPES D'OEUFS				
		<u>Ascaris</u>	<u>Toxocara</u>	<u>Trichuris Capillaria</u>	<u>Hymenolepis</u>	<u>Taenia</u>
Echantillon f (Y)	88	22	66	0	0	0
Echantillon A	44	0	33	0	11	0
Echantillon B	66	0	55	11	0	0
Echantillon 19	44	22	22	0	0	0

Tableau n° 71 : Résultats de la troisième campagne (points supplémentaires)

La détermination de la viabilité des oeufs d'Ascaris au cours des 2ème et 3ème campagne a été réalisée par la méthode au n-butanol (tableau n° 72).

LIEU DE PRELEVEMENT	POURCENTAGE D'OEUFS VIABLES DANS 100 G D'ECHANTILLONS	
	2ème campagne	3ème campagne
Zone A	5 %	100 %
Zone B	14 %	42 %
Zone C	50 %	100 %
Echantillons H - G	100 %	ND
Echantillons 1 - 2 - 3	0 %	ND
Echantillon 4	80 %	ND
Echantillon f (Y)	ND	0 %
Echantillon A	ND	0 %
Echantillon B	ND	0 %
Echantillon 19	ND	50 %

ND : non déterminé

Tableau n° 72 : Recherche de la viabilité des oeufs d'Ascaris

Globalement sur les 42 échantillons analysés 35 renfermaient des oeufs d'helminthes appartenant à la famille des Nématodes et/ou des Cestodes. Il faut noter l'écrasante prédominance des oeufs de Nématodes qui sont retrouvés dans tous les échantillons positifs (35/35) alors que les oeufs de Cestodes sont observés dans 20 échantillons seulement.

Chez les Nématodes sont mis en évidence des oeufs de Toxocara présents dans 71,4 % des prélèvements, des oeufs d'Ascaris retrouvés dans 65,7 % des échantillons et des oeufs de Trichuris-Capillaria observés dans 42,8 % des prélèvements.

Chez les Cestodes, des oeufs de Taenia et Hymenolepis ont été isolés mais il faut souligner l'extrême fréquence des oeufs de Taenia retrouvés dans 17 des 20 échantillons renfermant des Cestodes comparativement aux 6 échantillons positifs en oeufs d'Hymenolepis.

Ces types d'oeufs retrouvés sont ceux décrits classiquement dans les boues et les eaux usées. Au niveau des sédiments marins, aucune donnée bibliographique n'a été trouvée sur la recherche des oeufs d'helminthes. Dans un travail précédent nous avons effectué l'analyse parasitologique des boues de la station d'épuration San Adrian. Ces boues s'étaient révélées fort riches en oeufs d'helminthes avec 70 % d'échantillons contenant au moins 3 types d'oeufs différents. Les oeufs de Cestodes étaient pratiquement représentés de la même façon que les oeufs de Nématodes (80 % d'échantillons avec des Cestodes contre 90 % avec des Nématodes). De plus chez les Nématodes avaient été retrouvés fréquemment des oeufs d'oxyure qui sont totalement absents des échantillons marins.

Il semblerait donc que le milieu marin se révèle particulièrement hostile aux oeufs de Cestodes puisque retrouvés dans seulement 47 % des échantillons contre 83,3 % de prélèvements renfermant des Nématodes. Cependant chez les Nématodes, les oeufs d'oxyure semblent particulièrement labiles dans le milieu marin puisque nous ne les avons jamais retrouvés dans la zone de l'émissaire.

A l'inverse, les oeufs de Toxocara ont été retrouvés avec une très grande fréquence. Or l'analyse de données bibliographiques (BOUCHET, 1985) montre la possibilité pour ces oeufs de se conserver très long-

temps dans du sable. Pour étudier l'hypothèse d'une possible contamination du sédiment marin à partir de la plage, nous avons effectué l'analyse de plusieurs prélèvements de sable effectués sur les sites de Prim et Bogatel. Tous les échantillons étaient négatifs infirmant donc l'hypothèse d'une possible contamination tellurique.

La comparaison par campagne de prélèvement montre que c'est en novembre 1987 que les concentrations en oeufs d'helminthes parasites sont les plus faibles quel que soit le point de prélèvement.

* Une explication possible à cette observation serait peut être à rechercher au niveau de variations climatiques.

Si l'on compare les valeurs retrouvées pour chaque échantillon au cours du temps, globalement on peut décrire trois zones.

. La zone A regroupant les échantillons 8, 27, V sous influence du rio Besos est toujours faiblement polluée. Le point 27 situé au débouché du rio Besos est retrouvé faiblement positif seulement au cours de la campagne de mars 1988 ; les concentrations observées dans ce sédiment étant d'ailleurs les plus faibles retrouvées avec 11 oeufs pour 100 g de sédiment. Si les prélèvements effectués aux points 8 et V renferment toujours des oeufs d'helminthes, en revanche le point 8 plus au large des côtes que le point V a toujours une concentration parasitaire plus élevée atteignant 124 oeufs par 100 g de sédiments en juin 1988. Ces observations ont été affinées par l'examen des points de prélèvements supplémentaires 4 et H.

Les sédiments récupérés dans le rio Besos (point 4) renferment 70 oeufs / 100 g de sédiment et ces oeufs sont retrouvés au niveau de l'embouchure de rio Besos point H (103 oeufs / 100 g de sédiments). La viabilité des oeufs d'Ascaris effectuée sur ce prélèvement montre que 100 % des oeufs sont viables. Cependant dès que l'on s'éloigne de l'embouchure, les concentrations en parasites diminuent et surtout la viabilité des oeufs d'Ascaris retrouvés est plus faible (50 % au point 27).

Les résultats obtenus dans cette zone démontrent également l'importance des courants marins dominants, les oeufs d'helminthes issus du

rio Besos sont retrouvés jusqu'au point 8 comme le prouve l'excellente continuité entre les points 4, H et 8.

. Dans la zone B ou région de l'émissaire, les échantillons Z et O₂ étaient toujours fortement contaminés avec des concentrations en oeufs d'helminthes variant de 15 à 256 pour 100 g de sédiments, l'échantillon Ya toujours un niveau de contamination plus faible. L'explication de cette observation tient sans doute à l'existence de courants marins qui véhiculent les oeufs d'helminthes de la sortie de l'émissaire vers le large selon un trajet qui intègre les points de prélèvement X, O₂, Z. L'analyse des points supplémentaires G et 19 a permis de confirmer cet axe O₂, X, Z avec une décroissance de la viabilité liée sans doute au séjour prolongé des oeufs dans un milieu peu favorable.

. Enfin dans la zone C ou zone des plages, les concentrations en oeufs d'helminthes retrouvées (points L, M, N) s'échelonnent de 5 à 90 oeufs d'helminthes pour 100 g de sédiments. Elles sont en fait intermédiaires entre celles observées dans les zones A et B. Les résultats obtenus démontrent l'existence d'un flux d'oeufs entre les points L, M, N et il pourrait être intéressant de suivre ce flux afin de voir s'il restait parallèle à la côte au-delà des plages de Prim et Bogatel. L'étude de points supplémentaires O et A permis de prouver qu'il n'y avait pas de rabat des sédiments vers ces plages (Figure n° 17).

COURANT MARIN
DOMINANT



BESOS

STATION
SAN ABRIAN

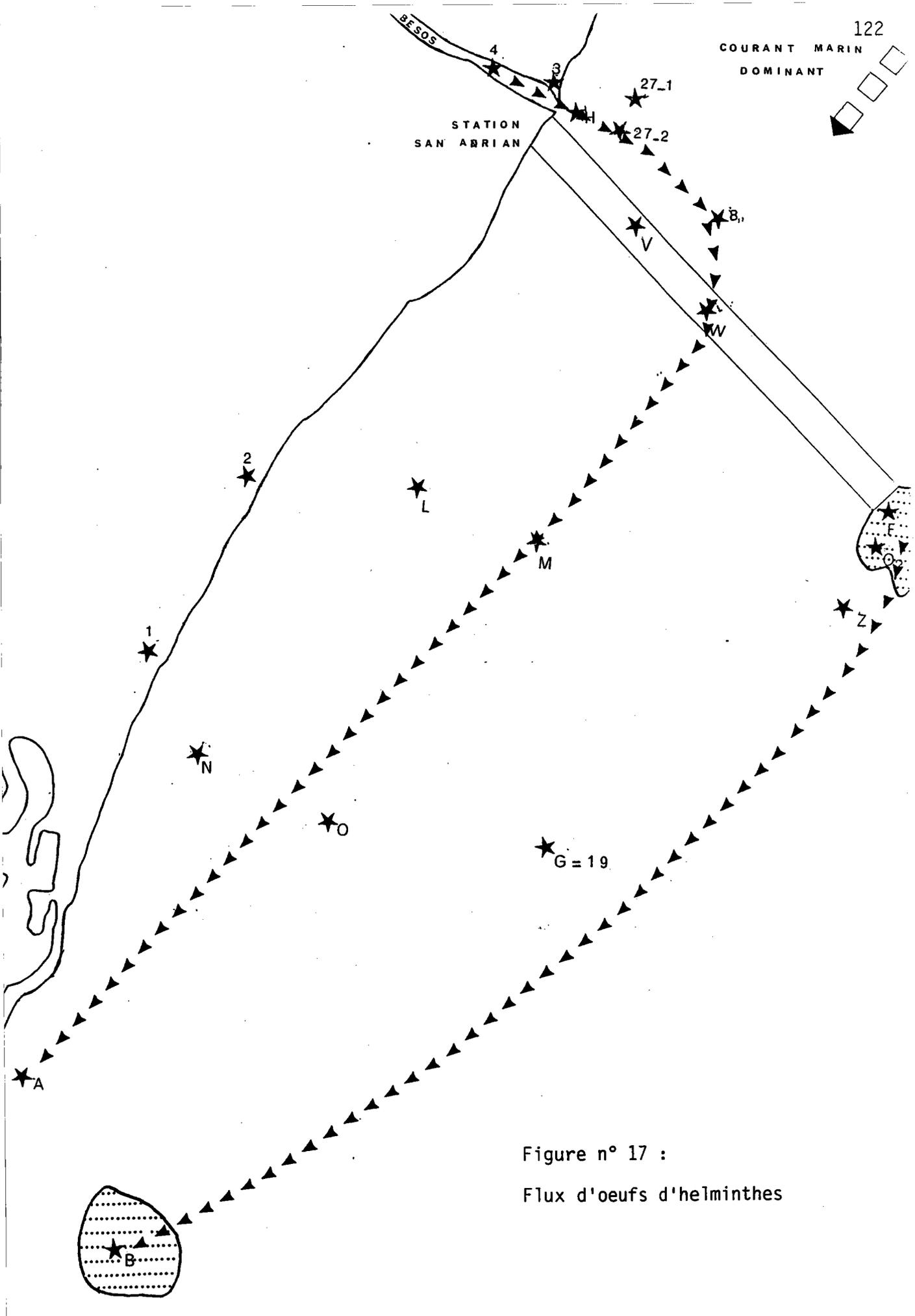


Figure n° 17 :
Flux d'oeufs d'helminthes

DEPOT DE SEDIMENTS

1 KM

3 - RECHERCHE D'OEUFS D'ASCARIS DANS DES SOLS ET DES VEGETAUX ARTIFICIELLEMENT CONTAMINES

3.1 - Analyse de sol

Elle a été conduite sur trois types d'échantillons de terre contaminée artificiellement à raison de 700 oeufs d'Ascaris viables / cm² répandus sous forme d'une suspension d'oeufs en eau distillée ; deux expositions à l'ombre et au soleil étant testées. La technique de concentration utilisée est la méthode de JANECKSO-URBANYI. Chaque expérimentation est réalisée sur 10 échantillons ; 2 échantillons (surface et 2 cm de profondeur) sont analysés à J0, J+20, J+60, J+95. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'oeufs retrouvés (Tableau n° 73).

Les résultats obtenus en fonction de l'exposition montrent que quelle que soit la nature du sol les pourcentages observés dans les échantillons exposés au soleil sont toujours inférieurs à ceux détectés dans les échantillons placés à l'ombre.

. La nature du sol a une influence importante sur le nombre d'oeufs retrouvés : ainsi pour le terreau végétal exposé à l'ombre dans les échantillons collectés en surface et en profondeur 89,5 % des oeufs sont retrouvés alors que pour le sable fin dans les mêmes conditions seulement 46,5 % d'oeufs sont récupérés.

. La comparaison des résultats des échantillons de surface et de profondeur laisse apparaître une faible percolation des oeufs initialement déposés en surface.

. La décroissance est faible entre J0 et J+20 puisque à l'ombre de 46,5 % à 89,5 % d'oeufs sont récupérés. En revanche au-delà de 20 jours, la décroissance devient rapide. En exposition soleil, une importante chute du nombre d'oeufs est déjà observée à J+20 avec seulement de 7,9 à 28 % d'oeufs retrouvés. Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par BEAVER (1952) sur sols sableux et argileux qui observe une quasi disparition des oeufs d'Ascaris au bout de 90 jours.

Nature échantillon	Type prélèvement	J0		J+20		J+60		J+95	
		Surface	Profondeur	Surface	Profondeur	Surface	Profondeur	Surface	Profondeur
Sable fin	0	100 %	0 %	30,2 %	16,3 %	10,3 %	11,8 %	1,9 %	1,9 %
	S	100 %	0 %	22,6 %	5,4 %	12,4 %	2,5 %	0 %	0,2 %
Sable grossier	0	100 %	0 %	37,3 %	23,4 %	17,7 %	4,6 %	9,7 %	1,7 %
	S	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Terreau végétal	0	100 %	0 %	55,8 %	33,7 %	20 %	15,9 %	5 %	1,3 %
	S	100 %	0 %	7,2 %	0,7 %	3,6 %	0,5 %	0,3 %	0,3 %

ND : non déterminé

0 : ombre

S : soleil

Tableau n° 73 : Pourcentage d'oeufs retrouvés dans les sols

3.2 - Analyse de végétaux

Elle a été effectuée sur trois types de végétaux (salade, radis, ciboulette) et sur le sol avoisinant contaminé à raison de 104 oeufs / m². Une analyse préliminaire du terreau utilisé a montré qu'il était totalement exempt d'oeufs d'helminthes et que son pH était de 6,2

Nature échantillon	Date de Prélèvement	J0	J+10	J+45	J+60
SALADE					
. feuille haute		100 %	0 %	0 %	0 %
. feuille basse			0,5 %	0 %	0 %
. sol surface			15,4 %	0,1 %	0,07 %
. sol profondeur			1,3 %	0,3 %	0,3 %
RADIS					
. feuille		100 %	0 %	0 %	0 %
. sol surface			18 %	1,7 %	0,07 %
. interface sol tubercule			58 %	1,7 %	3,2 %
CIBOULETTE					
. feuille		100 %	0 %	0 %	0 %
. sol surface			10 %	1,1 %	0,1 %
. interface sol racine			13 %	9,1 %	0,9 %

Tableau n° 74 : Pourcentage d'oeufs retrouvés sur les végétaux et sols

A la lecture des résultats présentés dans le tableau n° 74, on observe une disparition totale des oeufs des parties aériennes végétales 10 jours après la contamination. Cette élimination rapide peut s'expliquer par l'action conjuguée de divers facteurs : exposition au soleil, précipitations, arrosage... .

A J+10 au niveau des prélèvements de sols, globalement les quantités retrouvées diffèrent considérablement selon le type de végétal. Si pour la salade et la ciboulette les pourcentages retrouvés sont faibles (de 16,7 à 23 %), en revanche dans les échantillons de sol où sont cultivés les radis, les quantités d'oeufs retrouvés sont encore très importantes (76 %). Cette différence de résultats pourrait s'expliquer par des appareils radiculaires différents : superficiels et étendus pour la salade et la ciboulette ; profonds et localisés pour le radis. Ces deux dispositions sont sans doute responsables de processus de rétention d'eau différents. Dans ces conditions, les degrés d'humidité engendrés seront plus ou moins favorables à la persistance des oeufs d'Ascaris.

A partir de 45 jours, les évolutions sont identiques avec une chute importante à la fois dans les échantillons de surface et de profondeur. Il faut cependant souligner que les pourcentages d'oeufs retrouvés sont toujours plus importants dans les échantillons les plus profonds, marque possible d'une percolation des oeufs d'Ascaris.

Ces résultats obtenus sur des légumes artificiellement contaminés peuvent être comparés aux travaux de RUDOLFS et al., (1951) et à ceux de JACKSON et al. (1978). Chez ces auteurs, les délais de disparition des oeufs sur les végétaux sont voisins : 27 jours pour les tomates et 35 jours pour les laitues chez RUDOLFS et al., (1951), 6 jours pour laitue et radis d'après JACKSON et al., (1978). Dans les sols, JACKSON et al., (1978) retrouvent 10 % d'oeufs après 21 jours. Il faut souligner que la persistance des oeufs d'Ascaris est fonction des conditions climatiques, de la nature de sols. Ainsi l'étude de RUDOLFS et al. (1951) a été réalisée dans un pays à climat sec, les conclusions ne peuvent donc en aucun cas être extrapolées à des contrées soumises à un climat humide.

ETUDE PROSPECTIVE

ETUDE PROSPECTIVE

Dans ce chapitre, trois démarches sont présentées avec comme objectif commun une éventuelle élimination des oeufs d'Ascaris :

- une approche enzymatique ciblée sur l'altération de la coque de l'oeuf
- le rôle des écosystèmes présents dans les boues
- l'utilisation de souches de champignons telluriques manifestant une activité ovicide

1 - ACTION DES DIFFERENTES ENZYMES

Suite aux travaux consacrés à la paroi de l'oeuf d'Ascaris, ont été réalisées d'une part des hydrolyses simples visant à altérer la couche la plus externe de nature protéique, d'autre part des hydrolyses combinées destinées à désorganiser à la fois l'enveloppe externe ainsi que les structures internes de nature chitineuse ou glycolipidique.

Les différentes solutions enzymatiques ainsi que les conditions d'utilisation sont regroupées dans le tableau n° 75.

ENZYME	LIQUIDE DE DILUTION	MODE D'UTILISATION
Trypsine Seraned réf. 2103	Tampon PBS	Dilution 1/25 37°C
Pronase Sigma réf. 06911	Tampon Tris HCl pH 8,5	Dilution 1/16 37°C
Bromelaïne Sigma réf. B2252	Tampon acétoacétate pH 4,5	Dilution 1/100 37°C
Ficine Sigma réf. F3266	Tampon Tris HCl pH 7,2	Dilution 1/100 37°C
Papaïne Sigma réf. P3125	NH ₄ H CO ₃ 0,1 M MercaptoI éthanol 10 ⁻³ M EDTA 10 ⁻³ M	Dilution 1/10 37°C
NN' Diacétyl Chitobiose Sigma réf. D1523	Tampon Tris pH 7,2	Dilution 1/1000 42°C
Hesperidinase Sigma réf. 48037	Tampon 64,5% Acide citrique 21 g/l 35,5 % NaHPO ₄ 35,6 g/l	Dilution 1/100 40°C

Tableau n° 75 : Protocole de préparation et d'utilisation des solutions enzymatiques

Dans un premier temps ont été menées des hydrolyses simples avec la trypsine, la pronase, la bromelaïne, la papaïne et la ficine et dans un second temps des hydrolyses associant plusieurs enzymes selon les combinaisons suivantes :

- Trypsine + NN' Diacétylchitobiose
- Pronase + NN' Diacétylchitobiose
- Bromelaïne + NN' Diacétylchitobiose
- Ficine + NN' Diacétylchitobiose
- Papaïne + NN' Diacétylchitobiose
- Bromélaïne + NN' Diacétylchitobiose + Hesperidinase
- Ficine + NN' Diacétylchitobiose + Hesperidinase
- Papaïne + NN' Diacétylchitobiose + Hesperidinase

Les suspensions enzymatiques ainsi préparées sont mises à incuber avec des suspensions d'oeufs d'Ascaris à 37°C pendant 21 jours ; les lectures sont faites à j+1 puis j+ 8, j+15, j+21. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'oeufs dégénérés.

Pour les hydrolyses simples et combinées, les pourcentages d'oeufs dégénérés sont identiques entre échantillons traités avec les suspensions enzymatiques et les échantillons servant de témoins.

2 - DETERMINATION DE L'ACTIVITE OVICIDE DE SOUCHES DE CHAMPIGNONS TELLURIQUES

A partir des travaux de LYSEK et al, (1978, 1979, 1982, 1986, 1987) sur les propriétés ovicides de certains champignons isolés des sols vis-à-vis des oeufs d'helminthes, une étude a été conduite avec deux souches de champignons : Paecylomyces marquandii IP 1373.82 et Verticillium chlamydosporum IP 1382.82 et des suspensions d'oeufs d'Ascaris suum.

* Les souches de champignons sont cultivées en boîte de Roux sur gélose SABOURAUD additionnée de chloramphénicol (IP réf. 56544). L'incubation à 20°C est de 10 à 15 jours. La récupération des mycéliums se fait après dissociation du tapis à l'aide de billes de verre stériles

dans 20 ml d'une solution de Tween 80 à 5 %. La densité optique de la suspension obtenue est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 620 nm.

* Les suspensions d'oeufs d'Ascaris renfermant $2,5 \cdot 10^4$ oeufs/ml sont mises en présence des volumes croissants de la suspension mycélienne précédemment obtenue et étalonnée. Des tubes-témoins renfermant uniquement la suspension d'oeufs d'Ascaris et la solution de Tween 80 à 5 % sont également préparés. Un suivi hebdomadaire a été effectué pendant 5 semaines. La dispersion des résultats n'a permis de tirer aucune conclusion sur les éventuelles propriétés ovicides des souches fongiques testées.

3 - EMPLOI DES ECOSYSTEMES PRESENTS DANS LES BOUES

Ce travail vise à déterminer l'éventuelle activité des micro-organismes présents dans les différents types de boues vis-à-vis des oeufs d'Ascaris. Dans cette optique, selon un protocole décrit par SCHUH et al., (1985) des oeufs d'Ascaris ont été placés dans des sacs de toile à bluter* de porosité 27 μm et dimensions globales 5 x 5 cm. Les sacs scellés étaient immergés dans des récipients contenant :

- soit des boues primaires
- soit des boues digérées

Les sacs renfermaient de $3,7 \cdot 10^5$ à $1,3 \cdot 10^6$ oeufs. Les sacs étaient immergés pendant deux semaines. Après ce délai, le sac était ouvert, placé dans un récipient contenant de l'eau et broyé au mixer (400 tours/mn pendant 15 mn). Après centrifugation (1000 g, 5 mn), le dénombrement est effectué par la méthode JANECKSO-URBANYI. Avec la même technique, les boues étaient également analysées. Deux types d'essais témoins encadraient cette expérimentation : d'une part une expérience réalisée avec une suspension dans l'eau distillée d'oeufs d'Ascaris à la concentration choisie ($1,3 \cdot 10^6$) pour estimer l'évolution "naturelle" des

* Ets TRIPETTE et RENAUD - 82390 Villeneuve-la-Garenne

oeufs après deux semaines, d'autre part une étude réalisée toujours en eau distillée avec des oeufs contenus dans le sac de toile à bluter afin d'évaluer les éventuels échanges entre le sac et son environnement. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'oeufs retrouvés (Tableau n° 76).

TYPES D'ECHANTILLONS	NOMBRE D'ECHANTILLONS	POURCENTAGE D'OEUFs RETROUVES
Suspension oeufs <u>Ascaris</u> + Eau distillée	n = 5	23 \pm 17
Sac oeufs <u>Ascaris</u> + Eau distillée	n = 5 n = 5	32 \pm 10 10 \pm 9
Sac oeufs <u>Ascaris</u> + Boues primaires	n = 15 n = 15	28,1 \pm 17,11 24,6 \pm 17,9
Sac oeufs <u>Ascaris</u> + Boues digérées	n = 5 n = 5	1,5 \pm 1,1 0,5 \pm 0,2

Tableau n° 76 : Pourcentage d'oeufs retrouvés en fonction du type de boues

Dans les essais témoins, les pourcentages d'oeufs retrouvés sont globalement identiques qu'ils soient ou non contenus dans un sac. Ils prouvent qu'en 15 jours de 58 \pm 9 % à 77 \pm 17 % des oeufs disparaissent.

Dans les boues primaires, les pourcentages d'oeufs retrouvés ne diffèrent pas significativement des pourcentages observés dans les essais témoins. Ils suggèrent un faible rôle de cet écosystème sur les oeufs d'Ascaris.

En revanche dans les boues digérées, seulement 2 % \pm 0,7 des oeufs initialement introduits sont retrouvés.

Dans une étude effectuée également en contamination artificielle sur des boues digérées, BLACK et al., (1982) observent une destruction

beaucoup plus faible des oeufs d'Ascaris puisqu'ils en retrouvent 77 % en cas de digestion anaérobie et 62 % en cas de digestion aérobie. Pour ces auteurs, l'étape de digestion, grâce à l'intervention de facteurs mal connus, assurerait une relative "protection" à certaines espèces parasitaires.

En revanche REIMERS et al., (1981) rapportent que la viabilité des oeufs d'Ascaris est affectée par l'étape de digestion aérobie ou anaérobie mais décrivent aussi l'importance de facteurs climatiques (Tableau n° 77).

SAISON	TYPE DIGESTION	POURCENTAGE DE REDUCTION DE LA VIABILITE
Eté	aérobie	84
	anaérobie	84
Automne	aérobie	58
	anaérobie	49
Hiver	aérobie	36
	anaérobie	37
Printemps	aérobie	87
	anaérobie	89

Tableau n° 77 : Réduction de la viabilité des oeufs d'Ascaris dans les boues après digestion (selon REIMERS et al, 1981)

Ces réductions du nombre d'oeufs d'Ascaris dans les boues digérées sont sous la dépendance de plusieurs paramètres (aérobiose, anaérobiose, température de digestion, ...) dont il est difficile d'apprécier le rôle isolément.

CONCLUSION

C O N C L U S I O N

L'évaluation du risque parasitaire dans l'environnement ayant pris une grande importance au cours des cinq dernières années, ce travail a eu pour but d'élaborer une méthodologie de quantification et de viabilité des oeufs d'helminthes dans des écosystèmes variés.

La recherche d'un processus de quantification des oeufs d'helminthes a été conduite à partir de quatre méthodes : Méthode de ARTHUR-FOX-FITZGERALD ; Méthode de JANECKSO-URBANYI ; Méthode de CALAMEL ; Méthode de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER.

L'utilisation d'un plan d'échantillonnage de type pyramidal à répétitions binaires a permis d'étudier l'influence de trois paramètres majeurs sur le rendement : le jour de prélèvement, le type de boue et le lieu de prélèvement. Les données collectées ont corroboré l'hypothèse d'influence isolée du paramètre lieu de prélèvement représentatif de l'hétérogénéité des oeufs au sein d'un échantillon. A partir de ces résultats, il a donc été possible de définir un protocole expérimental vigoureux en vue d'étudier le rendement des différentes méthodes en fonction de la charge parasitaire de l'échantillon.

Avec la technique de ARTHUR-FOX-FITZGERALD, les rendements s'échelonnent de 2 à 55 % en accord avec les rendements moyens indiqués par les auteurs (39 %).

Pour la méthode de CALAMEL, les rendements sont très dispersés, indiquant nettement un manque de sensibilité de la technique. En revanche, les techniques de JANECKSO-URBANYI et de TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER ont des rendements globalement plus satisfaisants. A l'issue de ce travail, il est donc possible de proposer la méthode de concentration qui soit la mieux adaptée en fonction de l'échantillon à analyser (Tableau n° 78).

Charge parasitaire	Boues Primaires	Digérées	Semi-déshydratées
100-500 oeufs/ml	CALAMEL (97 %)*	CALAMEL (70 %)	JANECKSO-URBANYI (65 %)
50-100 oeufs/ml	TELEMAN-RIVAS mod. BAILENGER (30 %) ARTHER-FOX-FITZGERALD (42 %)	TELEMAN-RIVAS mod. BAILENGER (50 %)	JANECKSO-URBANYI (40 %)
10-50 oeufs/ml	TELEMAN-RIVAS mod. BAILENGER (58 %)	JANECKSO-URBANYI (78 %)	JANECKSO-URBANYI (55 %) TELEMAN-RIVAS mod. BAILENGER (50 %)

*() Rendement

Tableau n° 78 : Techniques conseillées selon la nature de l'échantillon

Quant aux essais de viabilité, ils ont permis de démontrer la toxicité de certains réactifs utilisés pour la concentration comme le sulfate de zinc et l'iodomercurate de potassium.

En fonction de ces données, il apparaît qu'aucune des méthodes testées ne répond pleinement aux objectifs recherchés : déterminer dans un échantillon donné, les pourcentages respectifs d'oeufs viables et non viables. Toutes les données bibliographiques soulignent l'importance d'un point de vue épidémiologique des Nématodes intestinaux et plus particulièrement celle de l'oeuf d'Ascaris. Dans ce contexte, eu égard à l'extrême résistance de cet oeuf, il a été décidé de le retenir comme modèle dans l'élaboration d'un protocole de quantification sélective des oeufs viables. Cette technique est basée sur le pouvoir discriminant du n-butanol sur des suspensions d'oeufs d'Ascaris fertiles. Notre étude a montré que 88,1 % des oeufs fertiles récupérés après traitement au n-butanol étaient viables. Dans ces conditions une méthode permettant de dénombrer les oeufs d'Ascaris viables a été proposée. Elle comporte trois étapes : la première étape destinée à éliminer un maximum de matières en suspension met en jeu un réactif à base d'éther ; la seconde avec le traitement au n-butanol permet l'élimination des oeufs non viables ; la dernière constitue la phase de concentration proprement dite .

Elle est effectuée, soit classiquement avec une solution d'iodomercurate de potassium réactif délicat à manipuler et coûteux, soit avec une solution saturée de thiosulfate de sodium. L'influence des divers paramètres (jour de prélèvement, type de prélèvement, lieu de prélèvement, charge parasitaire) a été étudiée. Les résultats obtenus démontrent une bonne sensibilité pour des niveaux de charge variant de 1 à 10^5 oeufs/l. De plus, il faut souligner sa simplicité d'exécution et sa rapidité de réponse, la rendant parfaitement adaptée à des analyses de routine.

L'application de ces diverses méthodes sur le terrain a fourni des informations sur le devenir des oeufs d'helminthes dans différents types de prélèvements : eaux usées, boues, sédiments marins.

La station d'épuration de NANCY présente une charge parasitaire "moyenne" correspondant à une station d'épuration de type urbain avec forte prédominance des oeufs de Nématodes par rapport aux oeufs de Cestodes. Cependant les genres et les quantités de parasites présents dépendent des conditions locales. Ainsi au cours de la surveillance annuelle le nombre d'oeufs d'helminthes présent dans les eaux d'entrée chute brutalement passant de valeurs s'échelonnant de 6,8 à 14,8/l à des valeurs comprises entre 0 et 4,7/l. Cette brutale décroissance s'explique par des modifications des procédés d'abattage des animaux au niveau des abattoirs. En eau de sortie, le pourcentage d'abattement est proche de 100 % soulignant l'excellent fonctionnement de cette station. A l'inverse, dans la station de BACCARAT, les nombres d'oeufs retrouvés en eau de sortie ne diffèrent pas significativement des valeurs observées en eau d'entrée soulignant un dysfonctionnement dans cette usine de traitement. Parallèlement au volet quantitatif, les études de viabilité, conduites sur la station de BACCARAT montrent que les oeufs retrouvés en eau de sortie sont viables.

Sur le site de BARCELONE, les études réalisées démontrent que des oeufs d'helminthes provenant de boues de station d'épuration rejetés en mer sont dispersés plus ou moins loin des côtes selon les courants marins. Le milieu marin semble être particulièrement défavorable aux oeufs de Cestodes, en revanche des oeufs de Nématodes sont retrouvés systématiquement dans ces échantillons et la détermination de la viabilité des oeufs d'Ascaris montre qu'elle s'échelonne de 5 à 100 % selon les

prélèvements. Des études ultérieures devraient être poursuivies pour vérifier si ces oeufs viables ont encore conservé toutes leurs potentialités infectieuses.

Parallèlement aux études conduites sur le devenir des oeufs d'helminthes au cours de traitement d'épuration, des recherches d'oeufs d'helminthes ont été menées sur des sols et des végétaux artificiellement contaminés avec des suspensions d'oeufs d'Ascaris. Les résultats obtenus soulignent l'importance de plusieurs paramètres : exposition à l'ombre ou au soleil, nature du sol (sable ou terreau), type d'appareil racinaire. Pour les sols, au-delà de 20 jours, une importante chute du nombre d'oeufs est observée quel que soit le type d'exposition et la nature du sol.

Pour les parties aériennes des végétaux au bout de 10 jours, une disparition complète des oeufs est observée ; ce phénomène résulte peut-être de l'action conjuguée de divers paramètres : exposition au soleil, phénomène d'entraînement par les précipitations ou par l'arrosage.

Pour les organes souterrains, les évolutions diffèrent considérablement selon le végétal : des pourcentages faibles d'oeufs (16,7 à 23 %) sont retrouvés avec la ciboulette et la salade alors que pour les radis des pourcentages élevés (76 %) sont observés.

A l'issue de ce travail, il est donc proposé un outil qui devrait permettre la réalisation d'enquêtes systématiques afin de mieux appréhender l'importance des oeufs d'helminthes dans l'environnement avec leurs répercussions éventuelles sur la santé publique.

Ce travail a fait l'objet de publications dans des revues nationales et internationales.

STIEN J.L., SCHWARTZBROD J. (1987)

Devenir des oeufs d'helminthes au cours d'un cycle d'épuration des eaux usées urbaines.

Rev. Internat. Sc. Eau, 3, 77-82.

STIEN J.L., SCHWARTZBROD J. (1988)

Viability determination of Ascaris eggs recovered from wastewater.

Env. Techn. Letters, 9, 401-408.

STIEN J.L., SCHWARTZBROD J. (1988)

Flux d'oeufs d'helminthes parasites dans les stations d'épuration par boues activées.

TSM - L'eau, 10, 495-498.

STIEN J.L., SCHWARTZBROD J. (1989)

Stratégie d'échantillonnage et dénombrement d'oeufs d'helminthes dans les boues résiduairees.

J. Fran. Hydrol., 20, 89-101.

SCHWARTZBROD J., STIEN J.L., BOUHOUM K., BALEUX B. (1989)

Impact of wastewater treatment on helminth eggs.

Wat. Sci. Techn., 21, 295-297.

SCHWARTZBROD J., THEVENOT M.T., STIEN J.L. (1989)

Helminth eggs in Marine and River Sediments.

Marine Poll. Bull., 20, 269-271.

STIEN J.L., SCHWARTZBROD J.

Experimental contamination of vegetables with helminth eggs
accepté par Wat. Sc. Tech.

BIBLIOGRAPHIE

- ARTHER R.G., FOX J.C., FITZGERALD P.R. (1981)
Parasite ova in anaerobically digested sludge.
J. Wat. Poll. Control. Fed., 53, 1334-1338.
- AYRES R., LEE D., MARA D.D. (1989)
The enumeration of human intestinal nematode eggs in raw and treated wastewaters.
Dept of Civil Engineering Leeds Research Scheme R 4336, University Leeds.
- BARBIER D., PERRINE D., GEORGES P. (1989)
Mise en évidence et quantification des embryophores de Taenia saginata dans les boues résiduaires.
Méd. Mal. Inf., 19, 315-318.
- BAUMHOGGER W. (1949)
Ascariasis in Darmstadt and Hessen as seen by a wastewater engineer.
Zeit. Hyg. Infekt., 129, 488-506.
- BEAVER C.P. (1952)
Observations on the epidemiology of ascariasis in a region of high hookworm endemicity.
J. Parasitol., 38, 445-453.
- BERGSTROM K. (1981)
Recovery of parasite eggs from sewage sludge from sewage plants and septic tanks in Norway.
Norsk. Vet., 93, 323-330.

- BHASKARAN T.R., SAMPATHKUMARAN M.A., SUR T.C., RADHAKRISHNAN I. (1956)
Studies on the effect of sewage treatment processes on the survival of intestinal parasites.
Indian J. Med. Res., 44, 163-180.
- BLACK M.I., SCARPINO P.V., O'DONNELL C.J., MEYER K.B., JONES J.V., KANESHIRO E.S. (1982)
Survival rates of parasites eggs in sludge during aerobic and anaerobic digestion.
Appl. Environ. Microbiol., 44, 1138-1143.
- BLUM D., FEACHEM R.G. (1985)
Health aspects of nightsoil and sludge use in agriculture and aquaculture : Part III : An epidemiological perspective.
IRCWD Report 05, Duebendorf.
- BLUMENTHAL U.J. (1988)
Research activities and needs in wastewater and excreta use in agriculture and aquaculture.
IRCWD News, 24-25, 21-26.
- BOUCHET F. (1985)
Action des micro-ondes sur l'oeuf de Toxocara canis. Application au traitement des boues de station d'épuration.
Thèse Sciences, Université Orléans Tours n° 103.
- BOUHOUM K., HIMMI H. (1986)
Contribution à l'étude parasitologique dans un système de lagunage.
In Proceedings "Colloque franco-marocain sur les eaux continentales : ressources et assainissement", 45-46 (Fez).
- BOUTIN P. (1981)
Problèmes sanitaires résultant de l'utilisation agricole des eaux et des boues résiduelles.
CEMAGREF, Groupement de Bordeaux, Section qualité des eaux, Etude n° 2.

BOUTIN P. (1982)

Risques sanitaires provenant de l'utilisation d'eaux polluées ou de boues de station d'épuration en agriculture.

T.S.M. L'eau, 12, 547-557.

BRADLEY R.M., HADIDY S. (1981)

Parasitic infestation on the use of untreated sewage for irrigation of vegetables with particular reference to Aleppo Syria.

Publ. Health Eng., 9, 154-157.

BUERGER H.J. (1984)

Survival of Taenia saginata eggs in sewage and on pasture.

In "Processing and use of sewage sludge", 191-201.

Ed. L'HERMITE P., OTT M., Reidel publishing Company.

CALAMEL M. (1983)

La coproscopie

Session d'Etudes des Techniques parasitologiques du Laboratoire Central de Recherches vétérinaires, 1-17.

CHANDLER A.S., READ C.P. (1961)

"Introduction to parasitology".

John WILEY, 10ème éd.

CHARLOT G. (1978)

Statistique appliquée à l'exploitation de mesures.

Ed. C.E.A., Tomes 1 et 2.

CHOI D.W. (1970)

Incidence of parasite eggs on vegetable leaves, watercress and carrots.

Korean J. Parasitol., 8, 19.

CLARKE A.J., PERRY R.N. (1980)

Egg shell permeability and batching of Ascaris suum.

Parasitology, 80, 447-456.

- COLLIER P.W., REILLY W.J. (1984)
Cysticercosis and sewage sludge.
Ann. Trop. Med. Parasitol., 78, 259.
- COMAN B.J. (1975)
The survival of Taenia pisiformis eggs under laboratory conditions
and in the field environment.
Aust. Vet. J., 51, 560-565.
- CRAM E.B. (1943)
The effect of various treatment processes on the survival of
helminth ova and protozoan cysts in sewage.
Sewage Works J., 15, 1119-1138.
- CREWE W. (1977)
Transmission of helminth eggs in sewage.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 71, 116-119.
- CREWE W. (1984)
The transmission of Taenia saginata in Britain.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 78, 249-251.
- CREWE W., OWEN R.R. (1979)
The effect of certain chlorine based disinfectants on Taenia
eggs.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 73, 324.
- CROMPTON D.W., STEPHENSON L.S. (1985)
Ascariasis in Africa.
In "Ascariasis and its public health significance", 185-201.
TAYLOR and FRANCIS Publ., London.
- CROSS P., STRAUSS M. (1985)
Health aspects of nightsoil and sludge use in agriculture and
aquaculture.
Part 1 : existing practices and beliefs in the utilization of
human excreta.
Part 2 : Pathogen survival.
IRCWD Report n° 04, Duebendorf.

- DUBINSKY P., RYBOS M., TURCEKOVA L. (1986)
Properties and localization of chitin synthase in Ascaris suum eggs.
Parasitology, 92, 219-225.
- DUNLOP S.C., WANG W.L. (1961)
Studies on the use of sewage effluent for irrigation of truck crops.
J. Milk Food Technol., 23, 43-47.
- DUTHY B.L., VAN SOMEREN V.D. (1947)
The survival of Taenia saginata eggs on open pasture.
East. Afr. Agr. J., 13, 147-152.
- FAIRBAIRN D. (1957)
The biochemistry of Ascaris.
Exp. Parasitol., 6, 491-554.
- FAIRBAIRN D., PASSEY R.F. (1957)
Occurrence and distribution of trehalose and glycogen in the eggs and tissues of Ascaris lumbricoïdes.
Exp. Parasitol., 6, 566-574.
- FEACHEM R.G., BRADLEY D.J., GARELICK H., MARA D.D. (1983)
Sanitation and disease : Health aspects of excreta and wastewater management.
John WILEY Pub., Chichester et New York.
- FELICIANO D.V. (1982)
Sludge on land.
J. Wat. Poll. Control. Fed., 54, 1259-1266.
- FITZGERALD P.R., ASHLEY R.F. (1977)
Differential survival of Ascaris ova in wastewater sludge.
J. Wat. Poll. Control. Fed., 49, 1722-1724.

- FORSTNER M.J. (1968)
Utilisation of sewage in agriculture : a joint problem.
Zeit. Wass. Abw. Forsch, 4, 149-150.
- FOSTER D.H., ENGELBRECHT R.S. (1974)
Microbial hazards of disposing of wastewater on soil.
Rapport U.S. EPA 600/2 - 74 - 003, 217-241, Cincinnati.
- FOX J.C., FITZGERALD P.R. (1977)
Parasitic content of municipal wastes from the Chicago area.
J. Parasitol., 63, 68.
- FULMER H.S., HUEMPFNER H.R. (1965)
Intestinal helminths in eastern Kentucky : a survey in three rural countries.
Ann. J. Trop. Med. Hyg., 14, 269-275.
- FURUKAWA Y., YAMAMOTO T., KIMURA S., HAYASHI H., OYA H. (1985)
Biosynthesis of lipids during embryogenesis of Ascaris lumbricoïdes.
Tohoku J. exp. Med., 147, 221-234.
- GOLUEKE C.G. (1983)
Epidemiological aspects of sludge handling and management.
Biocycle, 24, 50-58.
- GRAHAM H.J. (1981)
Parasites and the land application of sewage sludge.
Research program for abatement of Municipal pollution of the Canada Ontario Agreement on Great lakes water quality.
Rep. Ontario Ministry of environment n° 110.
- GRABOW W.O.K., NUPEN P.M. (1972)
The load of infections micro-organisms in the wastewater of South Africa hospitals.
Water Res., 6, 1557-1563.

GUILHON J. (1972)

Le rôle de la pollution hydrique dans l'étiologie et l'épidémiologie de la cysticerose bovine et du téniasis humain.
Rec. Med. Vet., 151, 39-45.

GUNNERSON C.G., SHUVAL H.I., ARLOSOROFF S. (1985)

Health effects of wastewater irrigation and their control in developing countries.
In "Future of water reuse", 1576-1602.
Ed. AWWA Research Foundation, Denver.

HAMMERBERG B., Mc INNIS G.A., HYLER T. (1978)

Taenia saginata cysticerci in grazing steers in Virginia.
J. Am. Vet. Ass., 173, 1462-1464.

HANNAN J., COLLINS J.D. (1983)

Parasites and the land application of sewage sludge with particular reference to Taenia saginata.
J. Fr. Hydrol., 14, 299-307.

HAYS B.D. (1977)

Potential for parasitic disease transmission with the land application of sewage plant effluent and sludges.
Water Res., 11, 583-595.

HINCK L.W., IVEY M.H. (1976)

Proteinase activity in Ascaris suum eggs hatching fluid and excretions secretions.
J. Parasitol., 62, 771-774.

HUBERT J., KERBOEUF D. (1984)

A new method for culture of larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis : comparison with fecal culture.
Can. J. Comp. Med., 48, 63-71.

HUGHES D.L., NORRINGTON I.J., MORRIS D.L., WAITE W.M. (1985)

The effects of pasteurisation and stabilisation of sludge on Taenia saginata eggs, 126-135.

In "Inactivation of micro-organisms in sewage sludge by stabilisation processes".

Ed STRAUCH D., HAVELAAR A.H., L'HERMITE P., Elsevier Applied Science Publ., Hohenheim.

INTERNATIONAL REFERENCE CENTER FOR WASTE DISPOSAL (I.R.C.W.D.) (1985)

Health aspects of wastewater and excreta use in agriculture and aquaculture : the Engelberg Report.

I.R.C.W.D. News, 23, 11-18.

I.R.H. (1987)

Procédure d'échantillonnage des boues de station d'épuration.

Contrat Ministère Environnement n° 8507 (Nancy).

ISHIKAWA S. (1929)

On the fate of the ova of the Ascaris in heaped manure mixed with human faeces and the investigations of the eggs adhering to vegetables.

J. Orient. Med., 11, 127-131.

ISMID I.S., RUKMONO B., INDRIJONO N., ROESIN R. (1978)

Soil pollution with Ascaris lumbricoïdes.

In "Proceeding fifth Conference APCO", 371-383 (Jakarta).

JACKSON G.J., BIER J.W., RUDE R.A. (1978)

Recycling of refuse into the food chain : the parasite problem.

In "Risk assessment and health effects of land application of municipal wastewater and sludges", 116-127.

Ed. SAGIK B.P., SORBER C.A., San Antonio (Texas).

JACOBS L. (1940)

The chemistry of the egg membrane.

In "Introduction to Nematology", 186-187.

Ed. Monumental Printing.

JANECKSO A., URBANYI L. (1931)

Méthode d'enrichissement coprologique.
Rev. Gen. Med. Vet., 41, 496-497.

JEPSON A.C., ROTH H. (1952)

Epizootiology of Cysticercus bovis : resistance of the eggs of Taenia saginata. In "Proceedings of 14 th International Veterinary Congress", 43-50.

JJUMBA-MUKABU O.R., GUNDERS E. (1971)

Changing patterns of intestinal helminth infections in Jerusalem.
Ann. J. Trop. Med. Hyg., 20, 109-116.

JUSTUS D.E., IVEY M.H. (1969)

Chitinase activity in developmental stages of Ascaris suum and its inhibition by antibody.
J. Parasitol., 55, 472-476.

KABRICK R.M., JEWELL W.J. (1982)

Fate of pathogens in thermophilic aerobic sludge digestion.
Water Res., 16, 1051-1060.

KAN S.P. (1982)

Soil transmitted helminthiasis in Selanger Malaysia.
Med. J. Malaysia, 37, 180-190.

KHALIL M. (1931)

The pail closet as an efficient mean of controlling human helminth infections as observed in Tara Prison, Egypt with a discussion on the source Ascaris infection.
Ann. Trop. Med. Parasitol., 25, 35-62.

KNAACK J., RITSCHER M. (1975)

Zur Eliminierung von exogenen Helminthen Stadien aus den kommunalen Abwasser.
Z. Ges. Hyg., 21, 746-750.

- KOWAL N.E. (1982)
Health effects of land treatment : microbiological.
Rapport U.S. EPA 600/1 - 82-007 (Cincinnati).
- KOWAL N.E. (1985)
Health effects of land application of municipal sludge.
Rapport U.S. EPA 600/1-85-015, 33-38 (Cincinnati).
- KRASNONOS L.I. (1978)
Many year viability of Ascaris eggs in soil of Samarkand (en russe)
Abstract in "Trop. Dis. Bull", 75, 991-992.
- LARKIN E.P., TIERNEY J., LOVETT J., Van DONSEL D, FRANCIS D., JACKSON G.J. (1978)
Land application of sewage wastes : Contamination of foodstuff and agricultural soils by virus, enteric bacteria and parasites. In Proceedings "Risk assessment and health effects of land application of municipal wastewater and sludges", 102-116. Ed. SAGIK B.P. and SORBER C.A., San Antonio (Texas).
- LEVINE N.D. (1968)
Nematode parasites of domestic animals and of man.
Publ. BURGESS, 526-539 (Minneapolis).
- LIEBMANN H. (1964)
Parasites in sewage and the possibilities of their extinction.
Adv. Wat. Poll. Res., 11, 269-276.
- LOWRY O., BEAMS H.W., KING R.L. (1941)
The fibrillar of the uterine cells of Ascaris equorum.
J. Morph., 68, 585-591.
- LYSEK H. (1978)
A scanning electron microscope study of the effect of an ovicidal fungus on the eggs of Ascaris lumbricoïdes.
Parasitology, 77, 139-141.

- LYSEK H., BACOVSKY J. (1979)
Penetration of ovicidal fungi into altered eggs of Ascaris lumbricoïdes.
Folia Parasitologica, 26, 139-142.
- LYSEK H., FASSATIOVA O., PINEDA N.C., HERNANDEZ N.L. (1982)
Ovicidal fungi in soils of Cuba.
Folia Parasitologica, 29, 265-270.
- LYSEK H., FASSOTIOVA O., LOPEZ G.N. (1986)
Autohelminthizing capacity of soils in two Mexican localities.
Helminthologia, 23, 237-241.
- LYSEK H., KRAJCI D. (1987)
Penetration of ovicidal fungus Verticillium chlamyosporium through the Ascaris lumbricoïdes egg shells.
Folia Parasitologica, 34, 57-60.
- Mac ANINCH N.H. (1974)
An outbreak of cysticercosis in feedlot cattle.
Can. Vet. J., 15, 120-122.
- Mac PHERSON R., MITCHELL G.B., Mc CANCE C.B. (1978)
Bovine cysticercosis storm following the application of human slurry.
Vet. Record., 102, 156-157.
- MARA D.D., SILVA S.A. (1978)
Sewage treatment in waste stabilization ponds : recent research in northeast Brazil.
Prog. Wat. Tech., 11, 341-344.
- MARA D.D., SILVA S.A. (1986)
Removal of intestinal nematode eggs in tropical waste stabilization ponds.
F. Trop. Med. Hyg., 89, 71-74.

- MARA D.D., SILVA S.A., OLIVERIRA R. (1987)
The performance of a serie of five deeps ponds in northeast Brazil.
Wat. Sc. Technol, 19, 357-362.
- MAUL A., EL-SHAARAWI A.H. (1985)
Stratégies de prélèvements.
In "Bactériologie des milieux aquatiques", 133-166.
Ed. LAVOISIER (Paris).
- MAUL A., VAGOST D., BLOCK J.C. (1989)
Stratégies d'échantillonnage pour analyse microbiologique sur réseaux de distribution d'eau.
Ed. Tech. Doc. LAVOISIER (Paris).
- MÜLLER G. (1953)
Untersuchungen über die Lebensdauer von Askarideneierer in Gartenerde.
Zbl. Bakteriol., 159, 377-379.
- MÜLLER M.E. (1980)
Hygienische Aspekte der Klärschlammverwertung in der Landwirtschaft.
Korrep. Abwasser, 27, 147-151.
- NANSEN P., HENRIKSEN S.A. (1986)
The epidemiology of bovine cysticercosis in relation to sewage and sludge application on farmland.
In "Epidemiological studies of risks associated with the agricultural use of sewage sludge : knowledge and needs", 76-82.
Ed. BLOCK J.C., HAVELAAR A.H., L'HERMITE P., (Metz), Elsevier Applied Science Publ.
- NEWTON W.L., BENNETT H.J., FIGGAT W.B. (1949)
Observations on the effects of various sewage processes upon eggs of T. saginata.
Ann. J. Hyg., 49, 166-175.

- NOZAIS J.P., DURAND J., LE BRIGANT S. (1979)
Répartition d'Ascaris lumbricoïdes, de Necator americanus et de Trichuris trichiura dans 6 villages de côte d'Ivoire.
Méd. Trop., 39, 315-318.
- NUPEN E.M., VILLIERS R.H. (1975)
The evaluation of pathogenic parasites in water environments.
Rep n° 13 National Institute for Water Research.
- O'DONNELL C.J., MEYER B., JONES V.J., BENTON T., KANESHIRO E.S.,
NICHOLS J.S., SCHAEFFER F.W. (1984)
Survival of parasite eggs upon storage in sludge.
Appl. Environ. Microbiol., 48, 618-625.
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (O.M.S.) (1973)
La réutilisation des effluents : méthodes de traitement des eaux
usées et mesures de protection sanitaire.
Rapport technique n° 517 (Genève).
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (O.M.S.) (1985)
Directives de qualité pour l'eau de boisson.
Vol 1 : Recommandations (Genève).
- OTTO G.F. (1929)
A study of the moisture requirements of the eggs of the horse,
the dog human and pig ascarids.
Ann. J. Hyg., 10, 497-520.
- PAHREN H.R., LUCAS J.B., RYAN J.A. (1979)
Health risks associated with land application of municipal sludge.
J. Wat. Poll. Control. Fed., 51, 2588-2601.
- PANICKER P.V.R.C., KRISHNAMOORTHY K.P. (1981)
Parasite eggs and cyst reduction in oxidation ditches and aerated
lagoon.
J. Wat. Poll. Control. Fed., 53, 1413-1419.

- PARSONS D.C., BROWN LEE D., WETLER A., MAURER E., HAUGHTON L.K., SELZAK M. (1975)
Health aspects of sewage effluents irrigation.
Poll. Cont. Branch., Report Victoria B.C.
- PEDERSON D.C. (1981)
Density levels of pathogenic organisms in municipal wastewater sludge : a literature review.
Rapport US-EPA-600/S2, 81, 170 (Cincinnati).
- PENFOLD H.B. (1937)
The life history of Cysticercus bovis in the tissue of ox.
Med. J. Aust., 1, 579-581.
- PENFOLD W.J., PENFOLD H.B., PHILIPS M. (1937)
The criteria of life and viability of mature Taenia saginata ova.
Med. J. Aust., 2, 1-5.
- PIEKARSKI G., PELSTER B. (1980)
Parasitologische Aspekte zur Klärschlammdeponie.
Öff. Gesund., 42, 6-12.
- PIKE E.B. (1983)
Indicators of pollution and efficacy of treatment : significance and methodology.
In : "Processing and use of sewage sludge", 213-219.
Ed. L'HERMITE P., OTT H., Publ. REIDEL (Brighton).
- PIKE E.B., CARRINGTON E.G. (1979)
The effects of conventional sludge treatment processes on pathogens.
In "Proceedings WRC Conference on Utilisation of sewage sludges on land". 198-200 (Oxford).
- PIKE E.B., MORRIS B., CARRINGTON E.G. (1983)
Inactivation of ova of the parasites Taenia saginata and Aascaris suum during heated anaerobic digestion.
Wat. Poll. Control., 82, 501-509.

PROST A. (1987)

L'ascaridiose en Afrique de l'Ouest : revue épidémiologique.
Ann. Parasitol. Hum. Comp., 62, 434-455.

PROST A. (1987)

Les dangers de maladies infectieuses liés à la réutilisation des
eaux usées.

Bull. Qual. Eaux, 12, 78-83.

PROST A., BOUTIN P. (1989)

Le risque infectieux lors de l'utilisation d'eaux usées en agri-
culture.

T.S.M. L'eau, 1, 25-33.

RACCURT C., VIAL P., PIERRE-LOUIS J.M. (1977)

Etude épidémiologique des helminthiases intestinales à l'île de
la Tortue (Haïti).

Bull. Soc. Path. Ex., 70, 240-249.

REIMERS R.S., LITTLE M.D., ENGLAND F.A.J., LEFTWICH D.B., BOWMAN D.D.,
WILKINSON R.F. (1981)

Parasites in southern sludges and disinfection by standard sludge
treatment.

Rapport U.S. EPA 600/S2, 81-166 (Cincinnati).

RHODES B.M., Mc CULLOUGH R.A., MEBUS C.A., KLUCAS C.A., FERGUSON D.L.,
TWIEMMAUS M.J. (1969)

Ascaris suum : hatching of embryonated eggs in suvine.

Exp. Parasitol., 42, 356-362.

RICKARD M.D., ADOLF A.J. (1977)

The prevalence of cysticerci of Taenia saginata in cattle raised
on servage-irrigated pasture.

Med. J. Aust., 1, 525-527.

ROGERS R.A. (1956)

A study of eggs of Ascaris lumbricoïdes var. suum with the
electron microscope.

J. Parasitol., 42, 97-108.

- ROWAN W.B. (1964)
Sewage treatment and schistosome eggs.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 13, 572-581.
- ROWAN W.B., GRAM A.I. (1959)
Quantitative recovery of helminth eggs from relatively large samples of feces and sewage.
J. Parasitol., 45, 615-621.
- RUDE R.A., JACKSON G.J., BIER J.W., SAWYER T.K. (1984)
Survey of fresh vegetables for Nematodes, Amoebae and Salmonella.
J. Assoc. Off. Anal. Chem., 67, 613-615.
- RUDOLFS W., FALK L.L., RAGOTZKIE R.A. (1951)
Contamination of vegetables grown in polluted soil III Field studies of Ascaris eggs.
Sew. Ind. Waster, 23, 656-660.
- SALEM S. (1988)
Communication personnelle.
- SCHUH R., PHILIPP W., STRAUCH D. (1985)
Influence of sewage sludge with and without lime treatment on the development of Ascaris suum eggs.
In "Inactivation of micro-organisms in sewage sludge by stabilisation processes", 100-113.
Ed. STRAUCH D., HAVELAAR A.H., L'HERMITE P., Elsevier Applied Science Publ. (Hohenheim).
- SCHWARTZBROD J., THEVENOT M.T., COLLOMB J., BARADEL J.M. (1986)
Parasitological study of waste sludge.
Environ. Techn. Letters, 7, 155-162.
- SHEPHARD M.R.N. (1971)
The role of sewage treatment in the control of human helminthiases.
Helminth Abst., 40, 1-16.

- SHUVAL H.I. (1977)
Water renovation and reuse.
Ed. SHUVAL M.I., Academic Press Publish, New York.
- SHUVAL H.I., ADIN A., FATTAL B., RAWITZ E., YEKUTIEL P. (1986)
Wastewater irrigation in developing countries.
World Bank Publ., Technical paper series n° 51.
- STIEN J.L., SCHWARTZBROD J. (1987)
Devenir des oeufs d'helminthes au cours d'un cycle d'épuration
des eaux usées urbaines.
Rev. int. Sc. Eau, 3, 77-82.
- STIEN J.L., SCHWARTZBROD J. (1987)
In "Assainissement du Grand Agadir : Etudes préalables à une so-
lution d'épuration par le sol" 81-84.
Rapport Direction de la direction hydraulique du Souss Massa.
- STOREY G.W. (1987)
Survival of tapeworm eggs, free and in proglottids during simu-
lated sewage treatment processes.
Water Res., 21, 199-200.
- STORM D.R., KELLY B., CANNON G., MEYER E. (1981)
Pathogen survival in lime-stabilized sludge.
Biocycle, 22, 48-51.
- SWEATMAN G.K., WILLIAMS R.J. (1963)
Survival of Echinococcus granulosus and Taenia hydatigena eggs in
two extreme climatic regions of New Zeland.
Res. Vet. Sc., 4, 199-215.
- THEIS J.H., BOLTON V., STORM D.R. (1978)
Helminth ova in soil and sludge from twelve U.S. urban area.
J. Wat. Poll. Control. Fed., 50, 2485-2493.

THEVENOT P. (1988)

Parasitologie des boues de stations d'épuration : aspects bibliographiques.

Thèse Pharmacie, Université NANCY I, n° 77.

THEVENOT-LALLEMENT M.T. (1984)

Recherche d'oeufs d'helminthes dans les boues de la station d'épuration des eaux usées de Nancy Maxéville.

Thèse Pharmacie, Université Nancy I, n° 28.

TELEMAN-RIVAS modifiée BAILENGER (1973) in BAILENGER

Coprologie parasitaire et fonctionnelle.

Ed. DROUILLARD 3è éd. (Bordeaux).

VAJDIC A.H. (1978)

Viruses and parasites in sewage sludge.

Rapport Wat. Tech. Sect. Poll. Control., 3, 1-8.

VINCENT A.J., CRITCHLEY R.F. (1983)

A review of sewage sludge treatment and disposal in Europe.

Water Research Center Rep. 44 Z.M. (Stevenage).

WALLIS P.M., LEHMANN D.L. (1983)

Biological health risks of sludge disposal to land in cold climates.

In "Processing and use of sewage sludge" 237-239.

Ed. L'HERMITE P., OTT H., Publ. REIDEL (Brighton).

WANG W.L.L., DUNLOP S.G. (1954)

Animal parasites in sewage and irrigation water.

Serv. Ind. Wastes, 26, 1020-1032.

WARD K.A., FAIRBAIRN D. (1972)

Chitinase in developing eggs of Ascaris suum.

J. Parasitol., 58, 546-549.

WATSON D.C., SATCHWELL M., JONES C.E. (1983)

A study of prevalence of parasitic helminth eggs and cysts in sewage sludges disposed to the agricultural land.

Wat. Pollut. Control., 82, 285-289.

WHARTON D.A. (1980)

Nematode egg shells.

Parasitology, 81, 447-463.

WHITLOCK H.V., GORDON H. (1939)

A new technique for counting nematodes eggs in sheep faeces.

J. Coun. Sci. Industr. Res. Aust., 12, 50-52.

W.H.O. : World Health Organization (1987)

Global Pollution and health results of health related environmental monitoring.

Global Environment Monitoring System W.H.O.-U.N.E.P., 9-10.

W.H.O. : World Health Organization (1989)

Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture.

Technical Report n° 778 (Genève).

WILKENS S. (1981)

Untersuchungen über die Ansteckung Möglichkeiten von Rindern mit Taenia saginata und Sarcocystis spp auf Abwasserregningflächen und über das Absetzverhalten von Helmintheiern in vitro.

Dissertation Tierärztliche hochschule Hannover.

WINFIELD G.F., YAO T.N. (1937)

Studies on the control of fecal-borne diseases in north China :

IV Vegetables as a factor in the spread of Ascaris lumbricoïdes.

Chinese Med. J., 51, 919-926.

WOTTGE K. (1937)

Die stofflichen Veränderung in der Eizelle von Asacaris megalcephala nach der Befruchtung.

Protoplasma, 29, 31-59.

YOSASATO M., SUMI I. (1932)

Helminth eggs on vegetables in Mukden.

J. Orient. Med., 16, 4 (Summary in English).

YOSHIDA S. (1920)

On the resistance of Ascaris eggs.

J. Parasitol., 6, 132-139.